



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN

**“COMPORTAMIENTO MIGRATORIO DE LARVAS TRES
Ancylostoma caninum
EN RATONES BLANCOS CEPA CD1 CON INFECCIÓN
INDUCIDA”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A N:

***MARTÍN ROCHA ARACELI
POSADAS GARCÍA MARÍA DEL ROSARIO***

ASESOR: M.C. JUAN PABLO MARTÍNEZ LABAT



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
 FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES CUAUTITLAN
 ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE

ATN: L.A. ARACELI HERRERA GONZALEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
 Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Comportamiento migratorio de larvas tres Ancylostoma caninum en ratones
blancos cepa CD1 con infección inducida

Que presenta la pasante María del Rosario Posadas García

Con número de cuenta: 099250401 para obtener el título de:
Médica Veterinaria Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cuautitlan Izcalli, Mex. a

| | | |
|--------------|---|-----------------------|
| PRESIDENTE | <u>MC. Juan Pablo Martínez Labat</u> | |
| VOCAL | <u>MWZ. Gloria Josefina Ortiz Gasca</u> | |
| SECRETARIO | <u>Dr. Tonatiuh Alejandro Cruz Sánchez</u> | |
| 1er SUPLENTE | <u>MWZ. Rocío Silva Mendoza</u> | <u>Rocío Silva M.</u> |
| 2º SUPLENTE | <u>MWZ. María del Rosario Martínez Calles</u> | |



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
 FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
 ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE



ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Comportamiento migratorio de larvas tres Ancylostoma caninum en ratones
blancos cepa CD1 con infección inducida

Que presenta la pasante Araceli Martín Rocha

Con número de cuenta: 097291961 para obtener el título de:
Médica Veterinaria Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cuautitlan Izcalli, Mex. a

| | | |
|--------------|--|--|
| PRESIDENTE | <u>MC. Juan Pablo Martínez Labat</u> | |
| VOCAL | <u>MZ. Gloria Josefina Ortiz Gasca</u> | |
| SECRETARIO | <u>Dr. Tonatiuh Alejandro Cruz Sánchez</u> | |
| 1er SUPLENTE | <u>MZ. Rocío Silva Mendoza</u> | |
| 2º SUPLENTE | <u>MZ. Marfa del Rosario Martínez Calles</u> | |

Este trabajo es la culminación de un proyecto que comencé con mucho ánimo hace ya algún tiempo.

No lo hice sola, a mi lado siempre ha estado gente acompañándome, dándome ánimo y fuerza.

En los momentos de alegría se han alegrado conmigo y cuándo estuve a punto de tirar la toalla y abandonar, me sostuvieron y dieron ánimo para continuar.

Hoy quiero decirles:

GRACIAS!!!!

Porque sin ustedes no lo hubiera logrado.

Gracias Papá:

Porque a tu manera me has apoyado, gracias por tu amor, ayuda y oraciones.

¡TE AMO MUCHO!

Mamy:

¡LO LOGRAMOS!!!!!!

Gracias por tu esfuerzo y apoyo incondicional, porque nunca me dejaste sola y cada día me impulsas para seguir adelante.

Eres un gran ejemplo de esfuerzo y trabajo.

TE AMO CHIRI.

José:

Te quiero mucho, eres mi hermano consentido jeje!!!

Cuenta siempre conmigo ok?

Rosario:

*Lo hicimos amiga!!! Unas larvas no iban a poder más que nosotras!!!
Gracias por tu amistad y apoyo, por tu paciencia y esfuerzo, por haber estado ahí siempre que te necesité.*

T.Q.M.

Dr. Pablo Martínez Labat:

Mil gracias por todo lo que me ha dado, por su ejemplo y conocimientos compartidos, pero sobre todo gracias por su amistad y confianza.

A mis amigos:

Trío galáctico (Rosario y Laura), Stephanie, Víctor, Vane y Nacho, gracias por su amistad y por todos los momentos tanto buenos como no tan buenos que pasamos juntos. Ocupan un espacio especial en mi vida, cuenten siempre conmigo.

*Muchas gracias pastor Martín Pereda, Heber, Yesí, Emma, Belén y Charlie porque siempre he contado con sus oraciones y ayuda. De verdad gracias porque estoy segura que ellas me han sostenido.
Dios les bendiga.
Los quiero!!!*

*A la noble y gloriosa institución que me abrió sus puertas para ser uno más de sus hijos, GRACIAS!!!!
Siempre portaré con orgullo tu nombre y tus colores.*

*A toda esa gente que de alguna u otra manera contribuyó a mi formación:
Profesores, ayudantes, laboratoristas, trabajadores.
Gracias.*

*Y finalmente y no menos importante:
GRACIAS!!! a tí que me has dado toda la fuerza, amor y ayuda que necesité.
Porque toda la gente que está a mi lado es la forma en que me muestras tu amor.
Gracias SEÑOR JESÚS, esto es para gloria y honra de tu nombre.*

Con amor:

Araceli



☆ *Primero que nada quiero agradecer a **DIOS** por el privilegio de la vida, por estar siempre a mi lado y bendecirme cada día.....TE AMO!!!*

☆ ***A MIS PADRES:** quiero agradecerles a ambos por ser mis pilares y brindarme siempre su amor, esto es **por** ustedes y **para** ustedes.*

*A mi mamá **Rosa María**[‡], por todo tu tiempo, tu esfuerzo y tus consejos, se que desde el cielo sigues siendo la luz que ilumina mi vida.....TE AMO, TE EXTRAÑO.*

*A mi papá **Eloy**, por todo tu esfuerzo y por tu ejemplo de seguir adelante.....TE AMO.*

☆ *A mis hermanos **Lupis** y **Charlie**, por su apoyo incondicional, por estar siempre a mi lado y sostenerme, pero sobre todo por ser mis mejores amigos, todo esto también es gracias a ustedes.....LOS AMO.*

☆ *A mi Titi Guadalupe García[†], por ser mi cómplice, mi consejera y una segunda madre, tú eres otro ángel que me cuida desde el cielo.....TE AMO, TE EXTRAÑO.*

☆ *A mis Amigos:*

Araceli, por tu apoyo incondicional, tu esfuerzo, tu paciencia, pero sobre todo por tu amistad y cariño, gracias por compartir conmigo esta gran aventura.....LO LOGRAMOS!!!!.....TE QUIERO MUCHO!!!!

Laura, por formar parte de muchas aventuras, por estar siempre presente y por tu amistad, sin el trío galáctico (ara y lau) no hubiera sido tan divertido. TE QUIERO MUCHO!!!!

A Alma, Sthepani, Nacho, Erika, Lore, Israel, Vanessa, Víctor Hugo, Víctor Rey, Claudia y todos aquellos que formaron parte de esta historia, gracias por todos los buenos momentos.

A Male por todo su apoyo para realizar este trabajo, pero sobre todo por su amistad y las buenas pláticas en el laboratorio.

☆ *A mi asesor el M. en C. Pablo Martínez Labat, por todo su tiempo, sus consejos, sus enseñanzas, su paciencia, por ser un gran maestro, pero sobre todo una gran persona.....MIL GRACIAS.*

☆ *A cada uno de los profesores que fueron parte de mi formación por sus consejos y enseñanzas que nos ayudan a ser buenos profesionistas.*

☆ *A la UNAM y la FES Cuautitlán, por formarme académicamente, por ser mi segunda casa, siempre seré de sangre azul y piel dorada....GOYA...UNIVERSIDAD!!!*

☆ *A todas las mascotas que nos dan su amor incondicional y nos llenan de vida, sin ustedes este mundo sería aún más caótico...GRACIAS!!!!*

María del Rosario Posadas García

| | |
|--|----|
| Resumen..... | 1 |
| Introducción..... | 2 |
| Epidemiología | 3 |
| Ciclo biológico | 6 |
| Patogenia..... | 8 |
| Signos clínicos..... | 10 |
| Diagnóstico clínico y diferencial..... | 11 |
| Diagnóstico de laboratorio..... | 12 |
| Control..... | 13 |
| Tratamiento de la ancilostomiasis..... | 15 |
| Larva migrans cutánea..... | 18 |
| Hipótesis..... | 21 |
| Objetivos..... | 21 |
| Materiales..... | 21 |
| Metodología..... | 22 |
| Resultados | 24 |
| Discusión..... | 31 |
| Conclusiones..... | 34 |
| Anexo imágenes..... | 35 |
| Bibliografía..... | 44 |

INDICE DE GRÁFICAS

| | |
|---|----|
| Gráfica 1. Distribución porcentual general de larvas de <i>Ancylostoma caninum</i> recuperadas de los tejidos de ratón..... | 24 |
| Gráfica 2 Distribución de larvas <i>Ancylostoma caninum</i> recuperadas por órgano y por día de sacrificio..... | 25 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1.Gusano adulto <i>Ancylostoma caninum</i> | 2 |
| Figura 2.Huevo de <i>Ancylostoma caninum</i> | 3 |
| Figura 3.Fases adultas de <i>Ancylostoma caninum</i> en intestino de perro..... | 5 |
| Figura 4.Ciclo biológico de <i>Ancylostoma caninum</i> | 7 |
| Figura 5. Lesiones de Larva Migrans Cutánea en humano..... | 19 |

ANEXO DE FOTOGRAFIAS

| | |
|--|----|
| Fotografía 1.Cultivo larvario de <i>Ancylostoma caninum</i> | 36 |
| Fotografía 2.Larvas <i>Ancylostoma caninum</i> cultivadas artificialmente..... | 36 |
| Fotografía 3.Lesiones pulmonares en ratón..... | 37 |
| Fotografía 4.Lesiones pulmonares en ratón..... | 37 |
| Fotografía 5.Lesiones pulmonares en ratón | 38 |
| Fotografía 6.Lesiones pulmonares en ratón | 38 |
| Fotografía 7.Lesiones pulmonares en ratón | 39 |
| Fotografía 8.Lesiones pulmonares en ratón..... | 39 |
| Fotografía 9.Lesiones hepáticas en ratón | 40 |
| Fotografía 10.Lesiones renales en ratón | 40 |
| Fotografía 11.Larvas recuperadas de la digestión artificial de tejido muscular | 41 |
| Fotografía 12.Larvas recuperadas de la digestión artificial de tejido cerebral..... | 41 |
| Fotografía 13.Larvas recuperadas de la digestión artificial de tejido cerebral | 42 |
| Fotografía 14.Larvas recuperadas de la digestión artificial de tejido cerebral..... | 42 |
| Fotografía 15.Larvas recuperadas de la digestión artificial de tejido muscular..... | 43 |

RESUMEN

Entre las zoonosis más frecuentes se encuentran las parasitarias; de las cuales las causadas por nematodos son las más frecuentemente reportadas. Una de estas es la ancilostomiasis, causada por el nemátodo *Ancylostoma caninum*, parásito hematófago de los perros; que causa en el humano afección cutánea e intestinal; del cual se tiene poca información acerca de su efecto en los hospederos paraténicos (roedores) y la importancia que estos tienen en el ciclo del parásito.

Debido a lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo el estudio del comportamiento migratorio de las larvas de *Ancylostoma caninum* en ratones blancos (cepa CD-1) para obtener información que sea de utilidad para realizar evaluaciones de medicamentos y hacer cuadros de desparasitación más adecuados para el control de esta parasitosis. Este trabajo se realizó en el laboratorio de parasitología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (UNAM).

Se inocularon 55 ratones con 500 larvas 3 activas de *A. caninum* que se dividieron en 11 lotes, los cuales fueron sacrificados a intervalos de 15 a 20 días para extraer hígado, cerebro, riñón, pulmón y músculo esquelético, los cuales se sometieron a un proceso de digestión artificial con el objetivo de recolectar las larvas que hubieran migrado a estos órganos y así determinar un patrón migratorio y de asentamiento de las mismas.

Se observó que las larvas de *A. caninum* tienen una migración errática en los hospederos paraténicos; teniendo similitud al inicio con lo sucedido en el hospedero definitivo, ya que al ser inoculados vía oral, las larvas migran inicialmente al pulmón, posteriormente al hígado e incluso al riñón, sin embargo en estos órganos no permanecen por mucho tiempo y muestran una predilección por el tejido cerebral y muscular, ya que del primero se recuperaron larvas desde el día 5 post-inoculación y del tejido muscular a partir del día 10 post-inoculación, donde se enquistan utilizando al ratón como reservorio.

Estos resultados pueden ser utilizados para la creación de nuevos esquemas de desparasitación para el control de esta parasitosis.

INTRODUCCIÓN

La ancilostomiasis es una enfermedad generalmente de curso crónico, eventualmente aguda asociada al perro (*Ancylostoma caninum*) y gato (*Ancylostoma tubaeforme*), caracterizada inicialmente por afectación cutánea, posteriormente por inflamación intestinal con pérdida continua de sangre, por lo que la anemia es el signo distintivo de la infección. Se presenta comúnmente en animales jóvenes, con la característica de persistir en ellos si las condiciones resultan favorables, persistiendo aún en adultos en climas cálidos húmedos, es frecuente que estos organismos se asocien a otros géneros que agravan el proceso. Cada vez de forma más frecuente se detecta la infección por los parásitos del perro y el gato en el hombre, el cual es afectado regularmente por *Ancylostoma duodenale*, que puede experimentalmente infectar a perros y gatos.

Se han identificado otras especies de *Ancylostoma* en el perro como *Ancylostoma braziliense* y en el gato *Ancylostoma ceylanicum*, aspecto que no se ha revisado en nuestro país al igual que la presencia de los géneros *Necator* y *Uncinaria*. (Bowman y cols, 2010, Kassai. 1999; Martínez y cols, 2000; Anónimo, 2005).

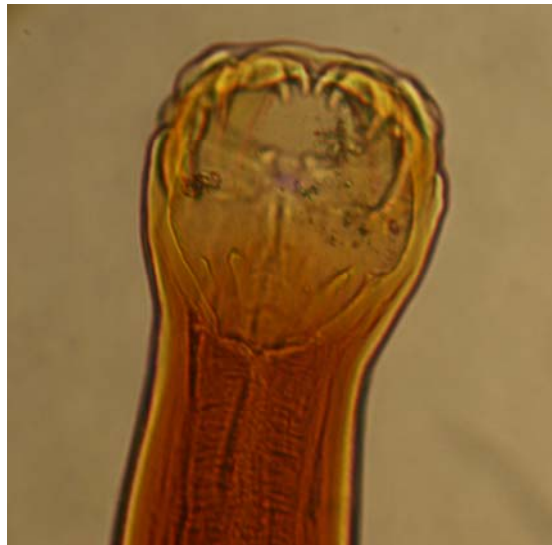


Figura. 1.- Extremo anterior de un gusano adulto *A. caninum*
El extremo anterior tiene una dirección dorsal y la apertura oral esta dirigida antero dorsalmente. La cápsula bucal es larga con tres pares de dientes en el margen ventral y dos lancetas triangulares o dientes dorsales en su fondo. Posee además una fisura dorsal en la boca. La bursa esta bien desarrollada. (Descripción de Quiroz, 2006, Fotografía Pablo Mtz.Labat.)

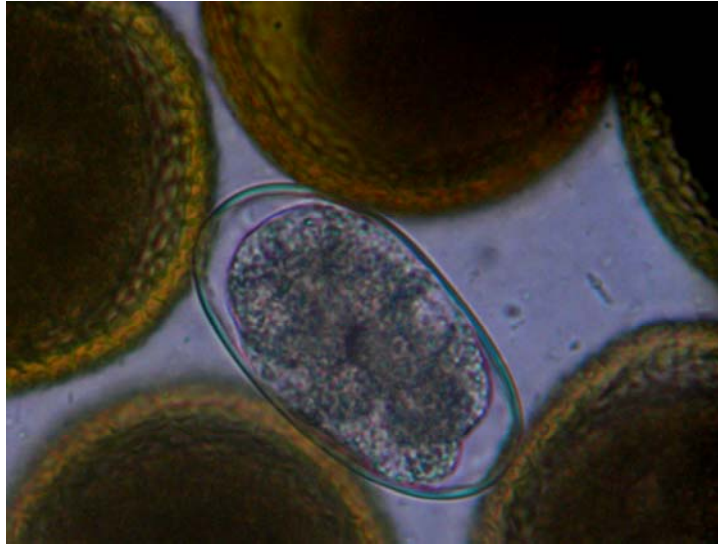


Figura 2.- Se muestra un típico huevo blastomérico de *Ancylostoma caninum* con dimensiones de aproximadamente 60 x 40 μm , rodeado de huevos de forma característica de *Toxocara canis* (40X), (fotografía original Pablo Martínez Labat).

EPIDEMIOLOGÍA

Como se ha señalado la ancilostomiasis es una enfermedad predominantemente de curso crónico en las áreas endémicas, revisiones previas en torno a prevalencias en diferentes zonas de México establecen niveles de parasitismo de entre 40 y 100% en zonas rurales y datos de entre 24 y 75 % para zonas urbanas, siendo más frecuente que *Toxocara canis* en muchos casos. La presencia del parásito es más común en perros de menos de un año y en poblaciones felinas se observa esporádicamente (2-4%). En animales más viejos el desarrollo gradual de resistencia asociada a la edad reduce la cantidad de parásitos, que pueden persistir por períodos prolongados, particularmente en aquellas áreas en las que el clima es favorable para el desarrollo de las fases infectantes. La frecuencia de la infección se debe a los factores de transmisión: la infección lactogénica en la que los cachorros lactantes ingieren con la leche materna las larvas que se liberan del cuerpo de la perra y por otra parte están la percutánea y oral desde el medio ambiente, que podría ser el mecanismo más común.

Un aspecto interesante de la infestación lactogénica es que puede ocurrir en cachorros lactantes mantenidos en ambientes limpios a partir de perras con recuento de huevos en heces negativos. La contaminación del ambiente es más frecuente cuando los perros hacen ejercicio o permanecen en lugares con hierba o vegetación que retienen la humedad, la cual protege a las larvas de la luz solar y crea condiciones microclimáticas favorables para su preservación.

En estas superficies las larvas pueden sobrevivir durante algunas semanas. Si por el contrario, las superficies en las que se depositen las heces están secas y particularmente si están expuestas al sol, resultan letales para las larvas y en un día morirán desecadas. Si las zonas en las que se aloja a los animales están húmedas o tienen el suelo poroso o desquebrajado, generarán condiciones tales que permitan el desarrollo de una infestación masiva debido a la habilidad de las larvas para penetrar por la piel intacta (Foreyt, 1997; Kassai, 1999; Nolan y cols, 1992; Oliveira y cols, 2002, Balbuena y León 2004)

Por lo anterior el suelo y la condición climática de cada región tienen un papel muy importante con relación a la presencia y persistencia de las fases infectantes y por lo tanto, también con la infección en los animales y humanos (Bhopale y cols, 2001; Robertson y cols 2000).

En el caso de la población humana, son relevantes las deficiencias en infraestructura sanitaria que impiden la correcta eliminación de las excretas de los perros, por esto la defecación al aire libre favorece la infección entre los pobladores de una región determinada, coexistiendo la interacción entre animales y seres humanos, lo cual facilita la presentación del problema zoonótico (Prociv P. y Croese J. 1996; Foreyt, 1997; Robertson y cols 2000; Bowman y cols, 2010.).

Otro elemento que pueden presentar algunos nematodos es su capacidad para desarrollar el estado de hipobiosis o dormancia, que representa una estrategia para evadir las condiciones desfavorables del ambiente y eludir los mecanismos de defensa del hospedero. La reactivación de esta infestación latente depende de estímulos indefinidos, facilitando la infestación y la diseminación del parásito al ambiente o a los neonatos. *Ancylostoma sp* se enquista en estadio de larva tres (L-3) en los tejidos del hospedador y tiene la capacidad de activarse aparentemente debido a estímulos hormonales (progesterona y prolactina) durante la gestación, usando los conductos galactóforos para la transmisión de la larva infectiva a los neonatos. Las fases del parásito enquistado resisten la actividad de compuestos antiparasitarios; por lo que, se necesita de un mejor entendimiento de los mecanismos de evasión y reactivación para el desarrollo de nuevas estrategias de control. La ancilostomiasis neonatal puede dar lugar a una anemia severa, crecimiento lento y mortalidad.

Cuando las larvas de *A. caninum* penetran en hospederos accidentales (paraténicos) como el ratón, las larvas se desarrollan poco, pero han sido recuperadas después de algún tiempo en músculos y cerebro (Vardhani V., Johri G.N., 1981). Lo que puede provocar que al ser ingeridos por hospederos susceptibles, estas larvas se liberen directamente en el intestino donde mudan después de tres días y se convierten en adultos (Soulsby, 1986; Arasu y cols, 1999, Balbuena y León 2004).

La forma crónica es la más común y la aguda aparece eventualmente, creando confusión con algunas enfermedades virales (parvovirus y coronavirus) y parasitarias (coccidiosis). En este caso también se ha encontrado que son los animales jóvenes los que con mayor frecuencia presentan las formas adultas en su tubo digestivo, persistiendo la infección por varios meses, en tanto, los perros adultos tienden a funcionar como portadores de formas larvarias enquistadas, siendo relevante el papel de las perras por su capacidad para la transmisión lactogénica y transplacentaria (Nolan y cols, 1992). Los perros jóvenes pueden entonces liberar miles de huevos, que en condiciones adecuadas, dan origen a las larvas tres activas (L-3), estas larvas requieren de condiciones microclimáticas propicias para su desarrollo (altos valores de humedad, ambiente sombreado por la presencia de hierba, suelo ácido y temperatura templada) que en caso de mantenerse constantes, permiten a las larvas lapsos de supervivencia de varios meses.



Figura 3.- Fases adultas de *A. caninum* en el intestino delgado de un perro.
(Fotografía: Pablo Martínez Labat, 2010)

El patrón de distribución está asociado con la habilidad de las larvas para sobrevivir a condiciones ambientales particularmente frías y áridas, siendo capaces de ingresar al cuerpo de los perros directamente a través de la piel intacta, debido a que cuentan con mecanismos para digerirla e ingresar a través de ella. Los gusanos persisten en el intestino de 3 a 4 meses y la mayoría son expulsados a los 6 meses posteriores a su llegada.

Esta parasitosis es zoonótica y se presenta tanto en niños como en adultos; siendo los obreros, plomeros, jardineros y agricultores los que tienen el más alto riesgo, pudiendo resultar frecuente en muchas personas después del período vacacional en áreas recreativas, en circunstancias de exposición a las condiciones descritas previamente en sitios contaminados con heces caninas.

Las larvas de estos parásitos en contacto con la piel humana pueden penetrar y, aunque no migran a otros tejidos, sí provocan lesiones reptantes y prominentes sobre la superficie cutánea conocida como síndrome de larva migrans cutánea. (Robertson y cols 2000; León y cols, 2004).

CICLO BIOLÓGICO DE *Ancylostoma caninum*

El ciclo de desarrollo comienza con la expulsión de huevos blastomerados en las heces del perro, que son incubados sólo si existen condiciones adecuadas de temperatura y humedad. La primera larva (L-1) eclosiona a las 24 horas, se alimenta de bacterias y de materia orgánica de las heces, en dos o tres días muda para llegar al segundo estado larvario (L-2) y a los cuatro o seis días pasa al tercero (L-3), que es la fase activa (infestante). Las larvas 2 y 3 se alimentan de bacterias del suelo y la L3 tiene la capacidad para penetrar al hospedador por vía oral o por vía cutánea, debido a que cuenta con sistemas enzimáticos para digerirla (a este modo de ingreso al cuerpo del hospedero se le asocia con la condición denominada síndrome de larva migrans cutánea o dermatitis reptante), siguen la ruta linfática y sanguínea para llegar al corazón y pulmones, en donde a través de los capilares pasan a los alvéolos y siguen su migración por bronquiolos, bronquios, tráquea y faringe, en donde son deglutidas para llegar al intestino. Esta migración tarda desde dos días hasta una semana (Granzer y Winfried, 1991; Bhopale y cols, 2001; Vardhani, 2003).

En este género el desarrollo del fenómeno de hipobiosis, incluye la incorporación de larvas cuatro (L-4) a la mucosa, que penetran en la submucosa y detienen su desarrollo por un lapso variable, reactivándose posteriormente para originar formas adultas. Las larvas que llegan al intestino delgado generalmente pasan por las criptas donde permanecen unos días, tras de los cuales regresan al lumen, mudando tres días después y llegan al estado adulto. Sin embargo, no todas las larvas llegan a ese estado, sino que algunas pueden sufrir una inhibición del desarrollo, la cual se cree que está determinada por un cambio fisiológico en la perra.

Otra forma de infestación es a través de la placenta, cuando las perras se infestan, las larvas pasan por vía transplacentaria a los fetos, esto se debe a que la perra funciona como hospedero paraténico, en el que las L3 cuando llegan a los pulmones en lugar de continuar con una migración que las lleve a la tráquea siguen la migración al corazón y son dispersadas en el organismo, desarrollando una migración al azar que permite que se asienten primariamente en tejido muscular y posteriormente en el cerebral.

Las larvas que quedan en estado de dormancia son reactivadas por los factores hormonales durante la gestación permitiendo de este modo su llegada a los fetos, continuando su desarrollo hasta que el cachorro nace, liberando huevos en heces a los diez días del nacimiento o bien son reactivadas durante la lactancia siguiendo aparentemente una migración similar a la de los ascáridos, aunque hay algunas evidencias de que se incorporan vía mucosa faríngea, alcanzando las vías respiratorias para completar su desarrollo regular. La relación entre las larvas quiescentes de la perra y la infestación intrauterina del feto no ha sido aún bien determinada (Foreyt, 1997; Birchard, 1996; Mitra S. and. Sasmal N.K,1985; Urquhart, 2001; Vardhani, 2003; León y cols, 2004).

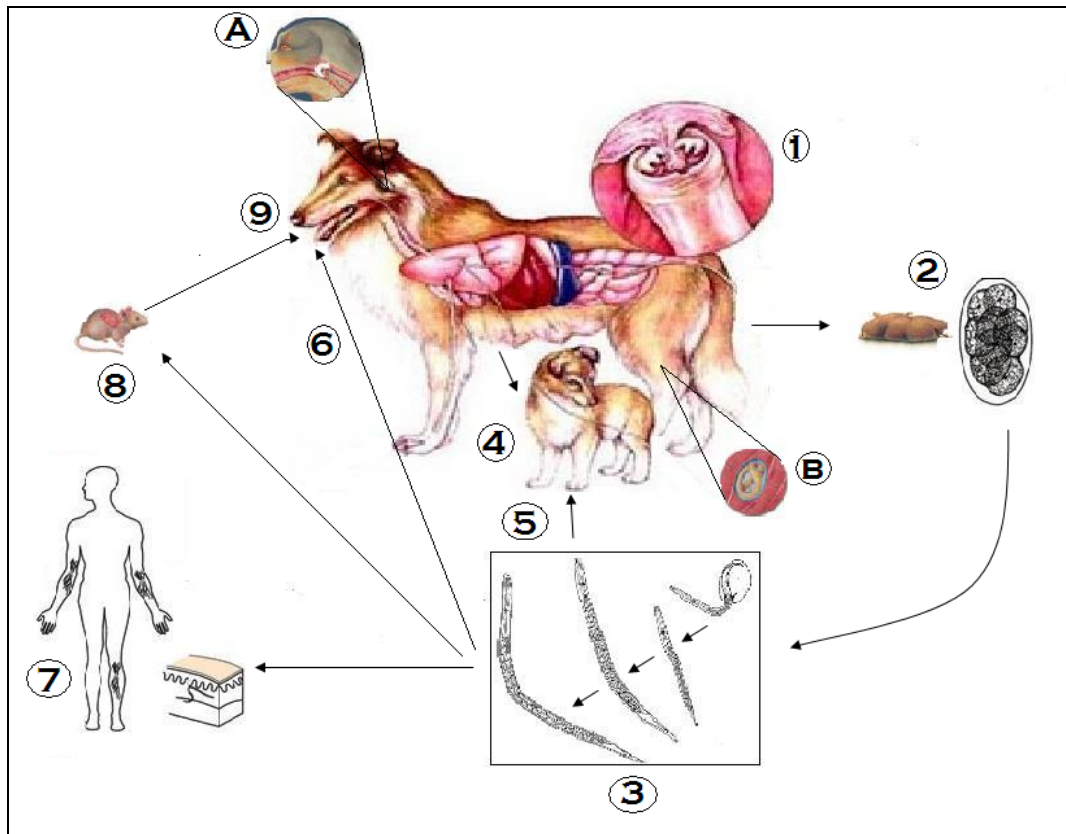


Figura 4.- Esquema del ciclo biológico de *Ancylostoma caninum*. 1. Párasito adulto en intestino delgado. 2. Huevo en heces. 3. Desarrollo larvario desde la eclosión hasta larva 3 en el medio ambiente. 4. Transmisión lactogénica. 5. Transmisión percutánea. 6. Transmisión oral. 7. Transmisión percutánea al humano (larva migrans cutánea). 8. Transmisión oral a un hospedero paraténico (roedor). 9. Ingestión de un hospedero paraténico infectado. A. Migración traqueal. B. Larva enquistada en músculo. Información tomada de Quiroz 2006. Modificaciones por Araceli Martín y Rosario Posadas 2010.

PATOGENIA

La evolución de este proceso se inicia en una primera fase cutánea con el ingreso de la L 3 que tiene la habilidad de ingresar de este modo gracias a la producción de enzimas del tipo de las colagenasas con las cuales digiere la piel. Este proceso puede ocurrir si la piel es expuesta a la humedad del ambiente en el que se desarrollan las larvas, que forman su microclima y la penetración a los tejidos ocurre rápidamente. La penetración intensa de larvas por la piel genera una reacción a cuerpo extraño, que desencadena alteraciones cutáneas como eccemas o úlceras en los puntos de penetración de las larvas, que en los perros ocurren especialmente en las zonas interdigitales y región abdominal, esto se caracteriza por elevación local de temperatura, enrojecimiento, erupciones vesiculares, pustulosas y prurito intenso, todas estas son manifestaciones del síndrome de larva migrans cutánea y eventualmente pueden incluir el arrastre de agentes bacterianos que agravan el proceso, esta condición dura algunos días y posteriormente los estados larvarios abandonan los tejidos para trasladarse a los pulmones en donde continuarán con su desarrollo.

A su llegada a los pulmones se desarrolla una segunda fase en la que las larvas pueden provocar considerables alteraciones en ellos, generando un proceso neumónico derivado de la destrucción de tejido, la producción de hemorragias y la reacción a cuerpo extraño que desencadenan, sugieren que pueden estar coexistiendo con larvas migrantes de otros helmintos con procesos evolutivos parecidos y que dejan secuelas derivadas de los procesos cicatrizales asociados (Sloss y cols, 1994; Soulsby, 1986, Bowman y cols, 2010).

En una tercera fase debemos considerar el desarrollo del parásito adulto, que primariamente ejerce una acción traumática en el intestino al morder la mucosa para alimentarse con sangre, este tipo de interacción es la causa principal de la anemia. La fijación del gusano adulto en la mucosa del intestino causa daños en los vasos sanguíneos superficiales succionando sangre con la cápsula bucal, para así lograr su alimentación. Se ha demostrado que los gusanos liberan una serie de péptidos que tienen la capacidad para bloquear la agregación plaquetaria en respuesta a una gran variedad de agonistas, incluyendo la trombina y el colágeno, causando una pérdida mayor de sangre cuando el parásito cambia de un lugar a otro, provocando hemorragia intestinal, condición que provoca una grave pérdida de sangre. (Del Valle y cols, 2003; Balbuena y León 2004).

Se ha demostrado que estos organismos poseen aspartilproteasas, metaloproteasas y cistein proteasas, así como proteínas formadoras de poros en membranas, que facilitarían la ruptura de las células y que los capacitan para metabolizar la hemoglobina y los subproductos de ésta, que trabajan en forma de cascada multienzimática. (Tenga y cols, 2004; Williamson y cols, 2004).

El gusano se alimenta de sangre y tiene la capacidad para emplear sus componentes en sus procesos metabólicos, su cápsula bucal atraviesa la mucosa y submucosa llegando hasta la lámina propia y las lesiones asociadas son graves produciendo hemorragias, la sangre es ingerida por los gusanos y una parte se pierde a través del intestino. Al cambiar de localización los gusanos agravan las hemorragias como consecuencia de la acción de las secreciones de las glándulas cefálicas, que producen enzimas digestivas además de los anticoagulantes, se considera un consumo de gran cantidad de sangre (aproximadamente un mililitro por parásito) y dicho consumo al parecer está relacionado con el ingreso de oxígeno al parásito (Sloss y cols, 1994,; Hawdon y cols 1995; Bin y cols, 2002; Balbuena y León 2004).

La pérdida de sangre se inicia desde que aparecen las larvas cuatro en el intestino y comienzan a alimentarse y la evolución de la anemia va desde una condición normocítica normocrómica hasta la microcítica hipocrómica, dependiendo del número de parásitos. Se ha determinado que estos sólo emplean un 45% de la sangre en su nutrición, el resto se pierde excretado y el hierro de la hemoglobina contenido en la sangre se pierde por completo ya que el intestino tiene una reducida capacidad de reabsorberlo; por lo tanto, esto puede agravar el estado del hospedador, ya que depende de las reservas de hierro. No debemos dejar de considerar que los sitios de fijación de los gusanos se convierten en zonas ulceradas muy numerosas y en estas áreas se desarrolla una respuesta inflamatoria con todas las secuelas derivadas (pérdida de líquidos, pérdida de electrolitos, desarrollo de una anemia crónica gradual o aguda según la densidad de organismos involucrados), el grado de deterioro es proporcional al número de gusanos, los animales más afectados son los cachorros, en especial si la lactancia es pobre, debido a la relación porcentual en cuanto a pérdida de sangre que resisten mejor los animales adultos que pueden desarrollar una anemia grave en corto tiempo (Sloss y cols,1994; Bin y cols, 2002).

Un aspecto poco estudiado en el perro que; sin embargo, se conoce muy bien en otras especies, son los efectos derivados del desarrollo de las larvas hipobióticas en la pared del intestino, en dónde se ha descrito la aparición de cambios en la composición de la mucosa (hiperplasia) con predominio de células indiferenciadas que generan un incremento en la producción de colecistoquinina,

hormona asociada a estímulos hipotalámicos, que a su vez regula la producción de gastrina (inhibiéndola en este caso), lo cual afecta la motilidad gástrica y reduce la ingesta de alimentos en los animales, que debido a las lesiones ocasionadas por el parásito tendrán problemas con la absorción de los nutrientes elementales (Cordero del Campillo, 1999; Urquhart, 2001). Aquellos animales con gran número de fases adultas desarrollarán cuadros de enteritis hemorrágica que hacen pensar en infecciones virales que los clínicos manejan en este sentido, sin tomar en consideración la posibilidad de problemas parasitarios produciéndose decesos de animales por errores diagnósticos.

Existe poca información relativa a la infección producida por *Ancylostoma tubaeforme* considerándose que los efectos de este nemátodo son muy similares a los producidos por la especie canina, provocando diarreas recurrentes, desarrollo deficiente y pérdida de peso. Se ha descrito que los perros desarrollan inmunidad gradualmente y que ésta se asocia a una exposición continua a la infección, que lleva al desarrollo del fenómeno de autocura que ha sido ampliamente estudiado en los nematodos de rumiantes, este proceso se asocia a mecanismos de respuesta humoral y celular que regulan las poblaciones de nematodos, manteniendo un equilibrio que puede hacer que la infección se haga crónica y que es dependiente de factores propios de cada animal, con un comportamiento independiente en cada caso (Soulsby, 1986; Hoskins, 2001; Vardhani, 2003).

En los perros adultos y en los roedores que funcionan como hospederos paraténicos, las larvas que penetran en la piel se desplazan bajo ésta y permanecen un lapso corto en el estrato germinativo, induciendo una reacción inflamatoria con predominio de monocitos y eosinófilos, pudiendo aparecer granulomas eosinofílicos, el parásito que logra migrar a través del estrato germinativo vía linfática hasta alcanzar la circulación pulmonar, tiene una migración que le permite asentarse en músculo y tejido cerebral y generan alteraciones que guardan semejanza con el síndrome de larva migrans visceral con el que son compatibles existiendo poca información acerca de las secuelas asociadas a su presencia en este tipo de hospederos (Soulsby, 1986; Birchard, 1996).

SIGNOS CLINICOS.

En la ancilostomiasis cutánea, un signo de infestación aguda, es la picazón, eritema, vesiculación e infecciones secundarias, las lesiones generan prurito por dermatitis. Los signos pulmonares son inaparentes; sin embargo, debido a la irritación de vías respiratorias altas puede haber catarro, cambio de timbre, disminución del sentido del olfato, tos ronca con secreción mucosa o epistaxis. La tos, dolor de garganta y esputo sanguinolentos pueden ser manifestaciones pulmonares que ocurren a pocos días o semanas de la exposición (Granzer y Haas, 1991).

En adultos se presenta un síndrome anémico con marcada disminución en la actividad, apetito irregular o disminuido pero en otras ocasiones puede aumentar, caquexia e incapacidad de realizar esfuerzos. La piel se observa seca, adherida y hay una marcada pérdida de pelo. Las mucosas como la conjuntiva, labial, anal y genital se observan pálidas, la nariz seca con hiperqueratosis, produciéndose desquebrajamiento (Granzer y Haas, 1991).

En casos avanzados se presentan síntomas entéricos con alternancia de diarrea con constipación, otras veces se presenta diarrea persistente de color oscuro que corresponde a la sangre digerida con olor fétido. Hay retardo en el crecimiento y se puede presentar la formación de edemas en las partes bajas del cuerpo que son la manifestación de la caquexia a la cual llegan estos casos. Las hembras gestantes pueden llegar a abortar. (Granzer y Haas, 1991)

Los casos leves pueden manifestar únicamente disminución del estado general con cierto grado de adinamia, apetito irregular y alteraciones importantes en sangre. (Granzer y Haas, 1991)

DIAGNÓSTICO CLINICO Y DIFERENCIAL

Este aspecto deberá considerar la evolución del proceso en sus tres etapas, aunque en muchos casos la evolución de las fases previas a las manifestaciones intestinales no son detectadas. Como se señaló previamente en la primera fase se presenta una intensa reacción a cuerpo extraño en piel de espacios interdigitales, eccema (que puede enmascarar el proceso, al mimetizar los trayectos producidos por las larvas) o las lesiones cutáneas formando trayectos serpenteantes con úlceras en la región abdominal con aumento de temperatura, congestión y erupciones vesiculares, puede haber desarrollo de pústulas y comezón intensa que caracteriza al síndrome de larva migrans cutánea, con eventual arrastre de agentes bacterianos que agravan el proceso. Esta fase termina abruptamente y se produce la involución de las lesiones al producirse la desaparición de las larvas en la zona y con ellas perderse el estímulo de cuerpo extraño. La dermatitis se presenta en los primeros tres días y se caracteriza por un trayecto único o múltiple eritematoso o violáceo de trayecto serpenteante y prurito intenso que producen vesículas, pápulas y descamación (Hendrix, 1998; Yuanqing, 1998; Cordero del Campillo, 1999; Bowman y cols, 2010).

La segunda fase se caracteriza por la presentación de problemas respiratorios, en especial cuando hay una coexistencia con la toxocariosis, estos incluyen: flujo nasal de moco seroso, algún nivel de disnea, con respiración superficial, las manifestaciones pueden agravarse y originar un comportamiento neumónico cuando hay la migración de grandes cantidades de larvas.

Hay una lenta recuperación tras esta fase que puede dejar una insuficiencia respiratoria con duración de semanas o meses. La infección intestinal incluye debilidad general que tiene un desarrollo gradual como consecuencia de la alimentación del parásito en el intestino y la deficiencia en absorción de nutrientes, mucosas pálidas debido a la pérdida de sangre, particularmente si la dieta es deficiente en aporte de hierro, acompañados de un marcado retraso en el desarrollo.

Las infecciones agudas (que son causadas por hasta algunos cientos de gusanos) se caracterizan frecuentemente por la presencia de diarrea hemorrágica y graves deficiencias en absorción intestinal, produciéndose una importante pérdida de peso todo esto ocasionado por las pérdidas de sangre causadas por los parásitos y la mala nutrición que agrava el desarrollo de la anemia, la muerte de los animales va precedida por una marcada debilidad y palidez de las mucosas (Soulsby, 1986; Kirk, 1994, Hendrix, 1998). Eventualmente la ancilostomiasis deriva en el desarrollo de la enteritis eosinofílica, la cual se caracteriza por la presentación episódica de dolor abdominal asociados con eosinofilia periférica con la característica de que no se produce pérdida de sangre y las formas más severas pueden simular cuadros de apendicitis o una perforación intestinal (Anónimo, 2005).

Las lesiones intestinales asociadas a la ancilostomiasis incluyen congestión en la mucosa intestinal asociada a múltiples puntos hemorrágicos finos, marcas rojas y zonas ulceradas. El contenido del intestino puede estar coloreado de rojo. En los animales que presentan anemia se observa el hígado particularmente pálido (Anónimo, 2005).

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Un respaldo importante es la anamnesis, asociada con mucosas pálidas, deshidratación, heces de color negrusco y diarreicas, junto con un examen coproparasitológico de concentración demostrando la presencia de huevos, tomando en consideración que de no producirse la infección congénita la expulsión de huevos puede iniciarse hasta 5 ó 6 semanas después del nacimiento cuando los nemátodos alcanzan la fase adulta. En fases tempranas se pueden detectar infiltrados pulmonares transitorios y eosinofilia; más, ocasionalmente pueden detectarse larvas en expectoraciones.

La sangre es poco densa, fluida, pálida con baja coagulación, marcada disminución de eritrocitos con formas inmaduras, crenación, poiquilocitosis y microcitosis con disminución de hemoglobina. La anemia va desde una condición normocítica normocrómica a una microcítica hipocrómica con hipoproteinemia, aumento de la globulina y disminución de la albúmina. (Granzer y Haas, 1991)

Los síntomas intestinales aparecen dos semanas después de la infestación y la anemia de tipo microcítico hipocrómico, que aparece hasta 10 a 20 semanas después de la infección (Mehlhorn, 1994; Sloss y cols, 1994; Hendrix, 1998, Urquhart, 2001).

El diagnóstico de laboratorio depende de la demostración de huevos ovalados de paredes lisas y delgadas, que contienen de 8 a 16 blastómeros, por medio de pruebas de concentración (Foreyt, 1997, 1994; Birchard, 1996; Cordero del Campillo, 1999).

CONTROL

Debe adoptarse un sistema basado en la higiene regular y la terapia antihelmíntica considerando a los cachorros lactantes y a los perros adultos. A las perras se les debe desparasitar durante la gestación y dos o tres semanas después del parto, con el fin de prevenir las dos formas de transmisión asociadas a estas. En el caso de los cachorros puede iniciarse el procedimiento a partir de las cuatro semanas de vida y repetir en dos o tres ocasiones, con intervalos de cuatro semanas, para lograr una eliminación adecuada de todas las fases (inmaduras y maduras). Los perros adultos deben ser tratados cada tres meses en zonas de alto riesgo por la amenaza continua que representan las larvas infectantes. Los suelos de tierra o arena pueden ser tratados con borato de sodio (2 kg. del producto diluido en agua/10 m²) o sus variantes, lo cual permite la eliminación de las fases infectantes, de no llevar a cabo esta medida deberá evitarse el contacto directo con el suelo o arena contaminada con larvas de *Ancylostoma caninum*, en particular en lugares sombreados o húmedos ya que permiten la supervivencia de las larvas, los pisos de los alojamientos de los animales deberán mantenerse limpios y secos, facilitando su drenaje para reducir la posibilidad del desarrollo de las fases infectantes (Soulsby, 1986; Sloss y cols, 1994; Kirk, 1994 Urquhart, 2001).

Durante una época hace algunos años se concibió la posibilidad de desarrollar una vacuna contra la ancilostomiasis y en una primera etapa se desarrolló un biológico basado en el uso de larvas tres de *Ancylostoma caninum*, que fueron sometidas a la acción de radiaciones ionizantes resultando que los organismos eran capaces de inducir la infección pero no se producía su maduración y en consecuencia las fases desarrolladas no producían huevos, con lo cual se podía cortar el desarrollo de los organismos. El tipo de respuesta inmune que se ha observado es básicamente de tipo humoral que es particularmente inducida por antígenos excretorios y secretorios de bajo peso molecular, el defecto que presentaba el producto es que las larvas manejadas de este modo presentaban una viabilidad muy reducida (de semanas), lo cual representaba una vida de anaquel muy corta, que afectaba el proceso de comercialización, esto se convirtió en una limitante de gran importancia que motivó el retiro del mercado del producto.

En la actualidad se está manejando un proyecto que inicialmente está siendo enfocado al control de *Ancylostoma duodenale* y los ancilostomátidos relacionados al humano. El modelo que se está empleando está ligado a los productos anticoagulantes generados por el parásito que han sido objeto de una gran cantidad de estudios, habiéndose determinado que se trata de al menos cinco péptidos secretados por los gusanos en diferentes porciones de su cuerpo que actúan como una cascada secuencial de la anticoagulación con la sangre del hospedero. Por medio de técnicas de biología molecular se ha logrado identificar en la composición genética del organismo, los genes que los codifican y se ha probado en animales con infección inducida que la exposición a estos productos es capaz de inducir una respuesta inmune eficiente que inhibe los mecanismos que facilitan la alimentación de los nematodos, incluso se ha estudiado y determinado todos los mecanismos que les permiten a los gusanos emplear la sangre como única fuente de nutrición para desarrollar todas sus funciones metabólicas y parece existir una especificidad bastante importante en cuanto a las características bioquímicas de los tipos de hemoglobina de los hospederos de estos parásitos, lo cual permitirá o no integrarse en sus cuerpos, siguiendo las estrategias que se han venido manejando con otros agentes infecciosos se pretende transferir los genes a agentes bacterianos, con el fin de que por medio de estos genes se genere el volumen apropiado de material inmunizante para poder usar este tipo de productos en la inmunización masiva de poblaciones.

Este proyecto se conoce como "Vacuna contra la Ancilostomiasis Humana" y está siendo financiado por la Organización Mundial de la Salud y la siguiente fase es que sea aprobada la utilización de los productos transgénicos en los humanos y puede de forma indirecta resultar muy benéfico en el caso de la ancilostomiasis canina que se encuentra también relacionada con infecciones humanas (Brinkwoorth y cols., 2000; Bin y cols, 2002; Boag y cols, 2003, Delaney y cols, 2003; Mieaczanek, 2004).

Se han realizado estudios preliminares *in vitro* para destruir las larvas infectantes del nemátodo empleando hongos nematófagos del género *Dudingtonia flagrans*, *Nematoctonus robustus* y *Arthrobotrys oligospora* que previamente se han usado contra fases infectantes de otros nematodos en rumiantes sobre todo, alcanzando niveles de destrucción de hasta 89% con los diferentes géneros. La siguiente etapa será probar en suelos contaminados con fases larvarias el comportamiento que sigue esta opción ya que, en alojamientos con piso de tierra para los perros podría resultar especialmente útil como sistema biológico de control (Maciel y cols, 2009).

Considerando el potencial zoonótico de este organismo deberá limitarse el acceso de perros y gatos a playas y zonas de descanso públicos ya que, representan un riesgo para la salud pública especialmente para las poblaciones infantiles (Birchard 1996; Cordero del Campillo, 1999).

TRATAMIENTO DE LA ANCILOSTOMIASIS

Un primer aspecto a considerar en el tratamiento de esta nematodiasis es el relativo a la condición de volemia de los animales, que deberá valorarse para determinar el nivel de deterioro que presentan y en su caso llevar a cabo una suplementación de hierro que favorezca la recuperación del animal, complementando con el suministro de vitaminas del complejo B para estimular los procesos hematopoyéticos, esto se puede complementar enriqueciendo las características nutricionales de la dieta del animal, particularmente incrementando la proteína y en condiciones extremas considerar la aplicación de transfusiones sanguíneas que acelerará la recuperación. También deberá considerarse que las larvas hipobióticas del nemátodo en principio, pueden permanecer en esta condición por varios meses sin que sea factible detectarlas de algún modo ya que, no son productoras de huevos pero si afectan la capacidad de absorción de los animales y pueden inducir pérdidas sanguíneas desde esta fase (Clark y cols., 1991; Rangel, 1991; Bistner y cols 2002).

La herramienta más importante en el tratamiento son los antiparasitarios de los cuales existen varios grupos que inicialmente se manejaron de forma individual y posteriormente se han venido asociando con la idea de mejorar su efecto sobre los diferentes géneros de nematodos y cestodos que se asocian con *Ancylostoma* y ampliar su espectro (Fox, 1998).

En el tratamiento de la ancilostomiasis entre los fármacos más antiguos se puede considerar al pamoato de pirantel y al febantel que pertenece al grupo de las tetrahidropirimidinas y que se emplea en dosis de 5 a 14 mg kg, con eficacia probada sobre formas adultas, que empleándose en dosis bajas por tres días puede resultar más eficaz que empleando una dosis alta por una sola ocasión. Al ser una familia antigua de antiparasitarios especialmente contra *Ancylostoma caninum*, se ha detectado resistencia hace alrededor de 15 años en Europa, en nuestro país esto se ha identificado cuando se han desarrollado pruebas críticas, observando efectos reducidos con los distintos productos comerciales disponibles. Con el desarrollo del oxantel la industria farmacéutica ha solucionado este aspecto recuperando el potencial antiparasitario de esta familia.

En asociación con el pamoato de pirantel se experimentó hace algunos años para desarrollar sinergia con la familia de las lactonas macrocíclicas (especialmente la ivermectina) y han agrupado hasta cuatro antiparasitarios en la misma formulación, el resultado obtenido ha sido bueno al inicio, pero como se ha señalado y especialmente en consideración del caso de la ancilostomiosis en la que bajo determinadas condiciones epidemiológicas se requiere establecer esquemas de tratamiento muy cerrados (cada doce semanas) representa un factor que significa una elevada presión biológica que favorecerá en un plazo no lejano el desarrollo de resistencia múltiple (Booth, 1998; Clark y cols., 1991; Dryden y Ridley, 1999; Greiner y cols, 1992; Macareno, 2001).

Dentro del grupo de los nitrofeniléteres se encuentra el nitroscanate micronizado en dosis única de 50 mg/kg contra *Ancylostoma caninum* y otros nematodos y cestodos de perros y gatos, con el inconveniente de su efecto colateral de inducir vómito lo que limitó su uso y después de un período amplio se ha detectado pérdida de potencia que agrava la indicación de su uso. Hace poco tiempo el laboratorio que lo patentó lo retiró del mercado; sin embargo, existe disponible un producto alterno. (Boray cols, 1979, Craig y cols, 1991, Genchi y cols, 1990, Martínez y cols, 2000).

Los bencimidazólicos se han usado desde hace décadas, el mebendazol fue de los primeros empleándose en dosis de 22 mg/kg, suministrando dosis repetitivas hasta por tres días, está indicado el uso del albendazol en unidosis de 5-10/kg, el oxbendazol en unidosis de 22mg/kg, y el fenbendazol empleado a unidosis de 50 a 100 mg/kg suministrándolo por tres días. Especialmente estos principios se han incluido individualmente o se han asociado con otros diferentes para potenciar su efecto a través del sinergismo. Algunos miembros de este grupo presentan amplio espectro, sobre todo contra nematodos intestinales por el mecanismo de acción que presentan (Godman y Gilman, 1996). Compuestos como el albendazol pueden generar efectos adversos si se utiliza por períodos prolongados resultando teratogénico y embriotóxico en algunas especies por lo que, está contraindicado en hembras gestantes (Godman y Gilman, 1996), en el caso del mebendazol se han descrito casos de hepatotoxicidad idiosincrática en perros cuando se emplearon dosis de 33 mg/kg por cinco días (Genchi y cols, 1990, León y cols, 2004, Madisson y col, 2002).

El grupo de las lactonas macrocíclicas con sus diferentes principios integrantes incluye fármacos potentes como antinematódicos, insecticidas y acaricidas. Los principios integrantes se dividen en dos subgrupos que incluyen a las avermectinas y milbemicinas (Köhler, 2001). Dentro de las avermectinas tenemos a la ivermectina, doramectina, eprinomectina y selamectina y dentro de las milbemicinas tenemos a la milbemicina y a la moxidectina (Rangel, 1991; Steele, 1998; Nolan y cols, 1992).

Estos principios presentan excelente efecto sobre un elevado rango de nematodos y artrópodos en diferentes ubicaciones y especies, por esa razón se les ha denominado endectocidas (Johnstone, 2000). El principio más antiguo fue la ivermectina, la cual se adaptó a partir de formulaciones usadas en bovinos (León y cols, 2004, Ryan, 1999), la dosis que se ha venido usando en el perro es de 200 mcg/kg subcutáneo (la dosis adecuada es de 6 mcg/kg en perros y de 25 mcg/kg en gatos), este criterio de adaptación ha significado exponer a los parásitos a dosis excesivas generando el riesgo para desarrollo de resistencia, considerando la amplia gama de tipos de parásitos contra los que resulta efectiva y el criterio para su empleo en el tratamiento de las helmintiasis (destrucción de microfilarias, tratamiento de toxocariosis tanto en fases adultas como larvianas, de sarnas, etcétera). Contraindicado en la raza Collie (Sumano y col. 2000). En este grupo están incluidas la doramectina y la moxidectina con los mismos mecanismos de acción, con alta eficacia en ancilostomiasis sólo con presentaciones para uso en rumiantes, la dosis recomendada es de 200 mcg/kg de peso, existen pruebas de su empleo eficaz contra *Toxocara canis* y *Toxocara cati* con hasta un 98 % de eficacia contra formas adultas tanto en perros como en gatos. En Estados Unidos están aprobados productos desarrollados con estos principios enfocados a la prevención de la dirofilariosis (como microfilaricidas).

El principio más reciente de este grupo es la selamectina, que se maneja en presentación *pour on* de uso epicutáneo en dosis de 6 mg/kg que, primariamente tiene actividad contra ectoparásitos pero resulta el más eficiente para la expulsión de los gusanos adultos (León y cols, 2004).

También en la ancilostomiasis deberá considerarse que en los animales adultos la necesidad de enfocar el uso de los principios a la eliminación de las fases larvianas para prevenir la transmisión lactogénica y la transplacentaria en las hembras o reducir las cargas larvianas en los machos adultos de forma gradual, aplicando tratamientos cíclicos y en este sentido el uso de las lactonas macrocíclicas o los bencimidazólicos puede ser un excelente apoyo por su capacidad para alcanzar los tejidos extraintestinales, esto basándose en las estrategias empleadas para el control de larvas somáticas que se ha usado contra *Toxocara canis* (Rangel, 1991; Nolan y cols, 1992; León y cols, 2004).

LARVA MIGRANS CUTÁNEA.

El término "larva migrans cutánea" se refiere a la erupción progresiva debido a la invasión de la piel humana por larvas de anquilostoma, fue utilizado por primera vez en 1874 y se atribuyó a las larvas del nematodo *Ancylostoma caninum* en 1929 (Caumes y Danis, 2004).

Larva migrans cutánea (LMC) ó erupción reptante es un síndrome causado por la presencia y migración de larvas de nematodos de diferentes animales en capas superficiales y/o profundas de la piel. Constituye una de las dermatosis zoonóticas más frecuentes en zonas tropicales y subtropicales. Los principales agentes etiológicos son *Ancylostoma caninum* nemátodo de cánidos y *Ancylostoma braziliense* nemátodo de cánidos y félidos. Con menor frecuencia se ha identificado a *Uncinaria stenocephala*, *Uncinaria ceylanicum*, *Ancylostoma tubaeforme*, *Bumostomum phlebotomum* y *Baylisascaris procyoni*.

La larva migrans cutánea es más frecuente en los niños en los climas húmedos y cálidos. Se debe tener en cuenta que es el problema dermatológico más frecuente que reportan los turistas de países europeos y de EUA que viajan al Caribe, México (Tamaulipas, Veracruz, Tabasco y Guerrero), Brasil, Venezuela, Colombia, Jamaica, Barbados, Senegal y varios países asiáticos, destacando Tailandia. Alrededor de la cuarta parte de los viajeros tienen síntomas durante más de un mes antes de acudir al médico con hallazgos de larva migrans cutánea.

Los microhábitats apropiados se encuentran en zonas costeras con presencia habitual de perros callejeros, lo que ocasiona que las personas estén en riesgo de adquirir la enfermedad al asolearse en las playas (50% de los casos). Como ya se mencionó un sector susceptible son los niños, debido a sus hábitos de juego, jardineros y otros sujetos que se encuentren expuestos a suelos apropiados con materia fecal de perro disuelta.

A. caninum presenta enzimas proteasas relacionadas con la écdisis, invasión tisular, destrucción de tejidos y degradación de la mucosa. También se ha identificado un factor inhibidor de la adhesión de neutrófilos activados.

Los eventos histopatológicos incluyen una dermatitis difusa con acantosis, focos de espongirosis con vesículas intraepidérmicas que contienen queratinocitos necróticos. En zonas perivasculares de la dermis superior y media se observan infiltrados inflamatorios de predominio eosinofílico. El hallazgo de la larva de *Ancylostoma sp.* u otro agente etiológico no es frecuente debido a que el parásito no se encuentra dentro de la lesión visible.

Las zonas corporales afectadas con mayor frecuencia son pies, manos, glúteos, área ano-genital, tronco, muslos y piernas. Después de que las larvas han penetrado, aparece una pápula

pruriginosa; pasadas unas semanas, a una distancia aproximada de 2 -3 centímetros de la primera lesión la migración de las larvas da lugar a trayectos levantados, sinuosos, únicos o múltiples, de acuerdo al número de parásitos, con pápulas, vesículas, descamación y eritema (signo de la dermatitis verminosa reptante que caracteriza al síndrome).

Estos trayectos avanzan unos pocos milímetros al día, la lesión es progresiva y provoca prurito intenso, síntoma que genera la consulta al especialista.



Figura 5.- Lesión serpenteante causada por la migración de larvas *A.caninum* en humano. (Tomado de: www.scientificpsychic.com)

El cuadro se resuelve en un periodo de 2 a 8 semanas y sin tratamiento aproximadamente del 20 al 80% de las larvas mueren, pero en ocasiones puede prolongarse durante meses. La infección bacteriana es frecuente (debido a que durante su desarrollo las larvas arrastran gran cantidad de bacterias) así como dermatitis por contacto por automedicación con remedios tópicos.

La LMC puede aparecer como una foliculitis papular eosinofílica crónica, cuando una gran cantidad de larvas penetran los folículos pilosos. Esta condición no incluye trayectos en piel, lo que puede conducir a un diagnóstico erróneo.

Se tienen reportes de enteritis eosinofílica en Australia y EUA., esta ocurre cuando una larva (casi en el 100% de los casos se trata de un solo parásito) se localiza a nivel intestinal, generando un síndrome con síntomas de dolor abdominal agudo, náuseas, anorexia, diarrea y otros rasgos que imitan la apendicitis aguda (incluyendo la sangre transitoria con neutrofilia) y/o la obstrucción de intestino delgado (Prociv P., y Croese J., 1996). Se han reportado de manera esporádica neumonitis eosinofílica (síndrome de Loëffler), eritema multiforme, opacidad en córnea y larvas en tejido muscular.

El diagnóstico se realiza en base a los antecedentes epidemiológicos y cuadro clínico. Los estudios de laboratorio tienen poca especificidad ya que de manera poco constante, reportan eosinofilia y niveles altos de IgE total. La biopsia de piel parece ser la herramienta de mayor valor diagnóstico, pero resulta difícil realizarla debido a los movimientos erráticos de las larvas.

El diagnóstico diferencial debe realizarse con los parásitos que pueden causar LMC, ya mencionados, con lesiones debidas a dermatofitos y dermatitis por contacto. El tratamiento incluye tiabendazol tópico, albendazol oral e ivermectina oral, mostrando una eficacia superior al 90% en la disminución de los síntomas y su uso se prefiere antes que tiabendazol oral debido a que presenta una elevada frecuencia de efectos adversos.

Muchos pacientes recaen, semanas o meses más tarde, al parecer sin la nueva infección, pero responden otra vez al tratamiento repetido. La reactivación esporádica de larvas inactivas es la explicación probable, pero los antihelmínticos actualmente disponibles no erradican la L3 en estado hipobiotico secuestrado dentro de fibras del músculo. La eficacia del albendazol y de la ivermectina en el tratamiento de larva migrans cutánea sugiere que pudieran prevenir las recaídas de enteritis eosinofílica (Caumes y cols, 1993).

HIPÓTESIS DEL TRABAJO: La inoculación oral de 500 L3 activas *Ancylostoma caninum* en ratones blancos cepa CD1; organismos que se desempeñan como hospederos paraténicos, permite la implantación de los estados larvarios del parásito en diferentes órganos precedido de una fase migratoria por diferentes tejidos.

OBJETIVOS

- ✧ Estudiar el comportamiento migratorio de la tercera fase larvaria *Ancylostoma caninum* en un hospedero paraténico, utilizando ratones blancos cepa CD1 como modelo experimental.
- ✧ Obtener mayor información sobre el tema; ya que, la existente es insuficiente y poco actualizada.

MATERIALES Y MÉTODOS:

El trabajo experimental se desarrolló en el laboratorio de Parasitología de la Sección de Ciencias de la Salud Animal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, campo 4, ubicada en el Municipio de Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

Material biológico.

- ✧ Se utilizaron 55 ratones cepa CD1, machos de cuatro meses de edad los cuales fueron mantenidos con agua y alimento comercial *ad libitum*.
- ✧ Larvas 3 activas *Ancylostoma caninum* cultivadas *in vitro*.

Equipo.

- ✧ Microscopio compuesto Leica, mod. CME.
- ✧ Estufa bacteriológica Rios Rocha, mod. EC-51
- ✧ Microscopio estereoscópico Leica Zoom 2000.

Reactivos

- ✧ Agua destilada.
- ✧ Formol al 1%.
- ✧ Ácido clorhídrico.

- ✧ Pepsina.
- ✧ Solución saturada de NaCl.

Otros.

- ✧ Cajas de Petri de diferentes medidas.
- ✧ Sonda para alimentación para neonatos.
- ✧ Tubos de ensaye.
- ✧ Gradillas.
- ✧ Probetas de 1000 ml.
- ✧ Vasos de precipitado de 500 ml.
- ✧ Gasas.
- ✧ Pipetas Pasteur.
- ✧ Cubreobjetos.
- ✧ Portaobjetos.
- ✧ Estuche de disección.
- ✧ Micropipeta.

METODOLOGÍA.

Elaboración de cultivos larvarios.

Las larvas fueron cultivadas a partir de muestras de heces de perros obtenidos de centros de control canino con infección natural. Estas fueron sometidas a la técnica coproparasitoscópica de flotación para obtener la mayor cantidad posible de huevos, posteriormente fueron lavados varias veces mediante sedimentación en agua para eliminar residuos de la solución de cloruro de sodio. Una vez terminado el proceso de lavado, el sedimento fue colocado en cajas de Petri con agua destilada y puestos en la estufa bacteriológica a 35° C para inducir su maduración. Después de un período de cinco días se revisaron las cajas para verificar la viabilidad de las larvas. Cuando éstas se encontraban en la fase tres de su desarrollo larvario se utilizaron para la inoculación de un perro clínicamente sano con el fin de que desarrollara la enfermedad y fuera utilizado como productor de huevos para realizar los cultivos larvarios que se utilizarían para la inoculación de los ratones.

Una vez transcurrido el periodo prepatente de la enfermedad (26 días post inoculación) las heces fueron recolectadas para ser procesadas con la técnica anteriormente descrita. Teniendo un número suficiente de larvas, se realizó el conteo de diez muestras de cultivo de 50 µl cada una, para obtener el número de larvas promedio y saber así el volumen de inóculo a utilizar.

Protocolo experimental.

Los ratones se agruparon en once lotes de cinco animales cada uno. Todos los animales fueron inoculados intragástricamente con una sonda para alimentación de neonatos con 500 larvas tres. Posteriormente los animales se sacrificaron a los 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90, 120 y 150 días post inoculación mediante la técnica de desnucamiento para la extracción del hígado, pulmón, cerebro, músculo esquelético del muslo izquierdo y riñones; para determinar la cantidad de larvas presentes en ellos, sometiendo los tejidos a un proceso de digestión artificial para recuperar y cuantificar aquellas larvas que hubieran migrado por estos.

Una vez realizada la necropsia y la extracción de los órganos, se maceraron y se colocaron en una gasa para depositarla en tubos de ensaye identificados con el órgano, ratón y lote correspondiente, que contenían jugo gástrico artificial (ácido clorhídrico al 3% y pepsina), después se colocaron en la estufa bacteriológica por un periodo de dos días para favorecer la migración de las larvas. Pasado este tiempo, la gasa fue retirada del tubo y se dejó sedimentar para retirar el sobrenadante y adicionarle formol al 1% para fijar las larvas. El sedimento que contenía las larvas se depositó en un portaobjetos y fue observado al microscopio para el conteo de las larvas presentes en cada órgano.

Con los datos obtenidos en cuanto al número de fases larvarias recuperadas se organizaron en cuadros y gráficos que permitan una mejor comprensión, además de procesarlos mediante la prueba de análisis de varianza la cual permite establecer la validez estadística de la información obtenida.

Este esquema permitirá establecer la ruta migratoria de los estados larvarios primariamente contando con un referente de su ubicación en el tiempo y los tejidos permitiendo desarrollar ensayos con diversos principios para evaluar su efecto en el parasitismo conociendo el comportamiento promedio del parásito en este modelo biológico.

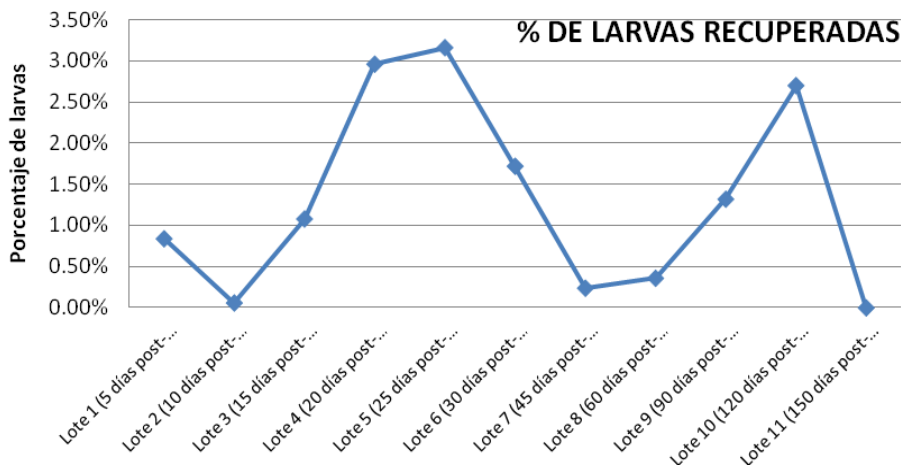
RESULTADOS

A continuación se enlista y grafica el número total de larvas recuperadas del proceso de digestión artificial de todos los grupos y su porcentaje por lote y fecha de sacrificio.

| LOTE | # DE LARVAS RECUPERADAS | % DE LARVAS RECUPERADAS |
|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Lote 1 (5 días post-inoculación) | 21 | 0.84% |
| Lote 2 (10 días post-inoculación) | 15 | 0.06% |
| Lote 3 (15 días post-inoculación) | 27 | 1.08% |
| Lote 4 (20 días post-inoculación) | 74 | 2.96% |
| Lote 5 (25 días post-inoculación) | 79 | 3.16% |
| Lote 6 (30 días post-inoculación) | 43 | 1.72% |
| Lote 7 (45 días post-inoculación) | 6 | 0.24% |
| Lote 8 (60 días post-inoculación) | 9 | 0.36% |
| Lote 9 (90 días post-inoculación) | 33 | 1.32% |
| Lote 10 (120 días post-inoculación) | 27 | 2.70% |
| Lote 11 (150 días post-inoculación) | <i>SD</i> | <i>SD</i> |

SD= Sin datos.

Tabla 1.- Número y porcentaje general de larvas de *A. caninum* recuperadas de la digestión artificial de los tejidos de los ratones infectados.



Gráfica 1.- Distribución porcentual general de larvas de *A. caninum* recuperadas de los tejidos de ratón.

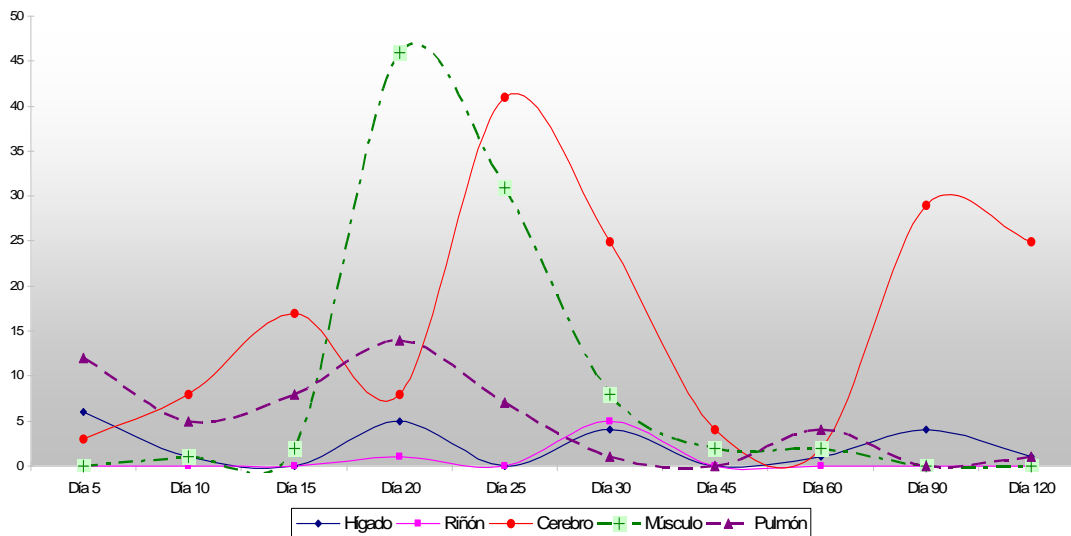
El porcentaje total de recuperación de larvas de todos los órganos digeridos para el día 5 fue de 0.84% (21 larvas), porcentaje que a lo largo del estudio fue aumentando hasta alcanzar un pico máximo de recuperación de larvas de 2.96% (74 larvas) en el día 20 y 3.16% (79 larvas) en el día 25, estos porcentajes disminuyeron gradualmente; sin embargo, nunca desaparecieron por completo; ya que, a lo largo del trabajo que duró 150 días, siempre se colectaron larvas. La mortalidad ocurrió en los días 150 donde no sobrevivió ningún ratón y en el día 120 donde sólo sobrevivieron 2.

RESULTADOS OBTENIDOS POR ÓRGANO Y DÍA DE SACRIFICIO.

El número de larvas recuperadas por órgano y día de sacrificio se enlista y grafica a continuación.

| Día de sacrificio \ Órganos estudiados | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 | 45 | 60 | 90 | 120 | 150 |
|--|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|
| Hígado | 6 | 1 | 0 | 5 | 0 | 4 | 0 | 1 | 4 | 1 | SD |
| Riñón | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | SD |
| Cerebro | 3 | 8 | 17 | 8 | 41 | 25 | 4 | 2 | 29 | 25 | SD |
| Músculo | 0 | 1 | 2 | 46 | 31 | 8 | 2 | 2 | 0 | 0 | SD |
| Pulmón | 12 | 5 | 8 | 14 | 7 | 1 | 0 | 4 | 0 | 1 | SD |

Tabla 2.- Número de larvas *Ancylostoma caninum* recuperadas por órgano y por día.



Gráfica 2.- Distribución de larvas *Ancylostoma caninum* recuperadas por órgano y por día de sacrificio.

Como puede observarse en la tabla y gráfica 2, al inicio del trabajo experimental, en el día 5 post-inoculación existió una concentración mayor de larvas en el tejido pulmonar de donde se obtuvieron 12

larvas (0.48%), éste comportamiento es similar al que se presenta en el hospedero definitivo. Se recuperaron 6 larvas en hígado (0.24%), en el caso de cerebro solo se colectaron 3 (0.12%) y en los tejidos renales y musculares no se pudieron recolectar larvas para estas fechas. Para el día 10 post-inoculación la concentración más alta de larvas ya no se presentó en el tejido pulmonar, del cual solo se obtuvieron 5 larvas (0.20%), dando lugar a una disminución con respecto al valor obtenido en la fecha de sacrificio anterior, manifestándose en el cerebro un total de 8 larvas (0.32%), para el caso del hígado y el músculo se obtuvo una sola larva en ambos casos (0.04%), del riñón no se obtuvieron larvas. El órgano con la mayor recuperación de larvas al día 15 post-inoculación fue el cerebro en donde se colectaron 17 larvas (0.68%), siendo este valor uno de los más altos obtenidos para este órgano, de los órganos restantes sólo del tejido pulmonar se pudieron obtener 8 larvas (0.32%), el músculo presentó valores muy bajos de recuperación con sólo 2 larvas (0.08%). Del tejido renal y hepático no se pudo colectar ninguna larva en contraste con fechas anteriores. Para el día 20 en el caso del tejido renal se pudo colectar una sola larva (0.04%), del tejido hepático una vez más se encontraron 5 larvas después de realizar la digestión artificial de dicho órgano (0.20%), del tejido cerebral se continuo recuperando larvas (8 larvas) aunque el porcentaje disminuyó un poco en comparación con la fecha anterior donde éste había sido alto, la concentración de larvas en el pulmón fue aumentando gradualmente hasta alcanzar en este día del estudio su pico máximo con 14 larvas recuperadas (0.56%), del mismo modo el tejido muscular también presentó su nivel más alto de recuperación con 46 larvas (1.84%).

Los órganos menos afectados por la presencia de larvas para el día 25 del estudio fueron hígado que no presentó larvas y el riñón. Cabe señalar que de éste órgano solo se recuperaron larvas en los días 20 y 30 post-inoculación, en el tejido pulmonar se obtuvo nuevamente una disminución de larvas recuperadas obteniéndose sólo 7 de ellas (0.28%) en comparación con fechas anteriores. Tanto del músculo como del cerebro se obtuvieron en esta etapa los valores de recuperación más altos para cada uno de éstos órganos teniendo para el primero 31 larvas recuperadas (1.24%) y para el cerebro 41 larvas (1.64%), siendo este valor el pico máximo de recuperación larvaria en dicho órgano.

Se presentó una disminución significativa de larvas en el tejido cerebral en el día 30 del estudio, llegando a recuperarse sólo 25 (1%), lo mismo ocurrió en el tejido muscular donde a diferencia de la fecha anterior sólo se recuperaron 8 (0.32%). El tejido pulmonar también presentó una disminución de larvas recuperadas con 1 (0.04%), en relación con los datos expuestos anteriormente. En el caso del hígado donde se ha presentado hasta esta fecha un porcentaje de recuperación muy variable solo se recuperaron 4 larvas (0.16%) y a diferencia de los días anteriores en esta fecha se recuperaron 5 del tejido renal (0.2%). En el día 45 la recuperación de larvas tanto del hígado, riñón y pulmón fue nula, en

el caso del tejido cerebral continuo siendo baja con 4 recuperadas (0.16%) y en el músculo se presentó nuevamente una disminución marcada llegando a obtenerse solo 2 (0.08%).

En el día 60 la concentración de larvas en tejido muscular mantuvo constante su valor de recuperación larvaria con respecto a la fecha anterior. El tejido cerebral manifestó una disminución de su tasa de recuperación con solo 2 larvas recuperadas (0.08%), sin embargo se pudieron recolectar nuevamente del tejido pulmonar encontrando 4 de ellas (0.16%) el hígado tuvo un valor bajo con tan sólo una recuperada (0.04%).

No se logró la recuperación de larvas de los tejidos renal, muscular y pulmonar en el día 90. Del tejido hepático solo se recuperaron 4 (0.16%) nivel bajo en comparación con el valor obtenido en el cerebro que fue de 29 (1.16%), en este caso hay que señalar que este es el segundo valor más alto que se obtuvo en este órgano en todo el estudio. Para el día 120 del estudio, podemos observar que la falta de recuperación larvaria en el tejido renal se ha mantenido constante en todo el estudio. En el caso del tejido pulmonar se había presentado una recuperación nula de larvas en las fechas anteriores, sin embargo en esta etapa se logró recuperar una cantidad pequeña con sólo una (0.10%), al igual que el tejido hepático. Del cerebro se recuperaron 25 larvas que dan un 2.5%, aclarando que este valor se obtuvo en base a 1000 inoculadas, ya que se presentó la muerte de tres ratones de este lote. En la etapa final del trabajo (día 150) no se pudieron obtener datos; ya que, la totalidad de los animales murió.

La mortalidad observada en el desarrollo del trabajo puede estar asociada a la agresividad de las larvas sobre los tejidos del hospedero y ligada también a la susceptibilidad de la línea genética de los animales empleados.

Para realizar la evaluación de los datos obtenidos en cuanto a número de larvas recuperadas por órgano y por lote; estos se sometieron a la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA), utilizando un nivel de confianza $p < 0.05$ y se realizó la comparación de la $F_t = 2.61$ y la F_c de cada órgano, **sin observarse diferencia estadística en todos los órganos.**

Número de larvas obtenidas en *Cerebro*.

| Lote | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 |
|------|----|----|----|----|----|
| 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 |
| 2 | 4 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| 3 | 11 | 0 | 1 | 3 | 2 |
| 4 | 1 | 3 | 0 | 2 | 2 |
| 5 | 34 | 1 | 0 | 6 | 0 |
| 6 | 3 | 4 | 16 | 1 | 1 |
| 7 | 1 | 0 | 2 | 0 | 1 |
| 8 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 9 | 3 | 0 | 12 | 14 | 0 |
| 10 | 0 | 25 | † | † | † |
| 11 | † | † | † | † | † |

†= muerto.

Tabla 1.- Número de larvas recuperadas por lote y por ratón de cerebro.

Tabla de resultados ANOVA para *Cerebro*.

| FV | GL | SC | CM | Fc |
|--------------|----|---------|-------|-------------|
| Tratamientos | 4 | 116.07 | 29.01 | 0.63 |
| Error | 43 | 1971.55 | 45.85 | |
| Total | 47 | 2087.62 | | |

Tabla 2.- Resultados del análisis de varianza para los datos de cerebro de ratón.

Número de larvas obtenidas en *Hígado*

| Lote | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 |
|------|----|----|----|----|----|
| 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 2 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 |
| 10 | 0 | 1 | † | † | † |
| 11 | † | † | † | † | † |

†= muerto

Tabla 3.- Número de larvas recuperadas por lote y por ratón de hígado.

Tabla de resultados ANOVA para *Hígado*.

| <i>FV</i> | <i>GL</i> | <i>SC</i> | <i>CM</i> | <i>Fc</i> |
|--------------|-----------|-----------|-----------|------------|
| Tratamientos | 4 | 1.28 | 0.32 | 0.4 |
| Error | 43 | 34.43 | 0.80 | |
| Total | 47 | 35.71 | | |

Tabla 4.- Resultados del análisis de varianza para los datos de hígado de ratón.

Número de larvas obtenidas en *Músculo*.

| Lote | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 |
|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 4 | 45 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 5 | 1 | 19 | 1 | 10 | 0 |
| 6 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| 7 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| 8 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 0 | 0 | † | † | † |
| 11 | † | † | † | † | † |

Tabla 5.- Número de larvas recuperadas por lote y por ratón de músculo.

Tabla de resultados ANOVA para *Músculo*

| <i>FV</i> | <i>GL</i> | <i>SC</i> | <i>CM</i> | <i>Fc</i> |
|--------------|-----------|-----------|-----------|-------------|
| Tratamientos | 4 | 137.22 | 34.3 | 0.67 |
| Error | 43 | 2186.76 | 50.85 | |
| Total | 47 | 2323.98 | | |

Tabla 6.- Resultados del análisis de varianza para los datos de músculo de ratón.

Número de larvas obtenidas en *Pulmón*.

| Lote | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 |
|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 1 | 4 | 5 | 0 | 3 | 0 |
| 2 | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 |
| 3 | 4 | 0 | 3 | 0 | 1 |
| 4 | 11 | 0 | 0 | 3 | 0 |
| 5 | 1 | 2 | 0 | 4 | 0 |
| 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 0 | 1 | † | † | † |
| 11 | † | † | † | † | † |

†= muerto Tabla 7.- Número de larvas recuperadas por lote y por ratón de pulmón.

Tabla de resultados ANOVA para *Pulmón*.

| <i>FV</i> | <i>GL</i> | <i>SC</i> | <i>CM</i> | <i>Fc</i> |
|--------------|-----------|-----------|-----------|------------|
| Tratamientos | 4 | 22.63 | 5.65 | 1.4 |
| Error | 43 | 163.03 | 3.79 | |
| Total | 47 | 185.66 | | |

Tabla 8.- Resultados del análisis de varianza para los datos de pulmón de ratón.

Número de larvas obtenidas en *Riñón*.

| Lote | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 |
|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 0 | 2 | 2 | 1 | 0 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 0 | 0 | † | † | † |
| 11 | † | † | † | † | † |

†= muerto Tabla 9.- Número de larvas recuperadas por lote y por ratón de riñón.

Tabla de resultados ANOVA para *Riñón*.

| <i>FV</i> | <i>GL</i> | <i>SC</i> | <i>CM</i> | <i>Fc</i> |
|--------------|-----------|-----------|-----------|------------|
| Tratamientos | 4 | 0.52 | 0.13 | 1.5 |
| Error | 43 | 8.72 | 0.20 | |
| Total | 47 | 9.24 | | |

Tabla 10.- Resultados del análisis de varianza para los datos de riñón de ratón.

DISCUSION.

La información con la que se cuenta en la literatura revisada acerca del comportamiento migratorio de las larvas de *A. caninum* en los hospederos paraténicos es escasa y no existen referencias recientes disponibles a este respecto; por tanto, los datos disponibles son poco específicos y no aportan mucho. Por esto, el presente trabajo pretendió dilucidar dicho comportamiento migratorio y determinar los principales sitios de asentamiento final de las larvas, con el fin de emplearlo como referencia para investigaciones posteriores enfocadas al estudio de esquemas de tratamiento y tener una idea clara de como monitorear su desplazamiento en los hospederos paraténicos y traspolar la información a los perros.

A los ratones se les inocularon un total de 26000 L3 de *Ancylostoma caninum* (500 larvas por ratón) de las cuáles se obtuvo una tasa de recuperación de 1.28% (334) respecto a la inoculadas. El porcentaje de larvas recuperadas fue muy bajo en comparación con los datos disponibles de otros nematodos parásitos como *Toxocara canis*, organismo que presenta una gran capacidad para establecerse en los roedores, migrar en sus cuerpos y mantenerse por períodos muy prolongados causando alteraciones al sistema nervioso que eventualmente ocasionan cambios de comportamiento a estos animales, lo que resulta favorable para la transmisión del parásito permitiendo cerrar el ciclo biológico del mismo, su patrón distributivo esta bien definido y esto permite dar un seguimiento con relativa facilidad si se le quiere estudiar con diferentes objetivos. Los resultados obtenidos muestran que los ratones presentan receptividad, aspecto que puede resultar relevante en condiciones naturales; ya que, se demostró en los roedores la persistencia de larvas vivas hasta cerca de los cinco meses después de la inoculación y la presencia de alteraciones de comportamiento que pueden favorecer la depredación y de esta manera facilitar la transmisión del parásito a los perros (esto puede ser relevante en medio rural), del mismo modo que ocurre con otros nematodos parásitos en esta especie, que pueden estar coexistiendo tanto en ubicación intestinal como extraintestinal.

Un aspecto que pudo influir en el porcentaje de larvas implantadas y recuperadas de los animales puede ser la vía de inoculación; ya que, si bien están descritas varias formas de ingreso de las fases infectantes (transplacentaria, lactogénica, oral y transcutánea) la información disponible indica que la más importante es la transcutánea y en este trabajo se empleó la oral, pudiendo resultar el ambiente intestinal muy hostil para la migración de las fases larvarias del nemátodo, impidiendo atravesar la pared intestinal y el desplazamiento posterior, resultando esto en la expulsión de los organismos.

De los resultados obtenidos en cuanto al patrón migratorio de las larvas, el primer órgano involucrado en la migración por la vía de inoculación empleada fue el hígado en el que se encontraron larvas los días 5 (0.24%), 10 (0.04%), 20 (0.20%), 30 (0.16%), 60 (0.04%) 90 (0.16%) y 120 (0.1%). Este órgano debiera ser considerado como un punto de paso durante el desplazamiento a zonas de asentamiento más estables, pero las evidencias observadas indican que las larvas desarrollan migraciones al azar que involucran reiteradamente este órgano. En el tejido pulmonar se encontraron larvas desde el día 5 (0.48%) y el día 20 (0.56%); coincidiendo esto con el patrón descrito por Bhopale y Johri (1978), quienes encontraron 5.8% de las larvas inoculadas a las 24 hrs. Mitra (1985), también describió recuperación de larvas de este órgano en el primer día post-inoculación y a partir del día 12 ya no detectó su presencia, en tanto que en este estudio el día 20 fue en el que se obtuvieron la mayor cantidad. El siguiente órgano en importancia fue el tejido cerebral que en el estudio de Vardhani y Johri (1981) no detectan la presencia de larvas en este órgano, en los animales de este estudio si fue detectada, aunque en cantidades reducidas (1.64 % al día 25) en relación con otros tejidos como el muscular (1.84%) que en el estudio de Bhopale y Johri (1978) detectaron que hasta el 45% de las larvas inoculadas estaban presentes en este tipo de tejido al día 9 post-inoculación. Tanto el posible daño cerebral como el muscular fueron evidenciados por la presencia de una marcada incoordinación y cierto nivel de aletargamiento en los últimos días del ensayo. La afinidad de las larvas de *Ancylostoma caninum* por el cerebro, puede ser similar al comportamiento que siguen otros nematodos que usan este tipo de tejido para aislarse de los diferentes mecanismos de la respuesta inmune montada por el hospedero; particularmente del tipo de respuesta inflamatoria que se desarrolla en esta área que regularmente es de baja intensidad y que puede hacerse eficiente cuando la infección se hace crónica, por contar con una respuesta primaria ligada a las células de la microglia, las cuales a diferencia de otras células no tienen la capacidad de regenerarse, por lo que este tejido resulta un lugar de fácil asentamiento para las larvas como las de *Toxocara canis* (González, 2006).

La alta recuperación de larvas del músculo sugiere que este tipo de tejido ofrece las mejores condiciones para sobrevivir, por lo menos por algún tiempo; ya que, de este órgano se tuvieron los valores más altos de recuperación coincidiendo con Bhopale y Johri (1978) y lo reportado por Mitra (1985).

Bhopale y Johri (1978), Vardhani y Johri (1981) y Mitra (1985) fueron incapaces de detectar la presencia de larvas en los riñones de los animales que infectaron; en tanto que, en este trabajo si se logró la recuperación de las mismas, aunque en cantidades muy pequeñas (0.20%) en relación a lo encontrado en otros órganos.

Entre los factores que pudieron influir en las bajas tasas de recuperación de larvas obtenidas en el presente trabajo, puede considerarse su nivel de sensibilidad al manejo, desde su cultivo hasta el proceso de digestión, en comparación con las de otros nemátodos como *Toxocara canis*, que presentan una gran resistencia, la cual ha sido demostrada en muchos estudios experimentales, donde se encuentran altas tasas de recuperación y esto podría estar relacionado con el tipo de fase infectante (larva tres activa) del nematodo *A. caninum*, que puede presentar un diferente nivel de resistencia a la acción del jugo gástrico artificial por las características de su tegumento, contra la composición del de otros, en los que se ha observado que se trata de un componente muy dinámico, por lo que este mismo procedimiento puede afectar su estabilidad y dañar a los organismos en los tejidos, modificar su estructura y reducir la posibilidad de detectarlas al microscopio.

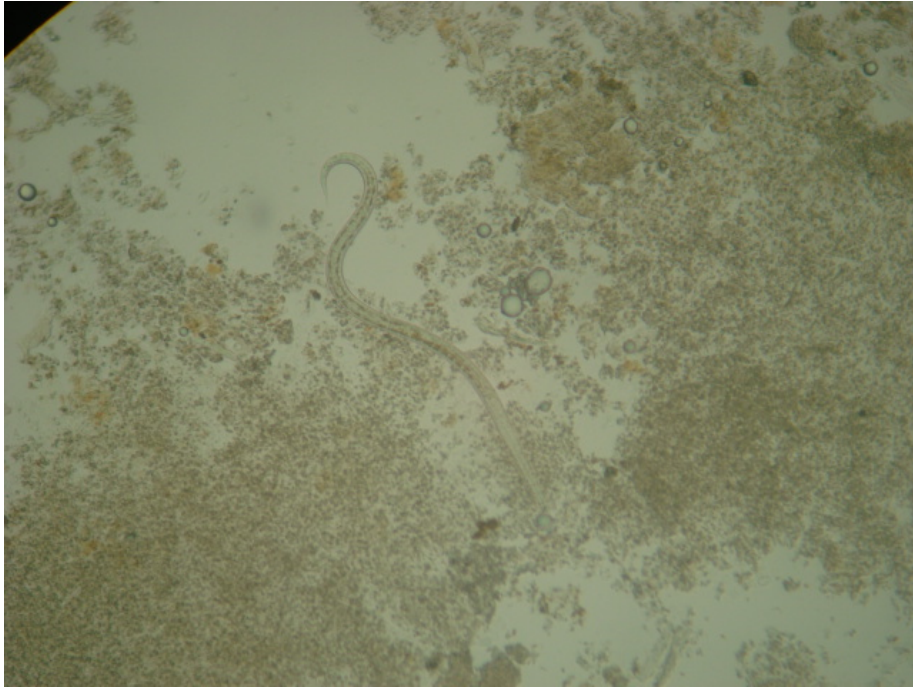
De lo expuesto anteriormente se puede deducir que las L3 de *Ancylostoma caninum*, siguen patrones migratorios muy variables en el cuerpo de los hospederos paraténicos, que la cantidad de larvas recuperadas fue muy reducida pero por el tiempo en el que se lograron detectar larvas en estos hospederos la depredación por parte del perro sí permite la transferencia de parásitos de los roedores a los perros, siendo esta una forma que facilite al parásito encontrar condiciones adecuadas para la continuación del ciclo. Esta migración al principio es similar a la observada en el hospedero definitivo, donde las larvas manifiestan una predilección por el tejido pulmonar, en el que encuentran condiciones adecuadas para migrar, pero en este caso no ocurre y los estados larvarios tienden a desplazarse a tejidos como el cerebral y el muscular en los que ocurre un enquistamiento que favorece la supervivencia de las larvas.

CONCLUSIONES.

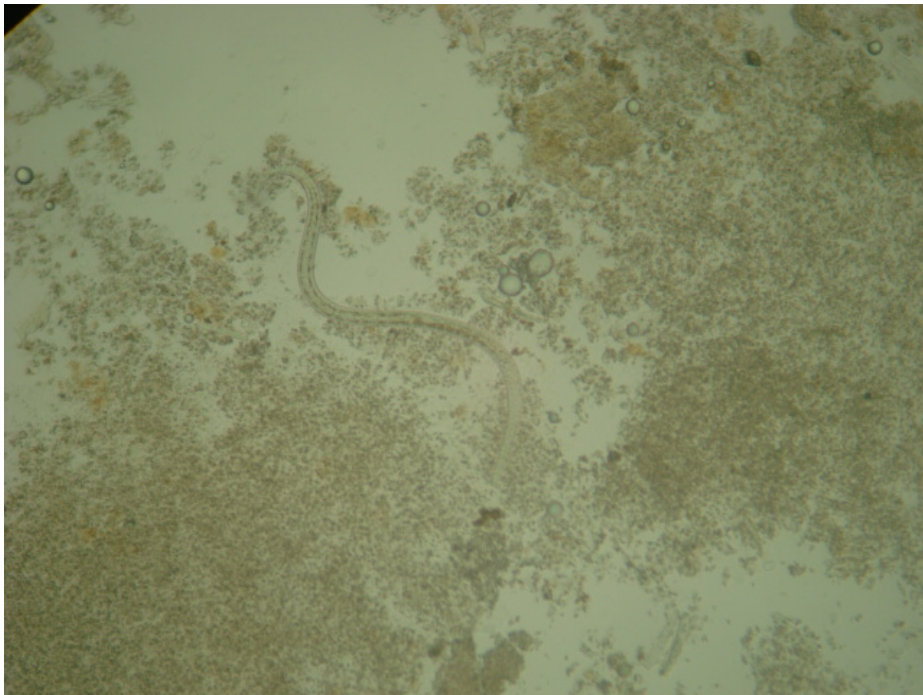
- ✧ En el modelo experimental empleado (ratones blancos cepa CD1), existe migración larvaria errática hacia los órganos analizados.
- ✧ Las larvas presenta inicialmente un comportamiento migratorio similar al observado en los perros adultos; sin embargo, muestra mayor preferencia por órganos como músculo y cerebro, donde encuentran condiciones favorables para su asentamiento.
- ✧ En el hospedero paraténico no se lleva a cabo la muda; sino que, por el contrario, se mantiene como L3, utilizando al ratón como reservorio para que en un momento dado, si existe depredación por parte del perro, esto facilite la continuidad del ciclo.
- ✧ El conocimiento del comportamiento migratorio de la L3 *Ancylostoma caninum* en un hospedero paraténico es de importancia, debido a que puede sugerir el hecho de que este mismo comportamiento se manifieste en el humano representando un problema de salud pública; ya que, este también es hospedero paraténico del parásito.
- ✧ Los resultados obtenidos sirven de referencia para el posterior estudio de esquemas de tratamiento contra las larvas *Ancylostoma caninum*, a partir del conocimiento de los lugares de asentamiento de estas en el hospedero.

ANEXO

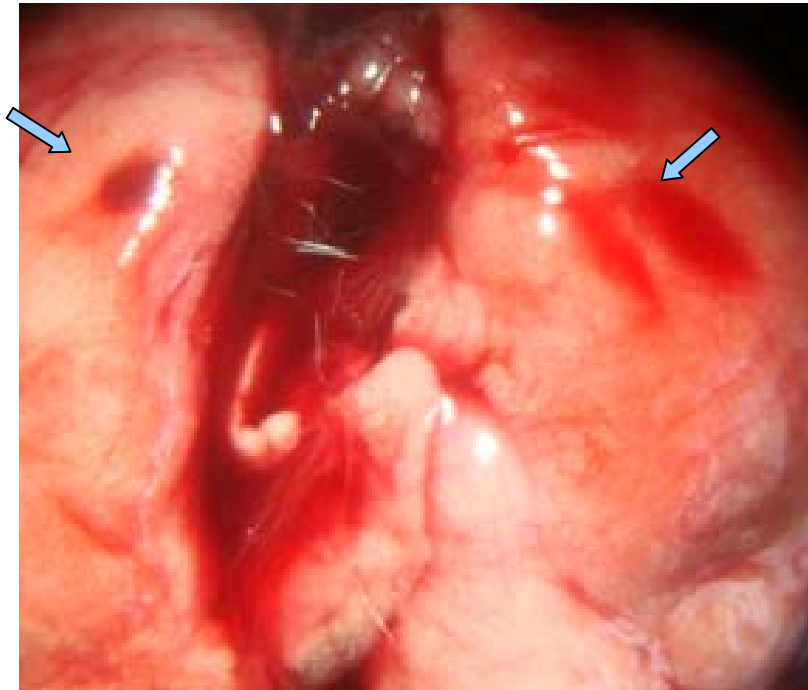
FOTOGRAFÍAS



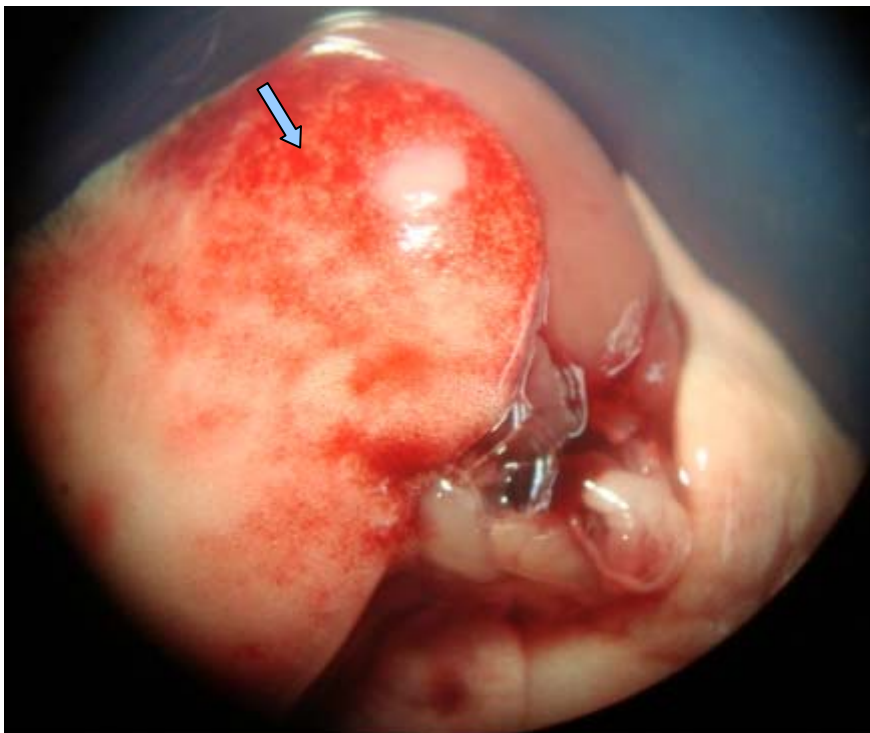
Fotografía 1.- Cultivo larvario de *Ancylostoma caninum*. Fotografía: Araceli Martín, 2009.



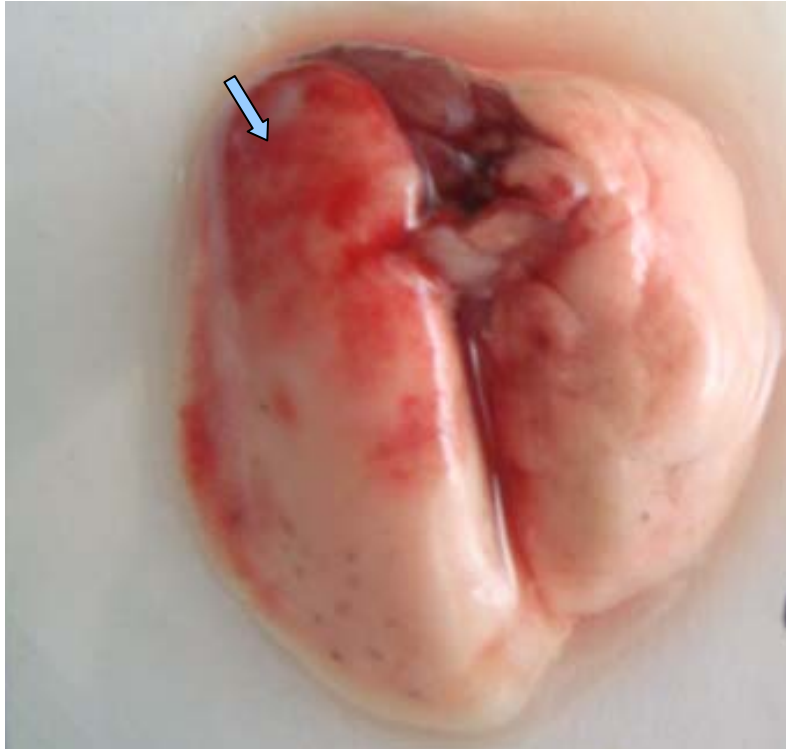
Fotografía 2.- Larvas L3 *Ancylostoma caninum* obtenidas a partir de cultivos larvários realizados en el laboratorio de parasitología FES Cuautitlan (UNAM) Fotografía: Araceli Martín, 2009.



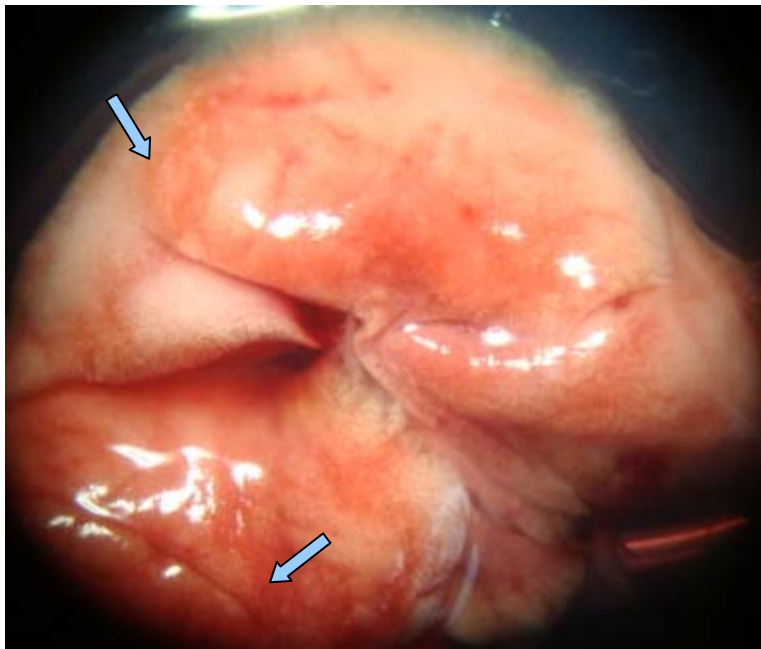
Fotografía 3.- Pulmones de ratón infectado con larvas de *Ancylostoma caninum* se observan zonas congestivas compatibles con hemorragias en varias zonas. Fotografía: Araceli Martín, 2009.



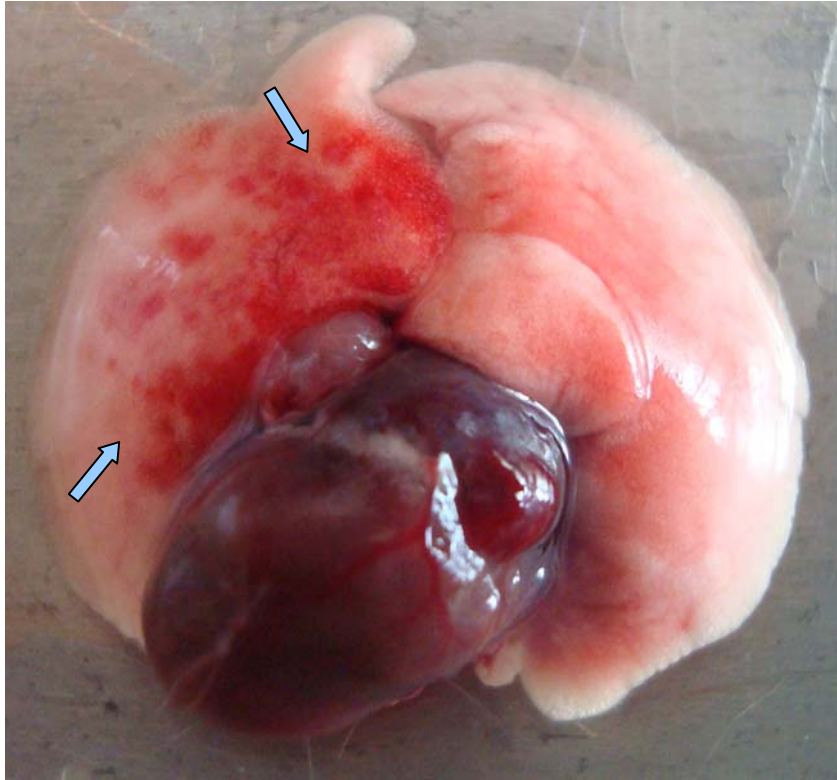
Fotografía 4.- Lesiones hemorrágicas características de la migración pulmonar de larvas de *A. caninum* en ratón. Fotografía: Rosario Posadas, 2009.



Fotografía 5.- Lesiones hemorrágicas características de la migración pulmonar de larvas de *A. caninum* en ratón. Fotografía: Rosario Posadas, 2009.



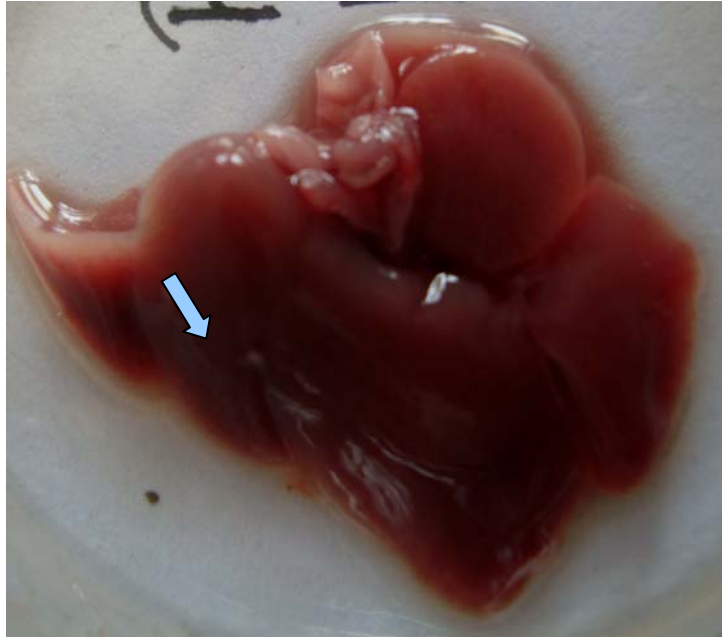
Fotografía 6.- Lesiones hemorrágicas características de la migración pulmonar de larvas de *A. caninum* en ratón. Fotografía: Araceli Martín, 2009.



Fotografía 7.- Lesiones hemorrágicas características de la migración pulmonar de larvas de *A.caninum* en ratón. Fotografía: Araceli Martín, 2009.



Fotografía 8.- Lesiones hemorrágicas características de la migración pulmonar de larvas de *A.caninum* en ratón. Fotografía: Rosario Posadas, 2009.



Fotografía 9.- Hígado de ratón infectado con larvas de *Ancylostoma caninum* se observan zonas blanquecinas compatibles con secuelas de la migración larvaria. Fotografía: Rosario Posadas, 2009.



Fotografía 10.- Riñón de ratón infectado con larvas de *Ancylostoma caninum* se observan zonas blanquecinas compatibles con secuelas de la migración larvaria. Fotografía: Araceli Martín, 2009.



Fotografía 11.- Larva de *A. caninum* obtenida del proceso de digestión del tejido muscular de ratón. Fotografía: Araceli Martín, 2009.



Fotografía 12.- Larva de *A. caninum* obtenida del proceso de digestión del tejido cerebral de ratón. Fotografía: Rosario Posadas, 2009.



Fotografía 13.- Larva de *A. caninum* obtenida del proceso de digestión del tejido cerebral de ratón
Fotografía: Araceli Martín, 2009.



Fotografía 14.- Larvas de *A. caninum* obtenidas del proceso de digestión del tejido cerebral
de ratón. Fotografía: Rosario Posadas, 2009.



Fotografía 15.- Larva de *A. caninum* obtenida del proceso de digestión del tejido muscular de ratón. Fotografía: Araceli Martín, 2009.

BIBLIOGRAFIA.

1. Anónimo, 2005, Hookworms, Boletín of The Center for Food Security and Public Health, Iowa State University, 1-6.
2. Arasu, P. and Heller, A.; 1999. Antibody responses in pregnancy-induced transmammary transmission of *Ancylostoma caninum* hookworm larvae. Vet. Immunol. and immunopathol. 70, 289-298.
3. Balbuena B.V.H y León A.L.E., Comparación de actividad antihelmíntica de siete productos comerciales contra los nematodos *Toxocara canis* y *Ancylostoma caninum* usando perros con infestación natural por medio de una prueba crítica, Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, (2004).
4. Bhopale, M.K., Johri G.N., 1975. Experimental Infection *Ancylostoma caninum* in mice II. Migration and distribution of larvae in tissues after oral infection. J. Helminthol. 49, 179-185.
5. Bhopale, M.K., Johri G.N., 1978. Experimental infection of *Ancylostoma caninum* in mice III. Distribution of larvae after repeated exposures of infection. J. Helminthol. 52, 193-198.
6. Bhopale, V.M., Kupprion, E.K., Ashton, F.T. and Boston, R. 2001. *Ancylostoma caninum*: The Finger Cell Neurons Mediate Thermotactic Behavior by Infective Larvae of the Dog Hookworm. Exp. Parasitol. 97, 70-76.
7. Birchard S.J y Sherding, G.R. 1996. Manual Clínico de Pequeñas Especies. Ed. McGraw-Hill Interamericana. México.
8. Bin Z., Hotez, P.J., Yan W. and Hawdon, J.M. 2002. A developmentally regulated metalloprotease secreted by host-stimulated *Ancylostoma caninum* third-stage infective larvae is a member of the astactin family of proteases. Mol. & Bioch. Parasitol., 120, 291-296.
9. Bistner, S.I., Ford, R.B. y Raffe, M.R. 2002. Manual de Terapéutica y Procedimientos de Urgencia en Pequeñas Especies. 7a ed. Ed. McGraw-Hill Interamericana; México.
10. Brinkworth R.I., Harrop S. A., Prociw P., Brindley P.J., 2000, Host specificity in blood feeding parasites: a defining contribution by haemoglobin-degrading enzymes?, Int. J. Parasitol., 30, 785-790.
11. Boag D. Bowman D. D., Montgomery S.P., Anne, Zajac M, Eberhard M. L., and Kazacos K. R., 2003, Hookworms of dogs and cats as agents of cutaneous larva migrans, TREPAPAR, 916, 1-6.
12. Booth N. H. 1998. Farmacología y Terapéutica Veterinaria Vol. II. Ed. Acribia. España
13. Boray, J.C., Sirono, M.B., Allison, J.R., Von Orelli, M., Sarasin, G. and Gheller, W. 1979. Nitroscanate a New Broad Spectrum Anthelmintic Against Nematodes and Cestodes of Dogs and Cats. Aust. Vet. J., 55.

14. Caumes Eric and Danis Martín, 2004, Reflection & Reaction (LARVA MIGRANS) From creeping eruption to hookworm-related cutaneous larva migrans, University Hospital Pitie-Salpêtrière, Paris, France.
15. Clark, J.N., Daurio, C.P., Barth, D.W. and Batty, A.F. 1991. Evaluation of a Beef-based Chewable Formulation of Pyrantel Pamoate Against Induced and Natural Infections of Hookworms and Ascarids in Dogs. *Vet. Parasitol.*, 40, 127-133.
16. Cordero del Campillo, M. 1999. *Parasitología Veterinaria*. Ed. McGraw-Hill Interamericana.
17. Del Valle, A.; Jones, B.F., Harrison, L.M., Chadderdon, R.C. and Cappello, M. 2003. Isolation and molecular cloning of a secreted hookworm platelet inhibitor from adult *Ancylostoma caninum*. *Mol. & Bioch. Parasitol.*, 129, 167-177.
18. Delaney A., Williamson A., Brand A., Ashcom J., Varghese G., Narsa G. G., Hawdon J.M., Cloning and characterization of an aspartyl protease inhibitor (AP-1) from *Ancylostoma* hookworms, *Int. J. Parasitol.*, 35, 303-313.
19. Dryden, M.W. and Ridley, R.K. 1999. Efficacy of fenbendazole granules and pyrantel pamoate suspension against *Toxocara canis* in greyhounds housed in contaminated runs. *Vet. Parasitol.* 4.
20. Foreyt, W.J. 1997. *Veterinary Parasitology Reference Manual*. 4a ed. USA.
21. Fox, E., Kassai, T. 1998. *Toxocara canis* infection in the paratenic host: a study on the chemosusceptibility of the somatic larvae in mice. *Vet. Parasitol.*, 74, 243-259.
22. Genchi, C., Traldi, G. and Manfredi, T. 1990. Field Trials of the Anthelmintic Efficacy of Nitroscanate and Mebendazole in Dogs. *Vet. Rec.*, 126, 77-80.
23. González G.T, 2006, Distribución anatómica de larvas somáticas de *Toxocara canis* en la musculatura y tejido cerebral de jerbos mongólicos y ratones blancos de la cepa CD-1, Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan, UNAM.
24. Granzer M., Wilfried H., Host-Finding and host recognition of infective *Ancylostoma caninum*, *Int. J. Parasitol.*, 21, 4,429-440.
25. Greiner, E.C., Brenner, D.G., Cox, D.D. and Heaton-Jones, D.L. 1992. Comparison of Febantel Tablets and Vercom™ Paste Against Gastrointestinal Nematodes of Dogs. *Vet. Parasitol.*, 41, 151-156.
26. Hawdon, J.M., Jones, B.F., Perregaux, M.A. and Hotez, P.J. 1995. *Ancylostoma caninum*: Metalloprotease Release Coincides with Activation of Infective in vitro. *Exp. Parasitol.* 80, 205-211.
27. Hendrix, C.M. 1998. *Diagnostic Veterinary Parasitology*. 2a ed. Ed. Mosby; USA.
28. Hoskins, D. 2001. *Veterinary Pediatrics Dogs and Cats From Birth to six Months*. 3a ed. Ed. Saunders Company.

29. Johnstone, C., Parasites and Parasitic Disease of Domestic Animals. University of Pennsylvania. 2000.
30. Kassai, T. 1999. Veterinary Helminthology. Ed. ButterWorth Heimemann. Hungary.
31. Kirk, B. 1994. Terapéutica Veterinaria de Pequeños Animales. Editorial Interamericana McGraw-Hill. España.
32. Köhler P., The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. Int. J. of Parasitol. 31. 336-345. 2003
33. León A. E., Martínez L.P., Balbuena B. V. Comparación de actividad antihelmíntica de siete productos comerciales contra los nematodos *Toxocara canis* y *Ancylostoma caninum* usando perros con infestación natural por medio de una prueba crítica, Revista AMMVEPE, Vol. 15, No.4, 143-146 (Julio-Agosto), (2004)
34. Macareno, G.T. 2001. Evaluación de la Eficacia de Ivermectina y Pamoato de Pirantel contra los nematodos gastrointestinales *Toxocara canis* y *Ancylostoma caninum* en caninos del Municipio de Cuautitlán, Estado de México. Tesis. Universidad Autónoma del Estado de México. Amecameca.
35. Maciel A.S., Araujo J.V., Campos A.K., Lopes E.A., Freitas G L., 2009. Predation of *Ancylostoma spp.* Dog larvae by nematophagous fungi in different conidial concentrations Vet. Parasitol. 161 239–247
36. Martínez, L.P., Reyes A.M., Arroyo C.O. 2000. Prueba crítica al Nitroscanate en su actividad contra los nemátodos intestinales *Toxocara canis* y *Ancylostoma caninum*. Rev AMMVEPE. 11(3), 102.
37. Mehlhorn, H.; Duwel, D. and Raether, W. 1994. Manual de Parasitología Veterinaria. Ed. Grass-latros;
38. Mieszcanek J., Harrison L.M., Vlasuk G.P., Capello M., (2004), Anticoagulant peptides from *Ancylostoma caninum* are immunologically distinct and localize to separate structures within the adult hookworm, Mol. Bioch. Parasitol., 133, 319-323.
39. Mitra S. and Sasmal N.K., 1985. Experimental Infection of Pups with *Ancylostoma caninum* infected mouse tissues Veterinary Parasitology, 18, 51-57.
40. Nolan, T.J., Hawdon, J.M., Longhofer, S.L., Daurio, C.P. and Schad, G.A. 1992. Efficacy of an Ivermectin/Pyrantel Granzer M., Wilfried H., Host-Finding and host recognition of infective *Ancylostoma caninum*, Int. J. Parasitol, 21, 4429-440.
41. Oliveira-Sequeira, T.C.G., Amarante, A.F.T., Ferrari. T.B. and Nunes, L.C. 2002. Prevalence of intestinal parasites in dogs from Sao Paulo State, Brazil. Vet. Parasitol. 103. 19-27.
42. Prociv P. and Croese J., 1996. Human enteric infection with *Ancylostoma caninum*: hookworms reappraised in the light of a "new" zoonosis , Acta Tropica 62, 23-44.

43. Quiroz, R.H. 1986. Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos. Ed. Limusa; México.
44. Rangel, M.J. 1991. Evaluación Comparativa de la Eficacia y Costos del uso de la Ivermectina y Levamisol Contra Nematodos Gastrointestinales en Canideos. Tesis. Universidad Nacional Autónoma de México. FES-Cuautitlán. Cuautitlán Izcalli. Estado de México.
45. Robertson, I.D., Irwin, P.J., Lymbery, A.J. and Thomson, R.C.A. 2000. The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. *International J. for Int. Parasitol.*, 30, 1369-1377.
46. Sloss, M.W., Kemp, R.L., Zajac, A.M. 1994. *Veterinary Clinical Parasitology*. 6a ed. USA.
47. Sumano, H. 1997. *Farmacología Veterinaria*. Ed. Mc Graw-Hill; México.
48. Soulsby E. 1986. *Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos*. Ed. Interamericana; México.
49. Steele, J.W., NRA Special Review of Macrocyclic lactones. Chemical Review Section. Canberra Australia. 1998. <http://www.nra.gov.au/chemrev/maclac.pdf>
50. Tenga A. D., Jones M.K., Smyth D., O'donahue, Hotez P., Loukas A., (2004), A pore-forming haemolysin from the hookworm, *Ancylostoma caninum*, *Int. J. Parasitol.*, 34, 1029-1035.
51. Urquhart, G.M., Armour, J. y Duncan, J.L. 2001. *Parasitología Veterinaria*. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
52. Vardhani, V.V. 2003. Eosinophil relationship in gut anaphylaxis during experimental ancylostomosis. *Vet. Parasitol.*, 115, 25-33.
53. Vardhani V.V., Johri G.N., 1981. The migratory behaviour and survival pattern of *Ancylostoma caninum* larvae in an adoptively immunised host. *J. Parasitol*, 11, 145-147.
54. Williamson A.L., Lecchi P., Turk B.E., Youngchool C.I., Hotez J.P., McKerrow J.H., Cantley .L.C., Mohammed S., Charles S. Craik, Lukas A., (2004), A multi-enzyme cascade of hemoglobin proteolysis in the intestine of blood-feeding hookworms, *J.Biol. Chem.*, 20; 279-286.