

2ej.
168



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

RUTA DE MIGRACION DE LA METACERCARIA DE
Paragonimus mexicanus MIYAZAKI E ISHII
1968 EN Rattus norvegicus

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

SUSANA ESPERANZA RAMIREZ LOPEZ

México, D. F.

Abril de 1986



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 está 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.

INDICE

	Pag.
I.- INTRODUCCION	1
1.1 ANTECEDENTES GENERALES DE LA PARAGONIMIASIS EN MEXICO	1
1.2 DISTRIBUCION DEL GENERO PARAGONIMUS	1
1.21 En América	1
1.22 Distribución de <u>P. mexicanus</u> en México	2
1.23 Distribución de Paragonimiasis humana en México	3
1.3 CICLO DE VIDA DE <u>P. mexicanus</u>	5
1.4 DESCRIPCION DE LA METACERCARIA DE <u>P. mexicanus</u>	6
1.5 ANTECEDENTES DE LA RUTA DE MIGRACION EN ALGUNAS ESPECIES DE <u>PARAGONIMUS</u>	9
1.6 ANTECEDENTES DE LA RUTA DE MIGRACION E <u>P. mexicanus</u>	10
II.- MATERIALES Y METODO	12
2.1 TRABAJO DE CAMPO	12
2.11 Obtención de metacercarias	12
2.12 Extracción de las metacercarias vivas	12
2.13 Conservación de las metacercarias	14
2.2 TRABAJO DE LABORATORIO	15
2.21 Obtención y mantenimiento de hospederos experimentales	15
2.22 Infección de hospederos experimentales	16
2.23 Técnica de tinción preneropsia	18
2.24 Necropsia	20
2.3 DISEÑO DE CADA UNA DE LAS ETAPAS DE INOCULACION EN EL EXPERIMENTO	21
2.31 Primera Etapa	21
2.32 Segunda Etapa	21
2.33 Tercera Etapa	22
2.34 Cuarta Etapa	22

	Pag.
2.4 CONSERVACION Y PROCESO DEL MATERIAL RECUPERADO	23
III.- R E S U L T A D O S .	26
3.1 TIEMPOS Y LOCALIZACION DE PARASITOS RECUPERADOS	26
3.2 CONFRONTACION DE RESULTADOS	31
3.3 RESULTADOS HISTOLOGICOS	31
3.4 LOCALIZACION DE LAS METACERCARIAS EN EL ESOFAGO	41
IV.- D I S C U S I O N G E N E R A L .	47
4.1 RATAS BLANCAS COMO HOSPEDEROS DEFINITIVOS	47
4.2 EL METODO MAS ADECUADO DE INFECTAR A LAS RATAS CON METACERCARIAS DE PARAGONIMUS	48
4.3 CONSECUENCIAS DEL USO DE LA SONDA	50
4.4 LA TECNICA DE AZUL DE EVANS Y EL USO DE LA PIPETA	51
4.5 DOS SUCEOS INESPERADOS PERMITIERON ENCONTRAR METACERCARIAS EN TEJIDO	53
4.6 EL PRIMER PUNTO DE PENETRACION DETERMINA LA RUTA QUE HA DE SEGUIR EL PARASITO	54
4.7 RUTA QUE HIPOTETICAMENTE SUGIEREN LOS RESULTADOS DE ESTE EXPERIMENTO	57
4.8 <u>P. mexicanus</u> TIENE LA POSIBILIDAD DE PENETRAR A TEJIDO DESDE ESOFAGO	58
4.9 PARAMETROS USADOS EN EL EXPERIMENTO Y SUS CONSECUENCIAS	59
V.- C O N C L U S I O N E S	60
5.1 SE PUEDE PROPONER LO SIGUIENTE	61
5.2 DESDE EL PUNTO DE VISTA BIOLOGICO	63
5.3 DESDE EL PUNTO DE VISTA MEDICO	64
VI.- B I B L I O G R A F I A	66

RUTA DE MIGRACION DE LA METACERCARIA DE Paragonimus
mexicanus MIYAZAKI E ISHII 1968 EN Rattus norvegicus

I.- I N T R O D U C C I O N .

1.1 ANTECEDENTES GENERALES DE LA PARAGONIMIASIS EN MEXICO.

En México se habló por primera vez de la Paragonimiasis en el año de 1895, cuando el Dr. Toussaint comunicó en una sesión de la Academia de Medicina, un caso de parasitismo en pulmón, encontrando accidentalmente en el cadáver de un paciente; no fué sino hasta 1913 cuando se habló nuevamente de la Paragonimiasis con dos casos que presentó el Dr. Lara de Yucatán ante la Sociedad Médica de Yucatán y a pesar de la declaración posterior de Sandground (1933), que consideró errónea la identificación de éstos casos autóctonos de Yucatán; éstos fueron los únicos datos registrados hasta 1961, cuando los Dres. Martínez Báez y Jiménez Galán encontraron huevos de una especie de Paragonimus en el pulmón de un paciente procedente de Taretan, Michoacán. En 1965 Mazzoti y Miyazaki encontraron adultos de Paragonimus en Tlacuaches Didelphis marsupialis capturados en Colima, y aunque en un principio se consideraron como P. kellicoti y P. rudis en 1968 Miyazaki e Ishii los describieron como Paragonimus mexicanus.

1.2 DISTRIBUCION DEL GENERO PARAGONIMUS

1.2.1 En América:

Brenes (1980) menciona la existencia de siete especies de Paragonimus en el Continente Americano: P. rudis Diesing 1850, localizada en el Brasil; P. kellicoti Ward 1908, en Canadá y Estados Unidos de Norte América; P. caliensis Little 1968, en Colombia, aunque se conocen registros de ésta especie en Panamá, Costa Rica y Perú; P. mexicanus Miyazaki e Ishii 1968, en Colombia y México; P.

peruvianus Miyazaki, Ibáñez y Miranda 1969, en Cajamarca, Perú; P. amazonicus Miyazaki, Grados y Uyema 1973, en Perú; y P. inca Miyazaki, Grados y Uyema 1975, también en Perú, así como P. ecuatoriensis Voelker y Arzube 1979.

Los otros casos registrados corresponden a Paragonimiasis humana autóctonos en América y son los siguientes: En México por Martínez Báez y Jiménez Galán en 1961; en Honduras por Larch 1966; en el Salvador por F. Platero (com. pers. a Brenes); en Costa Rica por Morena 1968 y Brenes et al., 1976; en Ecuador por Montalbán 1968; en Perú por Miranda et al., 1967, Miyazaki et al., 1972 a Ibáñez et al., 1974. De éstas especies que se han mencionado anteriormente, P. rudis es considerada una especie inquirenda (de acuerdo a los datos que se mencionan en el estudio de Brenes 1980), por otra parte se ha propuesto que P. peruvianus y P. ecuatoriensis son sinónimos de P. mexicanus, según cita Miyazaki et. al., en 1985 propone la necesidad de más estudios para aclarar la posición taxonómica de P. peruvianus, P. caliensis y P. ecuatoriensis ya que no existen trabajos sobre la morfología de la cercaria en cada uno de ellos, para poder ser comparados con los estudios realizados por él (1985) sobre la morfología de la cercaria de P. mexicanus, la cual podría servir de base para una comparación entre éstas especies a nivel de cercaria y dejar mejor aclarada la posición taxonómica de cada una de las especies antes mencionadas.

1.22 Distribución de P. mexicanus en México:

Los datos más recientes que se conocen sobre Paragonimiasis en

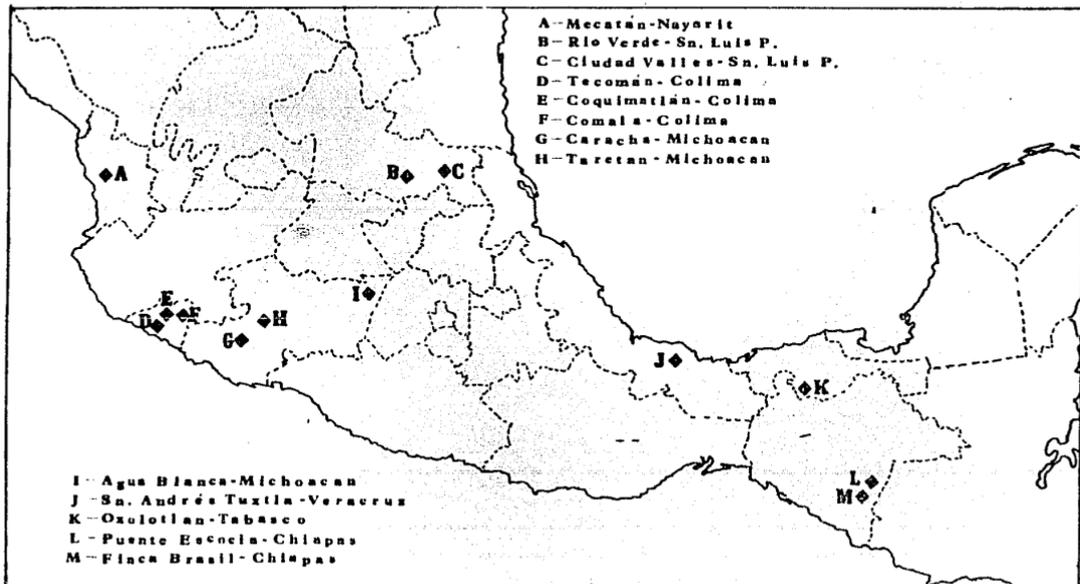
México, muestran una distribución geográfica de P. mexicanus más marcada en la vertiente del Pacífico, debido a la zona endémica que se localiza en Colima (Lamothe 1977 y 1982) y continuando hacia Michoacan (Agua Blanca, Caracha y Taretan; Lamothe 1982); por un dato más reciente se sabe que por la misma vertiente se extiende al norte por Nayarit (Mecatan, com. pers. de R. Lamothe). Un poco más retirado de la zona endémica, hacia el sur se localiza también en la región de Chiapas (Finca Brasil y Puente Escocia, com. pers. del mismo autor.); por la vertiente del Golfo, aunque menos marcada, localizamos ésta especie desde Tabasco (Oxolotlán, com. pers. de Lamothe) hasta Veracruz (en la región de los Tuxtlas, Lamothe 1982). Un dato más aislado, lo encontramos al norte de la República, en San Luis Potosí (Macías 1969); Mapa #1.

1.23 Distribución de Paragonimiasis humana en México:

El primer Estado donde se localizó Paragonimiasis humana fué Yucatán, aunque como ya se dijo Sandground lo consideró error de identificación; posteriormente, se localizaron datos en Michoacan, en el poblado de Taretan, pero los casos más recientes son los de San Luis Potosí, y aunque no se han encontrado fases larvarias en sus correspondientes hospederos intermediarios, algunos pacientes eran autoctonos del lugar (Valles y Río Verde, Mapa # 1). Macías (1969) sugiere la posibilidad de que haya otros casos más, no descubiertos hasta ahora.

Dentro del género Paragonimus existen especies que son consideradas como problema de salud pública en Asia y Africa principalmente, sin embargo P. mexicanus que parasita al hombre en Latino América, no es

MAPA # 1



considerada un problema de éste tipo hasta ahora en México, debido a la falta de registros suficientes para considerarla así. Pero no puede descartarse la posibilidad de que existan más casos de Paragonimiasis humana aún desconocidos por falta de estudios, los cuales no se han realizado en éste país porque el hospedero intermediario que infecta a los mamíferos, no forma parte de los hábitos alimenticios comunes de la población, como sucede en el caso de Africa y Asia; sin embargo si se llegaron a profundizar los estudios sobre ésta parasitosis, existe la posibilidad de encontrar un mayor número de casos de Paragonimiasis, que debido a la sintomatología que presenta ésta enfermedad, puede ser confundida con Tuberculosis pulmonar a la que es muy parecida, y la falta de conocimiento por parte de los Médicos Generales ante la existencia de ésta parasitosis puede ocasionar la confusión, colocando posibles casos de Paragonimiasis, dentro de cuadros clínicos como Tuberculosis pulmonar sin respuesta a tratamiento Antifímico.

1.3 CICLO DE VIDA DE P. mexicanus.

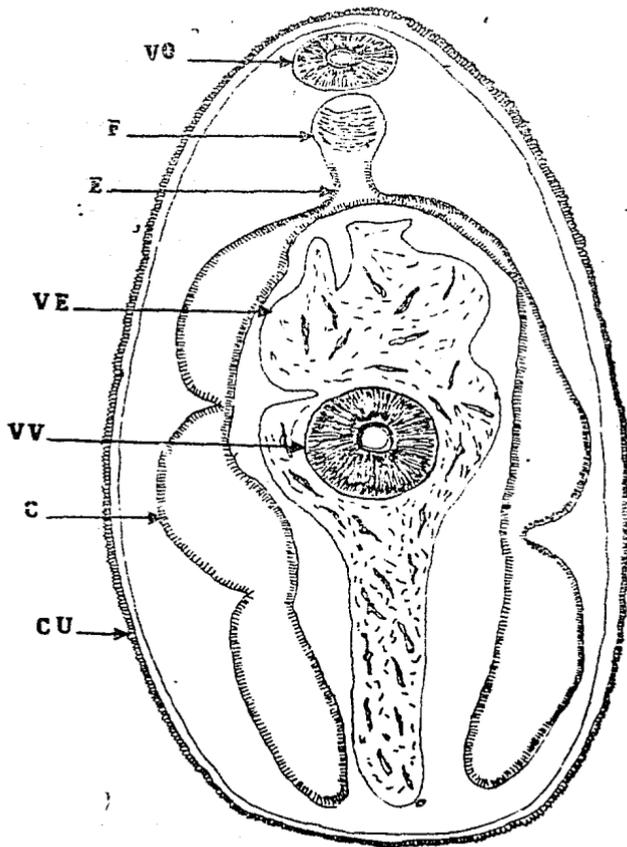
P. mexicanus, es un tremátodo parásito de pulmones en algunos mamíferos incluyendo al hombre, pertenece a la familia Paragonimidae. Este parásito presenta un ciclo de vida complejo como el de la mayoría de los organismos del grupo al que pertenece; en estado adulto, P. mexicanus, se localiza en los pulmones de mamíferos, encapsulado en pseudoquistes y generalmente en cada uno de éstos se presentan dos adultos cuya forma es alargada, fusiforme, con el extremo anterior ligeramente más angosto que el posterior, éste parásito puede expulsar los huevos ya embrionados y éstos quedan en

bronquios o bronquiolos, de tal manera que pueden ser expectorados o bien, son deglutidos y aparecen en las heces; si éstas caen al agua, de cada huevo nace un miracidio, el cual es ciliado y nada libremente en busca del primer hospedero intermediario, que en éste caso se trata de un caracol, Arca pyrgus alleei (Morrison 1946) en Colima, dentro de éste primer hospedero intermediario, se forma el esporocisto, dentro del cual a su vez se forma la primera generación de redias, que se desarrollan en redias hijas y éstas en cercarias del tipo microcercocercarias, éstas, salen del caracol y penetran en el segundo hospedero intermediario el cual es un cangrejo, Pseudothelphusa (P) dilatata (Rathbun) en el caso de Colima México, dónde se transforman en metacercarias, las cuales carecen de cubierta quística, éstas se localizan en los divertículos de la glándula digestiva y músculos de las quelas del cangrejo; cuando éste crustáceo es comido por un mamífero, la metacercaria llega al aparato digestivo del hospedero definitivo y tendrá que pasar al aparato respiratorio del mismo siguiendo una trayectoria que se supone hasta ahora, que es atravesando por la parte inferior del estómago o principios del intestino, hacia cavidad abdominal, pasando por hígado y dirigiéndose a cavidad pleural para lo cual tendrá que atravesar diafragma y así llegar a los pulmones dónde se establece, hasta alcanzar su estado adulto y reiniciar el ciclo (Tantalean 1974 y Lamothe 1983).

1.4 DESCRIPCION DE LA METACERCARIA DE P. mexicanus.

En 1979, Lamothe describió la metacercaria de ésta especie (Fig. "a"), observando que en vivo presenta una gran actividad, que carece

Fig. "a" Esquema de la metacercaria de P. mexicanus.
En este esquema se puede observar la ventosa oral (VO),
la faringe (F), el esófago (E), vesícula excretora (VE), la
ventosa ventral o acetábulo (VV), los ciegos (C), y la
cutícula escamosa (CU).



de cubierta quística, y que se desplaza por contracciones del cuerpo y con la ayuda de sus ventosas; en su morfología externa se puede observar que su cuerpo es oval y aplanado dorsoventralmente, presenta una cutícula gruesa espinosa y las espinas cuticulares con muy numerosas; la ventosa oral es subterminal y más pequeña que el acetábulo, en metacercarias pequeñas se puede llegar a observar el estilote que es de forma alargada terminando en punta fina y se encuentra en el borde dorsal de la ventosa oral; el acetábulo se encuentra en posición ecuatorial, es casi circular y se observa a simple vista.

En cuanto a su morfología interna, éste autor describió el aparato digestivo representado primeramente por una boca que se abre en el centro de la ventosa oral y a la que le sigue una faringe musculosa, ésta se continúa por un esófago pequeño; la bifurcación cecal tiene lugar a una distancia del extremo anterior del cuerpo que varía de 0,146 a 0,206 mm.; los ciegos son sinuosos y muy delgados, en la región preacetabular, pero se ensanchan en la porción postacetabular y terminan muy cerca del extremo posterior del cuerpo; la vesícula excretora, es tubular, no ramificada y ocupa gran parte del espacio intercecal, desde la bifurcación cecal, hasta el extremo posterior del cuerpo, donde termina el poro excretor, el cual está situado sobre la línea media del cuerpo, subterminalmente en el lado dorsal, la vesícula excretora en vivo cambia constantemente de forma debido a los movimientos de la metacercaria.

En éste nivel de desarrollo, no se observan en la larva los órganos reproductores.

1.5 ANTECEDENTES DE LA RUTA DE MIGRACION EN ALGUNAS ESPECIES DE PARAGONIMUS.

La ruta que sigue la metacercaria dentro del hospedero definitivo se ha estudiado en varias especies de Paragonimus, como por ejemplo P. ohirai y P. miyazakii por Hashiguchi 1972 y P. kellicotti por Hoover 1978.

Puede generalizarse que la larva entra al hospedero definitivo por vía digestiva, y que finalmente se establece en los pulmones, de tal manera que el paso hacia éstos es atravesando los tejidos (larva-migrans). El tiempo que tarda en llegar a los pulmones y el sitio de penetración a través del aparato digestivo es diferente en cada una de las especies. En los experimentos realizados por Hashiguchi 1972 con metacercarias de P. miyazakii y P. ohirai administradas a ratas blancas de laboratorio, se pudo observar a la larva en la cavidad pleural, hígado y cavidad abdominal, en el pulmón se encontraron tanto larvas como adultos. Cabe mencionar que en éste experimento las metacercarias fueron introducidas directamente a la cavidad pleural. En el caso de P. kellicotti los estudios de Hoover 1978 se concretaron a los daños causados por la larva y el adulto en la cavidad pleural y los pulmones, de gatos que fueron infectados con metacercarias de ésta especie.

Otra de las especies más estudiadas con respecto a la ruta de migración de la metacercaria, ha sido P. westermanni, se sabe que la metacercaria se desenquistó en la parte superior o media del intestino delgado, penetra a pared intestinal a éste nivel, pasa a cavidad abdominal, emigra hacia el diafragma, o atraviesa y pasa a

la cavidad pleural, y finalmente llega a los pulmones (Yokogawa 1962); un dato importante de éste experimento: a los 30 min. se encuentra la larva en la cavidad abdominal y a la hora en la pared del abd6men penetrando a ésta cavidad por la parte superior del intestino. En algunos de los experimentos antes mencionados, se ha podido detectar el sitio por d6nde atraviesa la larva, en otros solo se sugiere dependiendo de los sitios d6nde se encontr6 durante las disecciones. En general existe cierta similitud en las rutas que siguen las larvas de las diferentes especies de Paragonimus, aunque con sus peque1as diferencias.

1.6 ANTECEDENTES DE LA RUTA DE MIGRACION EN P. mexicanus.

Con respecto a P. mexicanus los trabajos realizados se reducen a uno. Solo Tantalean en 1974, trabaj6 con P. peruvianus (considerando por ahora la sinonimia de P. peruvianus con P. mexicanus.), administr6 metacercarias por v1a oral, en cuatro ratas y tres gatos; los resultados que obtuvo en las ratas, demostraron que éstas metacercarias penetran en el tejido del hospedero a nivel del est6mago y de ah1 pasan a la cavidad abdominal para seguir su trayectoria hacia los pulmones, de tal manera que éstos datos le hicieron suponer que P. peruvianus penetra a los tejidos en una regi6n anterior, o sea un poco m1s arriba a la que se localiza en la penetraci6n de P. westermanni, probablemente, debido a la carencia de la cubierta quística en P. peruvianus; adem1s se ha observado que la metacercaria de ésta especie, presenta un alto grado de infectividad y que es altamente resistente, a1n sin cubierta quística. Para poder realizar estudios epidemiol6gicos en M1xico que pudieran

disipar la duda que existe sobre la intensidad de ésta parasitosis en nuestro país, es necesario conocer el ciclo de vida de P. mexicanus con todo detalle y con especial interés, el comportamiento del parásito dentro del hospedero final, ya que podría ser detectado en el caso de que el hospedero final fuera el hombre. Es por éste motivo que el objetivo principal de ésta tesis, consiste en localizar los sitios por dónde penetra y mueve la metacercaria dentro del hospedero final, así como el tiempo aproximado en el que los realiza.

II.- MATERIALES Y METODOS.

2.1 TRABAJO DE CAMPO.

2.1.1 Obtención de metacercarias:

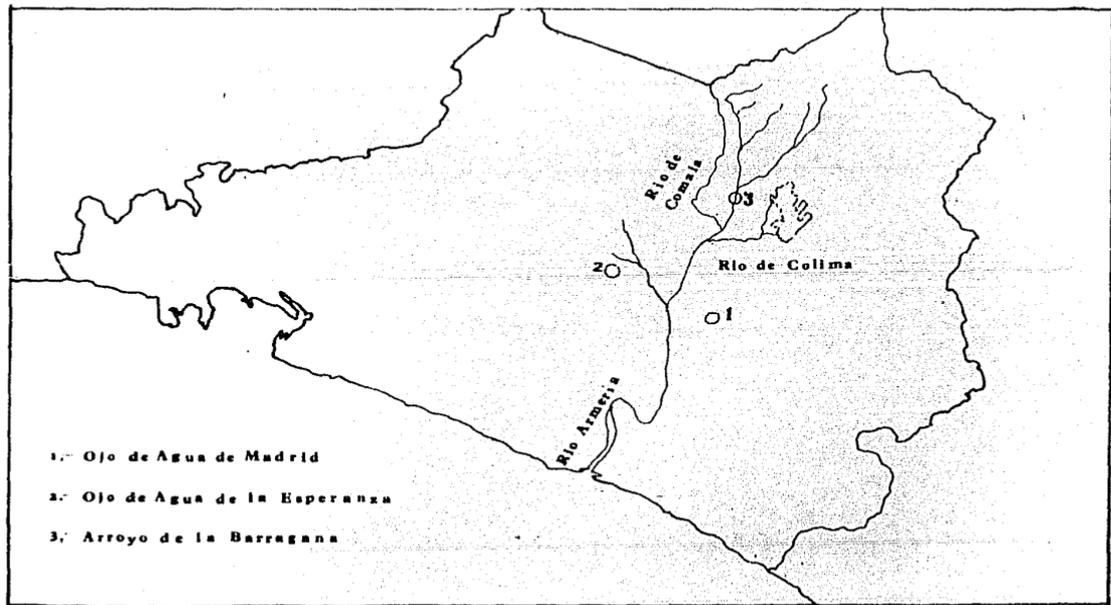
Las metacercarias utilizadas para las inoculaciones, fueron obtenidas de cangrejos Pseudotelephusa (P.) dilatata (Rathbun) que se encuentra en riachuelos y manantiales del estado de Colima, lugar del que ya se tenían referencias como zona endémica de paragonimiasis en tlacuaches de la misma localidad (Mazzotti y Miyazaki, 1965; más recientemente Lamothe 1978, Miyazaki et al., 1980 y Lamothe et al., 1983). Las zonas de colecta en el estado de Colima fueron: Ojo de Agua de Madrid, Ojo de Agua de la Esperanza y Arroyo de la Barragana, en los municipios de Tecomán, Coquimatlán y Comala respectivamente (Mapa #2).

El número de cangrejos recolectado fué variable, dependiendo de la zona y época en las que se realizaron las salidas de campo. Los cangrejos fueron colectados a mano encontrándolos en lugares sombreados generalmente, bajo rocas o bien en pequeños pozos de agua dónde la corriente es más lenta. Los cangrejos colectados se depositan en cubetas con esponjas húmedas, con el fin de conservarlos frescos y vivos hasta el momento de su disección.

2.1.2 Extracción de las metacercarias vivas:

En todas las colectas se encontraron cangrejas tanto hembras como machos en número variable, por lo que una vez que eran medidos y sexados se procedía a sacrificarlos separando el

MAPA 2



caparazón del abdómen, con la ayuda de unas pinzas y una aguja de disección, de ésta manera se extrajo la glándula digestiva y músculo de las quelas, los cuales se colocaron entre dos placas de vidrio de 12 por 8 cm., se presionaron levemente y de éste modo se examinaron al microscopio de disección a través del cual se observaron (gracias a la gran movilidad que presentan y en algunos casos a la presencia de pequeñas granulaciones rojo-anaranjado que se observan en el interior de la metacercaria), pero sin el movimiento hubiese sido más difícil localizar las metacercarias entre la masa glandular o de los músculos.

2.13 Conservación de las metacercarias:

En los casos en los que se encontraron metacercarias, se separaban las placas y se agregaba solución Ringer para extraer las larvas con la ayuda de una pipeta Pasteur. Todas las metacercarias recolectadas eran puestas en cajas de Petri con solución Ringer, para posteriormente ser lavadas y colocadas en frascos etiquetados que contenían solución Ringer glucosada, éstos fueron colocados dentro de un termo que contenía hielo, para poder conservar una temperatura de 4°C aproximadamente (a la cual las metacercarias se mantienen vivas aunque inactivas), en éstas condiciones eran transportadas al laboratorio. Al poner las metacercarias a la temperatura ambiente nuevamente, pasan de su estado de latencia, a un estado activo normal, en el cual pueden ser utilizadas para las infecciones; mientras llegaba el tiempo de hacerlas, las metacercarias debían ser cambiadas diariamente de Ringer,

de preferencia glucosado, ya que se ha observado que de no llevarse a cabo éste procedimiento las metacercarias mueren más rápido de lo esperado, mientras que cambiando la solución Ringer y manteniéndola siempre a 4°C, duran hasta veintiun días vivas y recuperan fácilmente su actividad para ser utilizadas en las infecciones de los hospederos experimentales.

La fórmula del Ringer glucosado que se utilizó fué la siguiente:

Cloruro de sodio.....	8.00 gm.
Bicarbonato de sodio.....	0.02 gm.
Cloruro de potasio.....	0.02 gm.
Cloruro de calcio (anhídrico).....	0.02 gm.
Dextrosa.....	1.00 gm.
Agua destilada.....	1000.00 ml.

2.2 TRABAJO DE LABORATORIO.

2.2.1 Obtención y mantenimiento de hospederos experimentales:

- a) Los animales que se utilizaron como hospederos definitivos fueron en un primer intento del experimento, "Hamsters Golden" Mesocricetus auratus de 200 a 300 gr. de peso aproximadamente, fueron obtenidos de un bioterio y se mantuvieron en otro durante el lapso de infección, en condiciones estériles, y con poco alimento, se encontraban marcados en las orejas para su identificación y se colocaron juntos en la misma jaula; la falta de jaulas y mejor conocimiento sobre la manipulación de éstos roedores para mantenerlos en el laboratorio, fué la causa que motivó el cambio de hospedero definitivo para éste experimento.

b) Los animales que se utilizaron como hospederos definitivos para obtener los resultados de éste segundo intento de experimento fueron ratas blancas cepa "Wistar" (Rattus norvegicus), de 100 a 150 grs. de peso aproximadamente, la mayoría de las ratas fueron hembras y se procuró usarlas de la misma camada o camadas similares en peso y edad, no menores de 2 meses por lo general. Las ratas se encontraban en un bioterio en condiciones estériles, lugar dónde permanecieron durante el tiempo que duró la infección, bajo la vigilancia de un veterinario y con una dieta de agua y alimento concentrado tipo purina, que se encontraba esterilizada para evitar cualquier otra parasitosis que pudiera interferir en los resultados; además se les proporcionó temperatura adecuada y constante (25^o- 27^oC). Durante las inoculaciones las ratas fueron separadas en lotes de no más de seis individuos por jaula, y en los casos en que se trató de algún macho, se mantuvo separado de las hembras para evitar cruza.

2.22 Infección de hospederos experimentales:

Las ratas fueron infectadas de dos formas diferentes, una de ellas fué usando una sonda de Calvin, en éstos casos, la rata era semianestesiada con éter, para poder introducirle el tubo a través de la boca, ésto debía hacerse con el máximo de cuidado posible, ya que si el tubo de plástico se atoraba o se forzaba para introducirlo, la rata podía ser dañada y posteriormente podía incluso morir debido a lesiones hechas

durante la introducción del artefacto, o bien podía aparecer alguna hemorragia interna. Las metacercarias se conservaron en el Ringer glucosado y posteriormente recuperaron su vitalidad fueron introducidas en la sonda por medio de una pipeta Pasteur en uno de los extremos de la misma, cuando el otro extremo se encontraba ya en el interior del tracto digestivo de la rata; se agregaba un poco más de Ringer para dejar correr las metacercarias a través del tubo y posteriormente era extraída la sonda de la rata, permitiendo que ésta recobrara por sí misma el conocimiento.

La otra forma de infectar a los hospederos experimentales, fué usando únicamente la pipeta Pasteur, llevando con ésta las metacercarias en Ringer glucosado a la cavidad bucal de la rata directamente, éste método se llegó a utilizar sin anestesiar a la rata, pero para mayor seguridad, la rata era semiadormecida con éter en la mayoría de los casos, dejando caer lentamente y gota a gota la solución Ringer que contenía las metacercarias, sobre la cavidad bucal de la misma, esperando que la rata fuera deglutiendo la solución. Por otra parte se observó que si se dejaba varias horas a la rata sin beber agua, en el momento de la infección, a pesar de estar semiadormecida, bebía con facilidad la solución Ringer con las metacercarias. Por éste último método se infectaron los lotes de ratas de la segunda, tercera y cuarta etapa del experimento, aunque el retiro de agua y alimento total de los hospederos solo se llevó a cabo en parte de la tercera etapa y en toda la cuarta etapa.

El primer método de infección explicado anteriormente (la sonda), sólo se utilizó en el lote de ratas de la primera etapa de éste experimento.

2.23 Técnica de tinción preneropsia:

Una vez pasado el período de infección correspondiente para cada una de las ratas, se practicaba la necropsia con el fin de localizar las metacercarias.

Para facilitar la búsqueda, se empleó la técnica de Azul de Evans, la cual fué diseñada por Lewert y col. (1954), y consiste en inyectar de 10 a 15 ml. de Azul de Evans al 3% por cada kilogramo de peso del hospedero por vía intravenosa 15 min. antes de sacrificarlo; ésta técnica ayuda a detectar puntos hemorrágicos del tubo digestivo u otros órganos, que pueden servir de guía en la búsqueda de las metacercarias y ayudarnos a localizar la ruta de migración.

El Azul de Evans se inyectó por la yugular o la aorta abdominal (figs. "b" y "c") con aguja hipodérmica para insulina; fué necesario hacer una abertura a nivel de cualquiera de los dos conductos sanguíneos para localizarlos libremente, limpiando completamente el conducto del tejido que lo rodea se introducía la aguja hipodérmica, dejando entrar lentamente el colorante hasta la última gota y se mantenía sin sacarla del conducto sanguíneo, ya que de lo contrario se podía producir una hemorragia, que le causaría la muerte a la rata, evitando así que transcurrieran los 15 min. necesarios para que el colorante corriera a través de todo el aparato circulatorio de la rata.

Fig. "b"
 ABERTURA A
 NIVEL YUGULAR

▲ Punto de inoculación
 del colorante

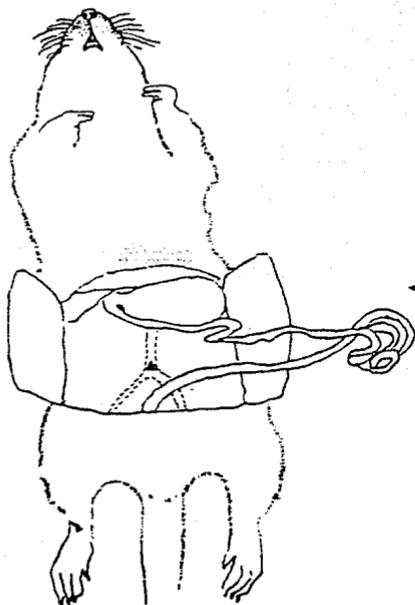


Fig. "c"
 ABERTURA
 A NIVEL ABDOMINAL

▲ Punto de inoculación
 del colorante



Para realizar ésta técnica era necesario anestesiar al hospedero para lo que se utilizaba éter en forma más común o en su defecto Anestésal, ya que además de tener que hacer una incisión para localizar cualquiera de los conductos sanguíneos, también fue necesario en el caso de la aorta abdominal extraer las vísceras del abdómen y mantenerlas en solución Ringer tibia durante los 15 min. que dura la técnica, regándolas en la misma solución constantemente.

2.24 Necropsia:

En el caso de las ratas, una vez que transcurrían los 15 min. de la técnica de Azul de Evans y la rata se observaba azulosa, se procedía al sacrificio por medio de una sobredosis de éter. Durante la necropsia se extrajeron todos los órganos, separando cada uno de ellos en cajas de Petri con solución Ringer; se revisaron al microscopio estereoscópico, esófago y tráquea entre dos placas de cristal de 12 x 8 cms. tanto por el lado externo como interno de cada uno de los órganos, de la misma manera se procedió con el estómago y los intestinos, sólo que además, en éstos se hace un lavado para revisar el contenido por medio de técnicas de sedimentación. Los pulmones y el resto de las vísceras se revisaron en su parte externa y posteriormente se desgarraron, tratando de no destruir algún parásito en el caso de que se encontrara, ya desgarrados también se revisaron entre dos placas de vidrio y al resto de la cavidad del cuerpo se le hizo un lavado con solución Ringer, el cual se observó minuciosamente al microscopio, así como la

solución Ringer de cada una de las cajas dónde se depositaron los diferentes órganos durante la necropsia.

2.3 DISEÑO DE CADA UNA DE LAS ETAPAS DE INOCULACION EN EL EXPERIMENTO.

2.31 Primera Etapa:

El diseño experimental, que corresponde a ésta primera etapa, contiene catorce tiempos diferentes de sacrificio (tabla #1), que fué hecha con base a los resultados obtenidos por algunos investigadores como Yokogawa (1962) y Tantalean (1974), en investigaciones sobre la ruta de migración de la metacercaria de P. westermani y P. mexicanus respectivamente, los tiempos de sacrificio van desde 1.30 hrs. post-infección, hasta 143 días, el número de metacercarias infectadas a cada rata fué variable (rango de 6 - 20), ésto dependía del número de metacercarias con las que se contaba en total al principiar las infecciones de éste primer lote de hospederos experimentales (para completar cada una de las etapas se requerían más de una salida de campo). En el caso de que los resultados obtenidos en ésta y en cada una de las etapas siguientes fueran de respuesta negativa (cero metacercarias y cero adultos recuperados) se recurrió a infectar un segundo hospedero experimental en condiciones idénticas al primero, anotando en las tablas como resultado final el obtenido en el segundo intento, aunque correspondiera nuevamente a un resultado negativo.

2.32 Segunda Etapa:

Para cubrir algunos tiempos y repetir otros con respecto a la primera etapa, se infectó un segundo lote de ratas (tabla #2),

en el que se establecieron diecinueve tiempos de sacrificio y el número de metacercarias utilizadas en cada caso fué variable (rango de 9 - 27), por las mismas condiciones antes mencionadas en la primera etapa.

2.33 Tercera Etapa:

Con base en los resultados obtenidos en las dos primeras etapas, se inició una tercera (tabla #3), en la que se redujo el número de tiempos de sacrificio a seis únicamente, espaciando más los tiempos de las dos primeras etapas, definiéndose los siguientes tiempos: 1 hr. 12 hrs., 24 hrs., 12 días, 48 días, 60 días; (un error en tiempo de sacrificio cambió el tiempo original de 12 hrs. a 14 hrs.) quedando finalmente como tiempo base para la elaboración de la cuarta etapa el de 14 hrs., además en ésta tercera etapa se unificó el parámetro de metacercarias infectadas a cada hospederu, dando 20 metacercarias por hospederu.

2.34 Cuarta Etapa;

Al llegar a la cuarta etapa se puede observar que el número de tiempos para sacrificio se ha reducido, ya que los resultados de las tres primeras etapas nos han guiado a un rango de tiempo en el que se sugiere que la metacercaria puede penetrar a tejido así mismo al ser menor el número de hospederos a infectar, el número de metacercarias utilizadas puede ser estable y un poco mayor que en las etapas anteriores. Así pues en la cuarta etapa partió de los resultados obtenidos en la etapa anterior, específicamente en el tiempo de 14 hrs. cubriendo tiempos

cercanos a ésto antes y después, y con base en las 14 hrs., se establecieron 4 tiempos más con 14 hrs. de diferencia entre ellos hasta cubrir 63 hrs. pos-infección (aproximadamente dos días y medio), utilizando también una infección uniforme pero mayor que la anterior, es decir de 25 metacercarias por hospedero (tabla #4).

2.4 CONSERVACION Y PROCESO DEL MATERIAL RECUPERADO.

Los pseudoquistes con adultos recuperados durante las necropsias, fueron fijados en líquidos de Bouin; un adulto recuperado de uno de los pseudoquistes, fué aplanado entre dos placas de cristal de 4 x 6 cms. en el momento de ser fijados con el Bouin, por 24 hrs. y posteriormente fué lavado con alcohol 70% en varios cambios hasta que el organismo dejó de desprender el líquido amarillento del fijador, de la misma manera se lavaron el resto de los pseudoquistes que contenían los adultos y aquellos otros adultos que se desprendieron de su pseudoquiste. Todos ellos fueron conservados en frascos etiquetados con alcohol al 70%, excepto el que fué aplanado, y que se coloreó con la técnica de mezcla Tricrómica de Gomori; de acuerdo al siguiente procedimiento.

- 1.- Se lavó en alcohol 70% durante 10 min.
- 2.- Se lavó en alcohol 96% durante 10 min.
- 3.- Se tiñó en Tricrómica de Gomori (3/4 partes de alcohol 96% en una caja Petri chica con 12 o 13 gotas de Tricrómica de Gomori) por 10 a 20 mins.
- 4.- Se lavó en alcohol 96%

- 5.- Se diferenció en alcohol 96% acidulado al 2% con HCl
- 6.- Se lavó en alcohol 96% durante 5 min.
- 7.- Se deshidrató en alcohol 96% durante 10 min.
- 8.- Se deshidrató en alcohol absoluto por 20 min.
- 9.- Se aclaró en salicilato de metilo (un primer cambio con el 50% de salicilato de metilo y el 50% de alcohol absoluto, y un segundo cambio de salicilato de metilo puro).
- 10.- Se montó en Bálsamo de Canadá.

Uno de los pseudoquistes preservados en alcohol 70% fué procesado para cortes histológicos, los cuales fueron teñidos, uno con PAS y otro con H-E, en el Centro Médico para el Desarrollo Integral de la Familia (DIF), lugar dónde practicaron la técnica adecuada de inclusión en parafina para un pseudoquiste en pulmón.

Las metacercarias recuperadas libremente en cavidades y órganos del hospedero, fueron también fijadas en el líquido de Bouin, lavadas en la misma forma que se explicó anteriormente con los adultos, en alcohol 70%, y conservándolas en éste mismo.

Las metacercarias encontradas en tejido esofágico y pulmón se fijaron también en el líquido de Bouin junto con el trozo de tejido en el que se encontraban, una de éstas metacercarias encontradas en tejido esofágico se fijó con el mismo fijador pero aplanándola entre dos portaobjetos, y después de lavarla con alcohol 70%, se tiñó en Hematoxilina-Eosina, técnica que se describe más adelante.

El resto de las metacercarias encontradas en tejido después de

lavarlas con alcohol 70% se sometieron al siguiente tratamiento para la técnica de inclusión en parafina:

- 1.- Fueron cambiadas a alcohol 80% durante el día.
- 2.- Se pasaron a alcohol 96% en dos cambios, uno por día.
- 3.- Se pasaron a alcohol absoluto, en dos cambios, uno por día.
- 4.- Se pasaron a Toluol al 50% con alcohol absoluto, en dos cambios, uno por día.
- 5.- Se pasaron a Toluol puro, en dos cambios, uno por día.
- 6.- Se realizaron tres cambios en parafina, uno por día, manteniendo la estufa de 57 a 60°C durante una hora mínimo por día, con la parafina en estado líquido.

Una vez obtenido el bloque final de parafina (un bloque por cada trozo de tejido con una metacercaria), se realizaron cortes histológicos con el microtomo de rotación a 6.5 micra unos y otros a 10 micra de grosor, colocándolos en serie de ocho cortes por laminilla, usando la técnica de albúmina y baño maría para adherirlos a la laminilla, y finalmente para que quedaran bien extendidos sobre la laminilla se agregaron unas gotas de agua formolada al 1%, y se dejaron secar en la estufa; finalmente se tiñeron con la técnica de Hematoxilina-Eosina como sigue:

- 1.- Se hidrataron en alcoholes graduales (70-25%) hasta agua en un tiempo de 3 a 10 min. cada uno.
- 2.- Se colocaron en Hematoxilina de Delafield durante 20 min.

- 3.- Se lavaron con agua destilada.
- 4.- Se viró con agua de la llave.
- 5.- Se lavaron con agua destilada.
- 6.- Se colocaron en Eosina acuosa al 1% por 2-3 min.
- 7.- Se lavaron en agua destilada.
- 8.- Se diferenciaron en alcohol 95% acidulado.
- 9.- Se deshidrataron en alcohol absoluto durante 20 min.
- 10.- Se aclararon en Xilol.
- 11.- Se montaron en Bálsamo de Canadá.

De las series de cortes obtenidos, se tomaron microfotografías y se elaboraron dibujos en cámara clara de algunas laminillas, dónde el corte y la imagen tenían más claridad.

Las laminillas que contienen los cortes histológicos se encuentran en la colección del laboratorio de Helmintología del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México con las siguientes claves: 237-25, 238-1, 238-2 y 238-3.

III.- RESULTADOS.

3.1 TIEMPOS Y LOCALIZACION DE PARASITOS RECUPERADOS.

Los resultados obtenidos en cuatro lotes de ratas infectadas con metacercarias de P. mexicanus, corresponden a cada una de las cuatro etapas que se llevaron a cabo en éste experimento, y los podemos observar en los cuadros de resultados (tablas #1 a la 4), dónde están registrados el número de metacercarias y adultos recuperados, así como su sitio de localización durante el sacrificio en orden cronológico progresivo; las figuras "d" a la "g", nos muestran los puntos donde las metacercarias pudieron

TABLA # 1

PRIMERA ETAPA DE INFECCION DE METACERCARIAS DE P. Mexicanus EN RATAS BLANCAS "WISTAR"

T.I.	M.I.	M.R.	L.N.
1.30 hrs.	20	1	Libre en el estómago
3.00 "	20	2	Luz intestinal
24.00 "	15	0	- - - -
25.00 "	6	0	- - - -
6 días	15	3	Libres en el estómago
8 "	10	3	Libres en el esófago
10 "	10	0	- - - -
13 "	16	0	- - - -
15 "	18	1	Músculo de cuello
		Adultos	Recuperados
36 "	19	2	Enquistados en pulmón
78 "	13	0	- - - -
90 "	18	2	Enquistados en pulmón
90 "	18	5	Enquistados en pulmón
143 "	15	1	Enquistado en pulmón

T.I. = TIEMPO DE INFECCION

M.I. = METACERCARIAS INFECTADAS

M.R. = METACERCARIAS RECUPERADAS

L.N. = LOCALIZACION EN LA NECROPSIA

TABLA # 2

SEGUNDA ETAPA DE INFECCION DE METACERCARIAS DE P. mexicanus EN RATOS BLANCOS "WISTAR"

T.I.	M.I.	M.R.	L.N.
1 hrs.	18	2	En luz de esófago
2 "	20	2	En contenido estomacal
3 "	20	1	En luz del esófago
6 "	20	0	- - - -
12 "	20	0	- - - -
24 "	20	0	Puntos hemorrágicos en pared de intestino delgado.
36 "	27	0	- - - -
48 "	20	0	- - - -
72 "	25	0	- - - -
6 días	25	0	- - - -
12 "	20	0	- - - -
24 "	20	0	- - - -
Adultos Recuperados			
36 "	9	0	- - - -
48 "	15	0	- - - -
60 "	20	0	- - - -
72 "	20	1	Enquistado en pulmón
84 "	20	1	Enquistado en pulmón

TABLA # 3

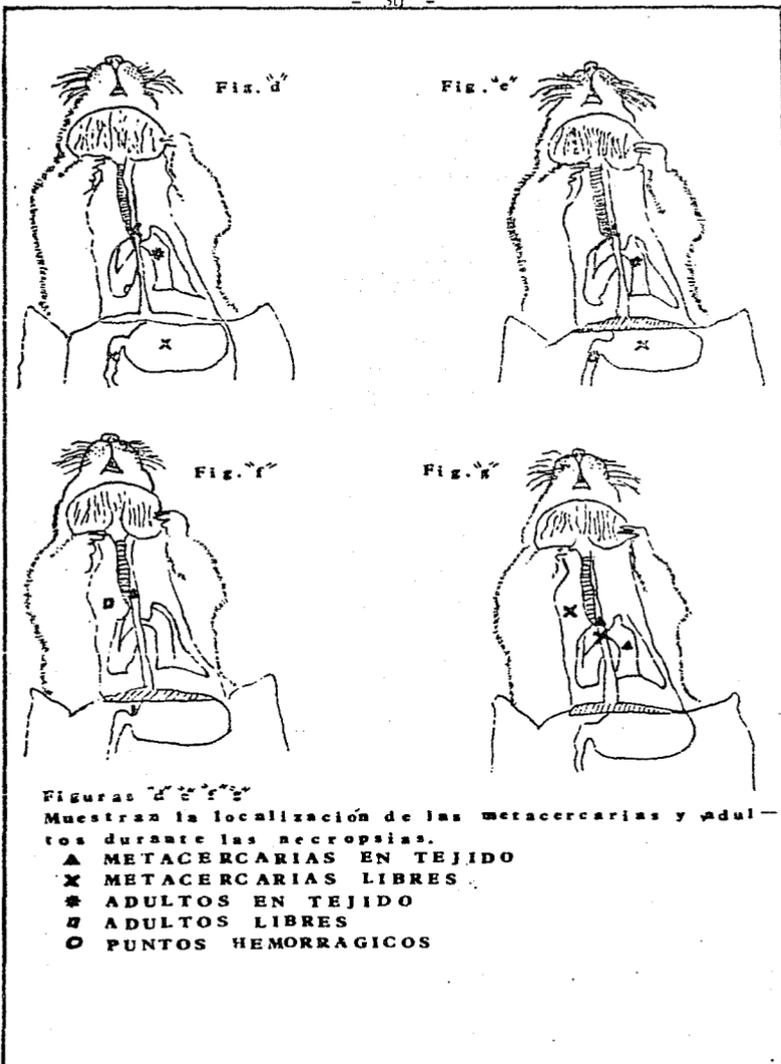
TERCERA ETAPA DE INFECCION DE METACERCARIAS DE P. mexicanus EN RATAS BLANCAS "WISTAR"

T.I.	M.I.	M.R.	L.N.
1 hrs.	20	0	- - - -
14 "	20	2	En tejido esofágico
24 "	20	0	- - - -
12 días	20	0	- - - -
Adultos Recuperados			
48 "	20	0	- - - -
60 "	20	1	Libre en cavidad torácica

TABLA # 4

CUARTA ETAPA DE INOCULACION DE METACERCARIAS DE P. mexicanus EN RATAS BLANCAS "WISTAR"

T.I.	M.I.	M.R.	L.N.
12 hrs.	25	0	- - - -
14 "	25	4	3 en tejido esofágico, 1 en la luz
16 "	25	2	1 en tejido esofágico, 1 en cav. torax.
21 "	25	0	- - - -
35 "	25	0	- - - -
49 "	25	2	1 en tejido esofágico, 1 en tejido pulmonar
63 "	25	1	1 sobre músculo de cav. torax.



penetrar o se encontraron penetrando un tejido, así como la localización de los adultos encontrados.

La figura "d" corresponde a los datos obtenidos en el primer lote de ratas infectadas (tabla #1), la figura "e", al segundo lote (tabla #2), la figura "f" al tercer lote (tabla #3), y la figura "g" al cuarto y último lote (tabla #4). Finalmente la integración de todos los resultados obtenidos en los cuatro lotes de ratas se puede observar en la figura "h".

3.2 CONFRONTACION DE RESULTADOS.

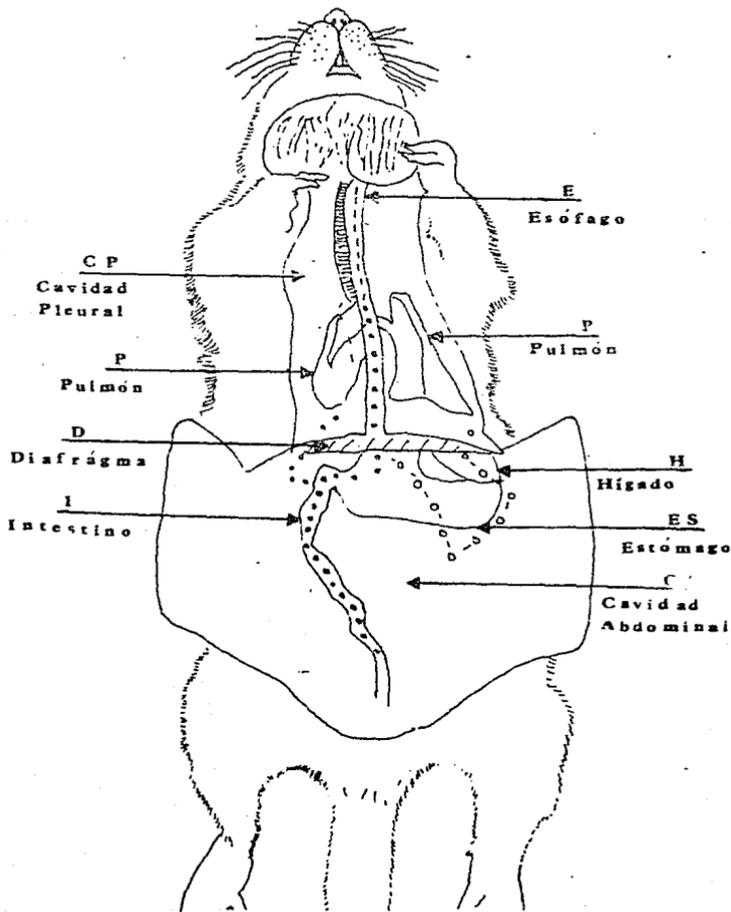
Con la finalidad de observar similitudes y diferencias, se muestra la figura "i" que corresponde a los datos encontrados por Tantalean en 1974 con metacercarias de P. mexicanus en ratas, dándonos una idea de la ruta que entonces se proponía para éste parásito dentro del hospedero final; y que se puede comparar con la posible ruta que indican los resultados obtenidos en éste experimento (figura "h").

3.3 RESULTADOS HISTOLOGICOS.

Los resultados de los cortes histológicos los podemos observar en las láminas de la I a la III, dónde se muestran microfotografías de diferentes metacercarias encontradas en tejido esofágico y cortes de un quiste encontrado en el pulmón de una rata y que contenía dos parásitos adultos de P. mexicanus, todos ellos teñidos con Hematoxilina-Eosina.

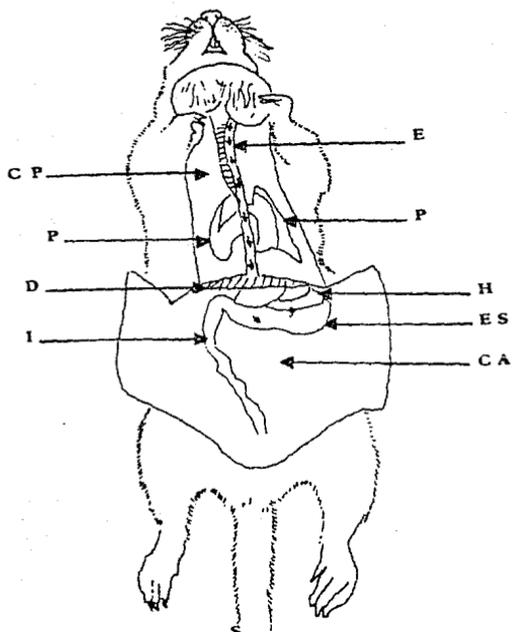
En la lámina #I se observan cuatro cortes longitudinales a diferentes niveles de una misma metacercaria en esófago, y aparentemente situada en la submucosa y la capa muscular de

Fig. 8^a POSIBLES RUTAS QUE SIGUE LA METACERCARIA DE P. mexicanus EN EL HOSPEDERO DEFINITIVO



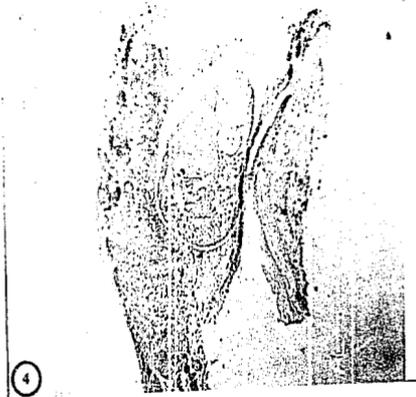
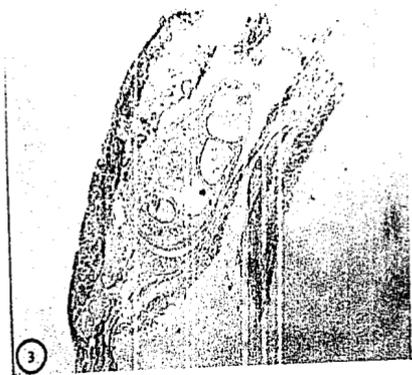
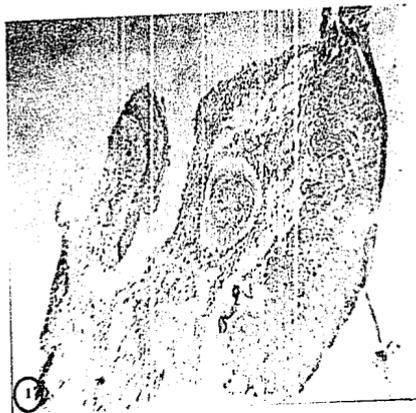
- 1.- POSIBLE RUTA SIN ALIMENTO EN EL TUBO DIGESTIVO. llega a pulmón a las 49 hrs. atravesando E
- 2.- POSIBLES RUTAS CON ALIMENTO EN EL TUBO DIGESTIVO. atraviesa por I o se sigue por él y atraviesa por ES. En ambos casos pasa primero a CA que a CP

Fig. 1^o



RUTA DE LA METACERCARIA DE P. mexicanus
SEGUN DATOS OBTENIDOS POR TANTALEAN
EN 1974.

LAMINA I



LAMINA 1



éste órgano; en las microfotografías 1 y 2 de ésta lámina se observa más marcada la eosinofilia perifocal que en las microfotografías 3 y 4, aunque el daño mecánico por el paso de la metacercaria en el tejido del hospedero no es muy apreciable.

En la microfotografía 1, se pueden observar claramente los paquetes musculares del tejido esofágico, aunque en éstos cortes existe un rompimiento del tejido desplazado hacia la derecha; la metacercaria no es claramente visible a éste nivel pero se puede observar una pequeña parte de la epidermis de la misma al centro del corte aproximadamente.

La figura "j", es un esquema de la microfotografía 2 de ésta lámina, en ella se puede observar uno de los ciegos de la metacercaria casi completo en forma longitudinal (C) y parte de la vesícula excretora (VE); al rededor de la metacercaria, se observa la cutícula espinosa (Cu).

La figura "k" es un esquema de la microfotografía 3, en la que podemos observar parte de uno de los ciegos (C), vesícula excretora (VE) y se observa la ventosa (V), aunque no muy bien definida, en éste corte el tejido esofágico se encuentra muy encimado y por lo mismo poco definidas cada una de las capas de tejido del mismo.

En la microfotografía 4 de ésta primera lámina, el tipo de iluminación no permite ver claramente los tejidos del hospedero, pero en cambio se puede observar muy claramente la metacercaria, casi por completo, con la ventosa perfectamente definida al centro

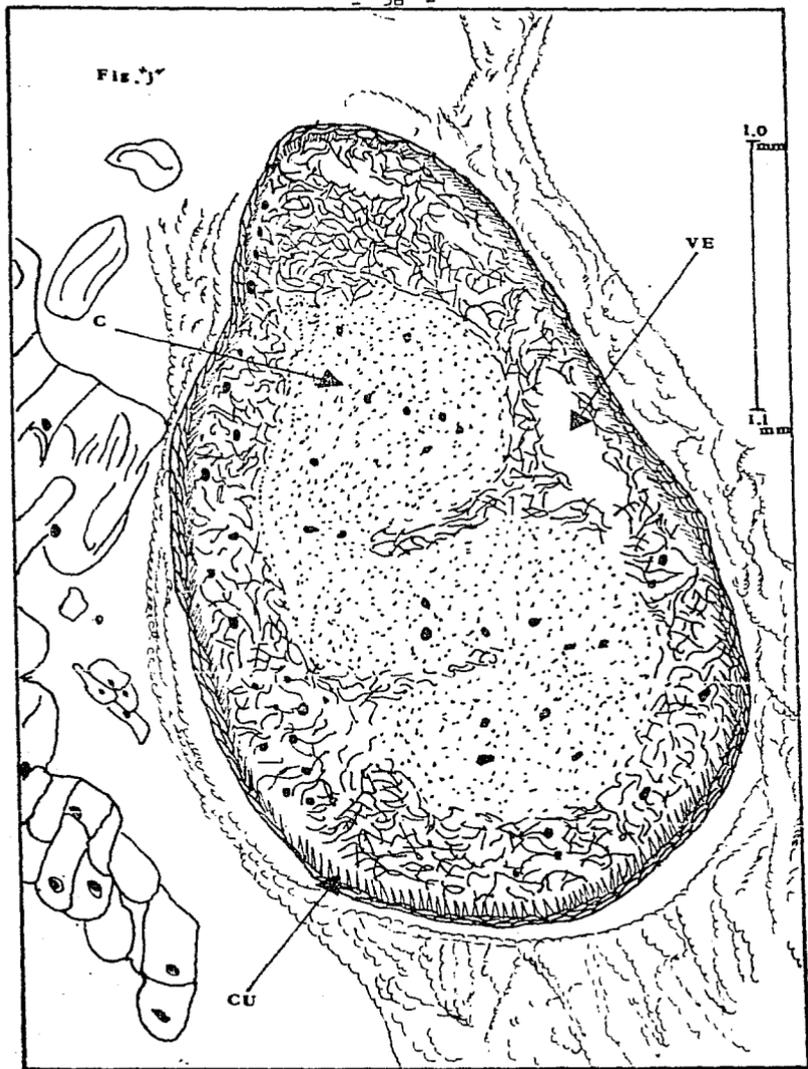
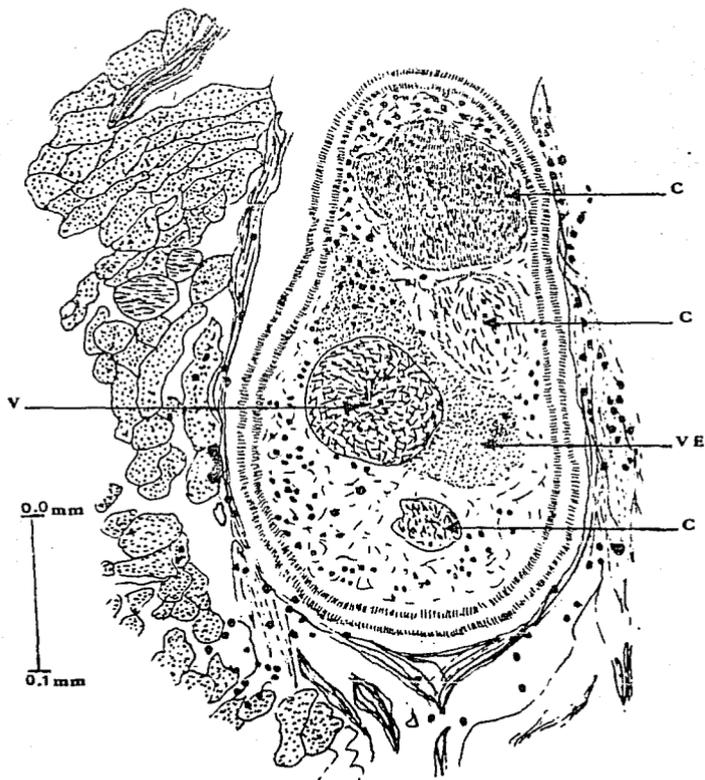


Fig. 4



de la misma.

La Lámina #II presenta en las microfotografías 5 y 6 cortes transversales de una metacercaria de tejido esofágico a diferentes niveles del mismo corte; la microfotografía 5 no muestra aún ningún organelo de la metacercaria, únicamente el parénquima de ésta y parte de la cutícula, pero se puede apreciar en ella la eosinofilia alrededor del parásito, aunque éste se encuentre bastante apartado del tejido del hospedero; la microfotografía 6, es donde se aprecia la metacercaria con algunas de sus estructuras internas, éste corte se encuentra roto y doblado, casi toda la serie de ésta metacercaria se observa con éste defecto, por lo cual se elaboró un esquema (figura "1"), donde se aprecia la misma metacercaria en corte transversal pero reconstruida como suponemos podría observarse realmente en la microfotografía 6, si ésta no se hubiera dañado tanto al ser cortada por el microtomo, en éste esquema se puede localizar la ventosa (V), la vesícula excretora (VE), los ciegos intestinales (C), la cutícula espinosa que rodea la metacercaria (Cu) y las fibras musculares del tejido del hospedero (FM) por lo que se deduce que la metacercaria se encontraba próxima a la capa muscular del esófago.

Las microfotografías 7 y 8 de ésta segunda lámina corresponden a otra metacercaria de otro hospedero diferente al de las microfotografías 5 y 6, y ésta fué cortada longitudinalmente, en ambas se aprecia la eosinofilia perifocal más marcada que en cortes anteriores, motivo por el cual se ilustra; la figura

LAMINA II



5



6

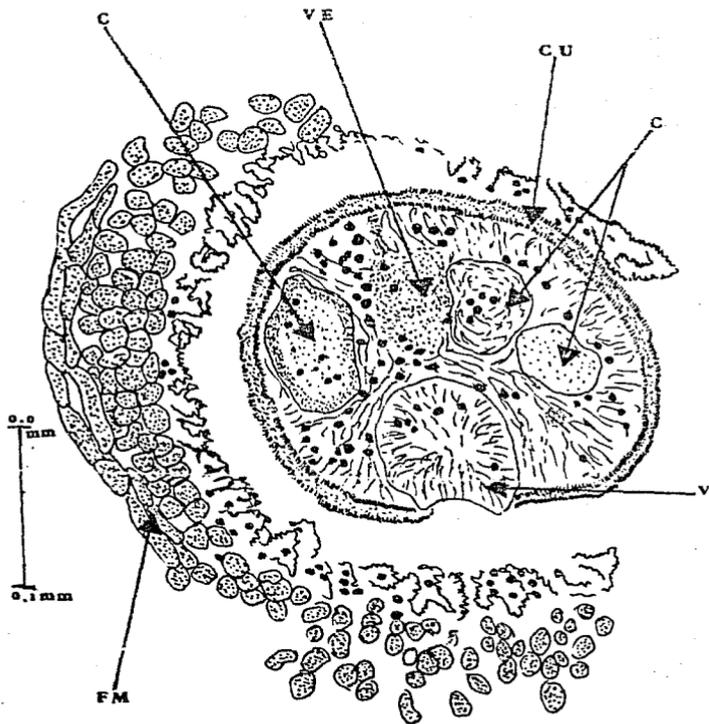


7



8

Fig. 1



"m", es un esquema de la microfotografía 8, en el que se observa parte de los ciegos (C), de la vesícula excretora (VE), la ventosa que se ve de frente y bastante clara (V) y la cutícula espinosa (Cu).

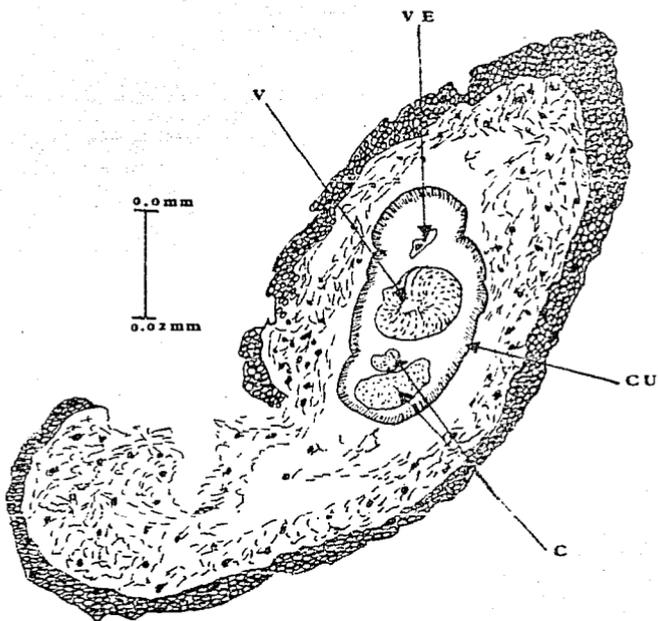
En la lámina #III se encuentran microfotografías de cortes histológicos transversales de un pseudoquistes en pulmón de rata que contenía dos adultos de P. mexicanus, mostrándonos en la microfotografía 9 uno de los adultos y en la 10 el otro, en ambos se puede observar huevos alrededor del parásito junto con los eosinófilos en gran parte del tejido que los rodea. De las estructuras del parásito a éste nivel se observan únicamente los ciegos y la vesícula excretora. La microfotografía 11 es un corte de uno de los adultos de éste quiste pero a nivel de la ventosa, la cual se observa claramente, al igual que se puede observar con más claridad los eosinófilos, y la cutícula espinosa del parásito.

En la microfotografía 12 en corte transversal, parte de la ventosa y toda la extensión de la vesícula excretora a lo ancho del parásito, y a los lados de ésta los ciegos intestinales bien definidos.

3.4 LOCALIZACIÓN DE LAS METACERCARIAS EN EL ESÓFAGO.

El esófago de la rata en general se encuentra formado por cuatro capas (figura "n"), la cerosa o adventicia que es la capa más externa del esófago; la muscularis externa o tónica muscular (figura "o", que se caracteriza por una capa interna de fibras musculares lisas orientada en forma circular y una capa externa

Fig. 1m*



LAMINA III

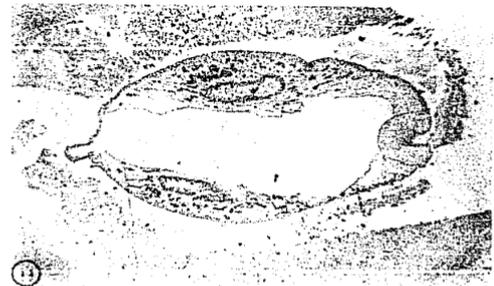
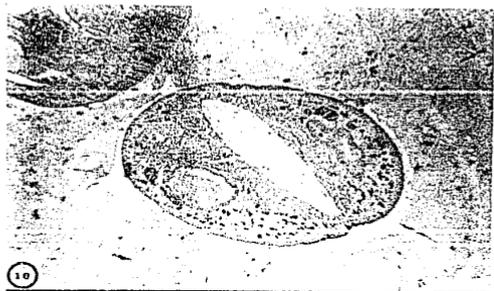
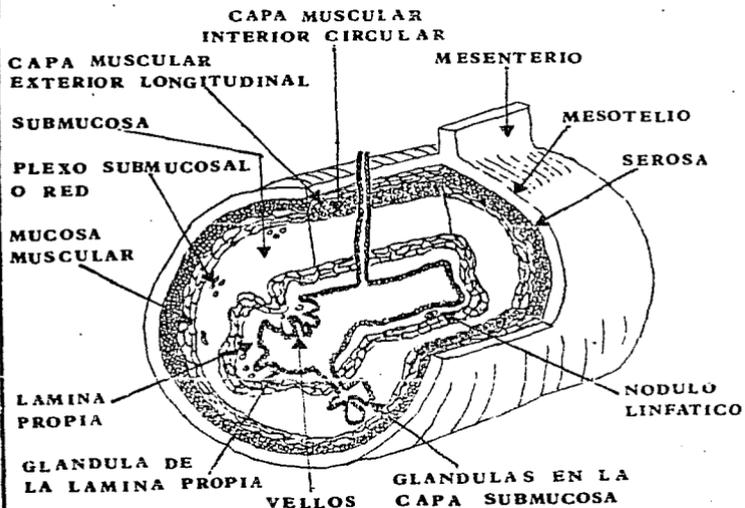


Fig. n°



externa de las mismas fibras pero orientada en sentido longitudinal, dispuestas en forma de una hélice y su espesor varía con la región del tubo; hacia la luz del esófago continúa la submucosa (figura "p"), formada por tejido conectivo areolar grueso con algunas fibras elásticas; y finalmente la membrana mucosa que es la membrana de epitelio superficial que humedece y lubrica por moco al esófago, está apoyada en la lámina basal y en muchas regiones presenta una capa delgada externa de musculatura, llamada muscularis mucosae.

Las metacercarias encontradas en el esófago, ocupaban la mayoría de ellas una posición entre la submucosa y la muscularis externa.

En las microfotografías 1 y 2 de la lámina #1, podemos observar el tejido en el que se encuentra la metacercaria fotografiada a éste nivel; si comparamos ese tejido con el que se presenta en las figuras "o" y "p", podemos observar que la capa submucosa y la muscular externa, se encuentran rodeando a la metacercaria. En éste nivel es posible observar éste detalle, pero no en todos los cortes ni en todos los niveles es muy claro, se desconoce la altura del esófago a la cual se encontraban las metacercarias en todos los cortes, dato que sería de mucha utilidad para ubicar mejor los cortes histológicos, pero que desafortunadamente no se tomó en cuenta a la hora de hacer las necrópsias, la importancia radica en que el esófago en la mayoría de los mamíferos tiende a cambiar el tipo de tejido en el esófago en la parte próxima al estómago, formándose la capa muscularis mucosae

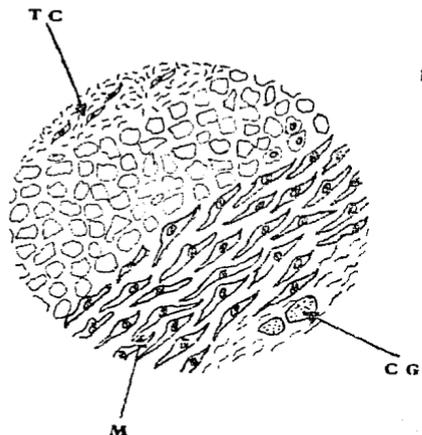
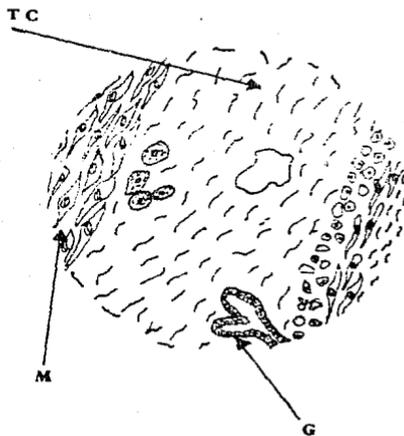


Fig. o
MUSCULARIS EXTERNA
O TUNICA MUSCULAR

TC tejido conectivo
M musculo
CG celulas ganglionares

Fig. p
SUBMUCOSA

TC tejido conectivo
M musculo
G glandula



por músculo suave.

IV.- D I S C U S I O N G E N E R A L .

4.1 RATAS BLANCAS COMO HOSPEDEROS DEFINITIVOS.

La idea de utilizar roedores como hospedero definitivo en éste experimento, partió de la facilidad que existe para mantener y manipular a éstos; el gato suele ser hospedero usado muy comunmente en infecciones con Paragonimus e incluso varios años atrás se pensó que el gato era un mejor hospedero experimental en éste tipo de infecciones, que las ratas blancas usadas también en éstos experimentos (Fan 1963); sin embargo la idea de utilizar un hospedero nuevo, con facilidad para mantener en el laboratorio y diferente a las ratas blancas usadas actualmente para éste tipo de experimentos, fué la causa de llevar a cabo la infección primeramente en Hamsters, que como se mencionó en el método, no pudo ser debido a la falta de Jaulas (espacio en general) dónde mantenerlos y el hecho de que la manipulación de éstos roedores no es tan fácil como se pensó en un principio. Finalmente se infectaron ratas blancas (Rattus norvegicus) que permitían los objetivos antes mencionados y además por el gran número de trabajos realizados con éste hospedero se cuenta con una buena base bibliográfica como son los trabajos de Yokogawa en 1962, Hashiguchi 1972, Tantalean 1974, entre otros muchos y aunque en éste trabajo es posible observar una baja intensidad de infección positiva (tablas #1 a la 4) comparada con la que se puede observar en los trabajos mencionados anteriormente, se consideró que éste estaba relacionado con el método de

infección y no con el tipo de hospedero, y como el objetivo de éste trabajo no era obtener un alto grado de intensidad de infección, sino tratar de reproducir en forma experimental lo más semejante posible la ruta de la metacercaria dentro del hospedero definitivo en condiciones naturales, la baja intensidad de infección resultó como consecuencia de la forma de infectar a los hospederos, ya que en vez de asegurar una mayor intensidad de infección, se permitió que las metacercarias se desplazaran por sí solas desde la cavidad bucal, que es su punto de partida en condiciones naturales, hasta los pulmones, que es el punto dónde se establece definitivamente y alcanza su estado adulto.

4.2 EL METODO MAS ADECUADO DE INFECTAR A LAS RATAS CON METACERCARIAS DE PARAGONIMUS.

Para lograr el objetivo de éste trabajo fué necesario ensayar previamente el método para infectar a los hospederos y reducir al máximo posible la falsa infección.

Una de las formas que se usa más comunmente para infectar metacercarias en ratas, es por medio de una sonda bucofaringea (Hashiguchi 1969) por ejemplo, éste método obtiene mejor resultado en cuanto a seguridad de que el hospedero experimental quede parasitado, pero en éste caso la sonda llega directamente hasta esófago y accidentalmente puede llegar hasta estómago y por lo tanto las metacercarias podían no pasar por todo el esófago, o bien llegar directamente y tomar como punto de partida al estómago, con lo que se vería modificada en tiempo y

desplazamiento la ruta de las metacercarias dentro del hospedero. Después de experimentar algunas formas de inoculación se consideró como una mejor opción el uso de la pipeta Pasteur como en el caso de Tantalean 1974, solo que además de ella se añadió el uso de un poco de éter para adormecer ligeramente a la rata, sin que con ello perdiera el sentido, ya que se observó que en sus cinco sentidos la rata arroja fuera de la cavidad bucal, la mayor parte de la solución que contiene las metacercarias, mientras que se pudo observar que dejando la rata sin beber agua por varias horas, semianesteciada por una pequeña dosis de éter, deglutió más fácilmente la solución Ringer que contenía las metacercarias, la cual se le depositó lenta y directamente en la cavidad bucal con la pipeta Pasteur, pero desde luego es imposible descartar la posibilidad de que en algún o algunos hospederos, una vez que recobraron el conocimiento completamente, pasado el efecto del éter y saciada su sed, pudiesen haber llegado a regurgitar las metacercarias, o arrojar fuera de su cavidad bucal las que hubiesen quedado rezagadas entre la lengua, dientes y molares, lo cual podría haber sido la causa de la baja intensidad de infección por una parte, pero por otra, ésta es la forma por la cual hemos encontrado que la metacercaria comience su ruta a partir de la cavidad bucal y no por el esófago o estómago, como sería en el caso de usar la sonda, de tal manera que bien es cierto, que nuestra posibilidad de falsa infección aumenta (y con ello la intensidad de infección positiva disminuye), pero también es

cierto que aumenta la semejanza con la ruta que se realiza en condiciones naturales (y con ello también aumenta la posibilidad de localizar los puntos de penetración y tiempos dentro del hospedero definitivo, por los cuales suponemos deben pasar las metacercarias dentro del hospedero en condiciones naturales).

4.3 CONSECUENCIAS DEL USO DE LA SONDA.

Observamos por ejemplo que en los primeros resultados obtenidos (tabla #1) no es posible definir una ruta, ni siquiera sugerirla, ya que la recuperación de las metacercarias se llevó a cabo en puntos sin secuencia de lugar o tiempo, y además no se encontró rastro alguno por medio de la técnica de Azul de Evans, en éste caso la infección se llevó a cabo por medio de la sonda y en consecuencia, podemos observar que en esófago que es el primer órgano del aparato digestivo por el cual debe pasar la metacercaria, una de las ratas infectadas con 10 metacercarias conservó por 8 días tres de éstos parásitos juveniles en éste órgano, mientras que en el estómago que se encuentra más lejano por ser el segundo órgano del aparato digestivo por el cual debe pasar el parásito otra de las ratas infectadas con 15 metacercarias mostró en la necropsia tres metacercarias a los 6 días postinfección, y lo que es más confuso, otra rata infectada con 20 metacercarias mostró una de ellas en éste mismo órgano a la 1.30 horas postinfección; todo ésto pudo ser un error causado por la sonda, ya que esa metacercaria que apareció en estómago en tan poco tiempo, 1.30 horas, pudo haber sido depositada ahí desde un principio por la sonda, mientras que las otras tres a

los 6 días, tal vez tuvieron que atravesar total o parcialmente el largo del esófago para llegar al estómago y además atravesar el contenido estomacal para llegar hasta las paredes del órgano donde se localizó libre de tejido, claro que se puede observar que ésta primera etapa fué más elevada que las posteriores en cuanto al número de larvas y adultos recuperados, ya que se considera que la sonda da mayor seguridad de infección, y es posible observar sobre todo más alto número de adultos recuperados. En ésta primera etapa también es posible observar una metacercaria en el músculo del cuello, un dato que bien podría significar un parásito errante hablando de Paragonimus, y que además no se repite en ninguna de las etapas posteriores ni aparece registrado en bibliografía; como consecuencia de los datos obtenidos se consideró únicamente la posibilidad de que un punto de penetración de la metacercaria podría ser a través del esófago, dado el tiempo que permanecieron esas 3 metacercarias en dicho órgano y se descartó la posibilidad por estómago, que como ya se dijo anteriormente podría ser un error de la sonda; en conclusión, la primera etapa sólo propone la suposición de un punto de penetración.

4.4 LA TECNICA DEL AZUL DE EVANS Y EL USO DE LA PIPETA.

Sin poder seguir una ruta se elaboró una segunda etapa de infecciones (tabla #2), en la que se hizo más minuciosamente la técnica de Azul de Evans, la cual tuvo que ser ensayada previamente para disipar ciertas dificultades que se presentaban en su aplicación como era el conducto sanguíneo por el cual

debía introducirse el colorante; de varios ensayos se dedujo que ni las orejas, ni la cola, ni las patas presentan vías sanguíneas con un calibre lo suficientemente grueso para resistir la inyección de colorante, de tal manera que se utilizó la yugular y la aorta abdominal, dando mejores resultados en ésta última, aún cuando en ambas se corre el riesgo de que por una mala inserción de la aguja, ocurra una hemorragia capaz de matar al hospedero y por tal motivo no se concluya la tinción con el Azul de Evans. Esta técnica bien dominada dió buenos resultados durante las disecciones, localizando así con mayor facilidad las metacercarias y algunos puntos hemorrágicos en los tejidos, que gracias a la técnica se distinguen de color azul y sugieren posibles lugares de paso de las metacercarias a través de los órganos que las presentan. Esta técnica fué utilizada únicamente en las disecciones hechas entre una hora y 72 horas postinoculación, ya que el punto de penetración del aparato digestivo al respiratorio, debía aparecer dentro de éste lapso de tiempo, según sugerían los datos obtenidos por TantaLEAN en 1974.

En ésta segunda etapa el número de larvas y adultos recuperados fué notablemente bajo con respecto a los resultados obtenidos anteriormente, a pesar de que el número de metacercarias infectadas por hospedero en éste caso fué mayor, sin embargo los puntos hemorrágicos localizados en el intestino, nos permiten hacer la suposición de que las metacercarias pueden atravesar por éste órgano en un lapso aproximado de 24 hrs.

postinoculación. Este dato añadido a la posibilidad de que las metacercarias atraviesan por esófago (según datos obtenidos anteriormente y, según lo indica el hecho de encontrar en ésta segunda etapa el mayor número de metacercarias recuperadas en la luz del esófago), no permitieron ver claramente una ruta que siga la metacercaria dentro del hospedero definitivo, ya que todas las metacercarias se encontraban libres del tejido del hospedero, y ninguna cerca de los pulmones que son el punto final de dicha ruta.

4.5 DOS SUCESOS INESPERADOS PERMITIERON ENCONTRAR METACERCARIAS EN TEJIDO.

Se infectó un tercer grupo de ratas (tabla #3), en las mismas condiciones anteriores, excepto por un descuido en la alimentación de las ratas a las que siempre se les dejaba el alimento a su alcance todo el tiempo, pero en éste caso, parte del lote de ratas se quedaron sin probar alimento ni agua en el transcurso del experimento y sumado a éste descuido, una variación en los tiempos de sacrificio que fué de 2 horas aproximadamente, nos permitió observar las primeras metacercarias entre el tejido de uno de los órganos del hospedero, a las 14 horas, 2 metacercarias se encontraban atravesando el tejido del esófago, según se pudo observar, apenas estaban en las primeras capas del órgano, pero en su parte externa, y en un estado muy activo, no se puede descartar la posibilidad de que anteriormente como es en el caso de la metacercaria en esófago después de ocho días en la primera

etapa, las metacercarias podían haberse encontrado ya en tejido, pero que a la hora de la disección, éstas se hubieran salido del tejido, dejándolas accidentalmente sobre la luz del órgano, pero éstos son los primeros datos verídicos que se tuvieron de metacercarias penetrando a tejido. Con éstos datos se estableció un nuevo grupo de rangos para sacrificio de hospederos entre 12 horas y 63 horas (tabla #4), lapso en el cual se supone que las metacercarias debían atravesar el esófago, o tal vez, se supuso que podrían permanecer varios días en éste órgano, entre sus capas musculares, o bien en caso de no atravesar por esófago, dentro de éste lapso también se podría observar su llegada a intestino y su penetración por ahí; ya que hasta antes de realizar la cuarta etapa los resultados sugerían éstas dos posibilidades de penetración deferentes, esófago o intestino, para llegar a su destino final; los pulmones.

4.6 EL PRIMER PUNTO DE PENETRACION DETERMINA LA RUTA QUE HA DE SEGUIR EL PARASITO.

El primer punto de penetración de la metacercaria determina por sí mismo la ruta que ha de seguir para llegar a los pulmones; se han analizado los resultados obtenidos por algunos investigadores (tabla #5), con respecto a la ruta de migración que la metacercaria sigue en diferentes especies de Paragonimus dentro del hospedero definitivo, y se puede observar que todas éstas especies convergen finalmente en llegar a los pulmones, ésto puede suponerse se debe a la fisiología propia del género y sus requerimientos, pero el camino que sigue para lograr su

Autor	Año	Hospedero	Parásito	Punto de penetración	R u t a
YOKOGAWA M.	1962	GATOS ME JORES DE 350 gr.	<u>P. WESTERMANI</u>	PARED INTESTINAL	LLEGA A CAVIDAD ABDOMINAL ENTRE 3 Y 24 hrs. PERMANECE EN PARED ABDOMINAL ENTRE 24 hrs. Y 7 DIAS. ALGUNAS PENETRAN A HIGADO Y POSTERIORMENTE ATRAVIESAN EL DIAFRAGMA.
YOKOGAWA M.	1962	GATOS MA YORES DE 350 gr.	<u>P. WESTERMANI</u>	PARED INTESTINAL ENTRE 30 min. Y 3 hrs.	LLEGA A CAVIDAD ABDOMINAL ENTRE 3 Y 6 hrs. PASA A PARED ABDOMINAL - ENTRE 6 Y 24 hrs. REGRESA A CAVIDAD ABDOMINAL Y ATRAVIESA POR DIAFRAGMA DESDE LAS 24 hrs.
YOKOGAWA M.	1962	RATAS	<u>P. WESTERMANI</u>	PARED INTESTINAL	LLEGA A CAVIDAD ABDOMINAL A LOS 30 min. PENETRA A PARED ABDOMINAL A PARTIR DE UNA hr. REGRESA A CAVIDAD ABDOMINAL DESPUES DE TIEMPO VARIABLE, LLEGAN A PERMANECER HASTA LOS 180 DIAS POST-IMPLANTACION EN LOS MISMOS LUMBOS Y RETROPERITONEAL.
FAN	1963	RATAS	<u>P. WESTERMANI</u>	PARED INTESTINAL	LLEGA A CAVIDAD PERITONEAL A LAS 2 hrs. SI LLEGA A PENETRAR A HIGADO LO HACE ENTRE 13 Y 20 DIAS, SI NO PASA A CAVIDAD PLEURAL A PARTIR DE LOS 10 DIAS.
HASHIGUCHI	1969	RATAS	<u>P. OHIRAI</u>	PARED INTESTINAL	LLEGA A CAVIDAD ABDOMINAL A LOS 5 DIAS, APARECE EN HIGADO DESDE LOS 10 DIAS Y PUEDE MIGRAR A CAVIDAD PLEURAL A PARTIR DE LAS 2 SEMANAS.
SOGANARES	1973	RATAS	<u>P. KELLCOTTI</u>	PARED INTESTINAL	LLEGA A CAVIDAD PERITONEAL A LAS 2 hrs. PASA A HIGADO Y DESPUES ATRAVIESA EL DIAFRAGMA A LAS 2 u 3 SEMANAS.
TANTALEAN	1974	GATOS	<u>P. PERUVIANUS</u> SN. <u>P. MEXICANUS</u>	PARED DE ESTOMAGO	PASA A CAVIDAD ABDOMINAL POR ESTOMAGO Y CARDIAS.
TANTALEAN	1974	RATAS	<u>P. PERUVIANUS</u> SN. <u>P. MEXICANUS</u>	PARED DE ESTOMAGO	PASA A CAVIDAD ABDOMINAL Y LLEGA A HIGADO A LA 1.30 hrs. Y ATRAVIESA EL DIAFRAGMA A LOS 10 DIAS.

objetivo presenta variantes entre una especie y otra, de tal manera que no se puede establecer una ruta definida para todo el género, y P. mexicanus podría tener una ruta con puntos variables de penetración, en ocasiones por esófago y en otras por intestino.

Las principales variantes que se presentan en general entre una especie y otra se relacionan con tiempo y recorrido: tiempo que tarda en hacer su primera penetración, tiempo que tarda en llegar a los pulmones, tiempo total que tarda desde la infección oral hasta la obtención de parásitos maduros. O bien el órgano en el que realiza la penetración hacia la cavidad torácica, los órganos por los que debe pasar para lograr su completo desarrollo o los órganos en los que se llega a establecer lapsos opcionales pero no necesarios.

Una de las causas en cuanto a la variación de tiempos, puede estar relacionada según Fan (1963) con la edad del hospedero y tipo del mismo, tomando en consideración que cada hospedero, presenta un grosor de tejidos diferentes, lo que determina el tiempo que ha de llevarse la larva en atravesarlo y aún en un mismo tipo de hospedero mientras más joven es, más delgados son los tejidos de sus órganos, Hashiguchi (1972) infiere que la migración y desarrollo de Paragonimus en el hospedero final varía de acuerdo a la especie y tipo de hospedero definitivo, y esto puede observarse más claramente en la tabla #7.

La ruta varía según el punto de penetración, que va principalmente de intestino o estómago a cavidad abdominal.

según la especie de Paragonimus, pudiendo ser el estómago en el caso de P. mexicanus, según Tantalean 1974, pero nuestros resultados muestran que además podría ser esófago o intestino también. Tantalean (1974) menciona que la causa de que la metacercaria de P. mexicanus penetre a nivel de estómago (según datos del mismo autor) y no a nivel de intestino como señala Yokogawa 1962 en el caso de P. westermani, especie bien estudiada en cuanto a su ruta de migración dentro del hospedero definitivo y que se compara muy frecuentemente con P. mexicanus, puede deberse a que la metacercaria de P. mexicanus carece de cubierta quística, que si se presenta en la metacercaria de P. westermani, teniendo así mayor facilidad de penetra en un lugar más anterior.

4.7 RUTA QUE HIPOTETICAMENTE SUGIEREN LOS RESULTADOS DE ESTE EXPERIMENTO.

El hallazgo de la metacercaria en esófago (tablas #3 y #4), nos exponen el hecho de que ésta metacercaria (P. mexicanus) puede penetrar en un lugar más anterior que P. westermani a lo largo del tubo digestivo, como se menciona anteriormente, sin embargo en contraposición, los puntos hemorrágicos encontrados en intestino (tabla #2), sugieren una penetración más posterior al estómago; lo que en conjunto sugiere la posibilidad de que la metacercaria de P. mexicanus tiene tres puntos de penetración posibles: el esófago, el estómago y el intestino (figura "h"), pero la ruta hipotética que se sugiere en cada uno de éstos casos es diferente, no solo en tiempo, sino también en la

trayectoria que ha de seguir en cada caso, ya que la migración a través de estómago o intestino implica que la larva penetre en primer lugar a cavidad abdominal, teniendo así la opción de llegar a hígado y posteriormente migrar a la cavidad torácica a través del diafragma (Tantalean 1974), pero si la migración se lleva a cabo por el esófago, la metacercaria llega directamente a la cavidad torácica, eliminando por éste camino puntos de penetración, así como órganos y tejidos que pudieran ser afectados por la larva y por supuesto su llegada a la cavidad torácica en un tiempo mucho más corto; ésta ruta es en sí la que sugieren los datos obtenidos en la última etapa de inoculaciones (tabla #4), en la que al establecerse nuevos tiempos para las disecciones partiendo de las 12 horas, obtuvimos metacercarias atravesando por esófago, de las 14 a las 49 horas, así como su llegada a pulmón a partir de las 49 horas, y aunque a las 63 horas únicamente la podemos encontrar en cavidad torácica, se sabe que a éste punto puede llegar desde las 16 horas, lapso a partir del cual tiene la posibilidad de penetrar a pulmón, como sucedió a las 49 horas.

4.8 P. mexicanus TIENE LA POSIBILIDAD DE PENETRAR A TEJIDO DESDE ESOFAGO.

Pocos son los autores que han sugerido la posibilidad de que la metacercaria del género Paraconimus en general penetre por esófago, siendo éste un camino más corto y rápido para su objetivo, incluso Yokogawa S. (citado por Fan en 1963) mencionó estar en desacuerdo con la hipótesis de Loss (citado por S.

Yokogawa 1965) en la que proponía que la metacercaria de P. westermani era capaz de atravesar a nivel de estómago o de esófago, sin más argumentos que los resultados obtenidos hasta ese momento en sus experimentos con P. westermani, sin embargo en ese entonces se desconocía la existencia de P. mexicanus con la característica antes mencionada de la carencia de cubierta quística, lo que hace más factible la hipótesis de Loss, o al menos en ésta especie; además el mismo Tantalean que propone el estómago como punto de penetración para P. mexicanus en 1974, supone que ésta especie tiene incluso la posibilidad de penetrar a nivel de esófago, ya que aunque en sus experimentos no consideró éste órgano en sus revisiones, menciona haber encontrado metacercarias en el esófago de un gato que se encontraba parasitado naturalmente, con lo que sugiere que es la probable penetración en condiciones naturales.

4.9 PARAMETROS USADOS EN EL EXPERIMENTO Y SUS CONSECUENCIAS.

Los resultados más elevados en cuanto a la recuperación de parásitos pertenece al lote de ratas infectado en la primera etapa, aunque el promedio de metacercarias utilizadas por hospedero fué el más bajo en éste caso, todo ésto corrobora lo antes dicho sobre el uso de la sonda y la pipeta (en éste caso se usó sonda).

A través del experimento se puede observar que conforme avanzó se fueron logrando mejores resultados para el objetivo del mismo, ya que el porcentaje de recuperación que a partir

del uso de la pipeta en la segunda etapa disminuyó notablemente, fué aumentando en las posteriores etapas, a pesar de no usar la sonda y sin necesidad de utilizar demasiados hospederos ni gran cantidad de metacercarias para infectar a cada uno de ellos. La recuperación de metacercarias en tejido fué aumentando conforme se fuéron perfeccionando las técnicas de infección, disección y localización, pero no así la recuperación de adultos que fué disminuyendo, debido al método usado para la infección de los hospederos, y los tiempos de sacrificio que se fuéron reduciendo de modo que no se diera tiempo a la posibilidad de que la larva madurara y se estableciera en los pulmones, pero dado que el interés de éste experimento radicó en localizar los puntos de penetración de la larva del aparato digestivo (medio de introducción) al aparato respiratorio (lugar de residencia del parásito finalmente), carecía de importancia esperar el tiempo completo de desarrollo del parásito de larva a adulto, ya que en tal caso debía haberse esperado un mínimo de 36 días que fué el tiempo menor en el que se localizó un adulto (tabla #1), y eso usando la sonda, en el caso en el que se usó la pipeta, el adulto recuperado en el tiempo que tarda una larva en llegar a su estado adulto, independientemente del camino que siga para llegar a los pulmones, ya que se desconocen los motivos por los cuales una larva llega más rápido que otra, o porque algunas permanecen en órganos y cavidades por tiempos variables, aún dentro de un mismo hospedero.

V.- CONCLUSIONES.

5.1 SE PUEDE PROPONER LO SIGUIENTE.

En primer lugar que la ruta que sigue la metacercaria de P. mexicanus dentro del hospedero definitivo puede tener 3 puntos de penetración diferentes, considerando los resultados obtenidos por Tantalean en 1974 y los del presente trabajo, o sea: por esófago, por estómago o por el intestino. En segundo lugar, que la posible causa que determine el punto por el cual la metacercaria atraviesa ya sea un órgano u otro, puede depender de la alimentación que tenga el hospedero, alrededor del tiempo en el que se lleve a cabo la infección, ya que la rata en la que se encontraron metacercarias en esófago durante la tercera etapa del experimento permaneció sin alimento antes y después de la infección de las metacercarias (por error de manipulación de hospederos), dato que se tomó en cuenta para la cuarta etapa, teniendo así como base principal no alimentar a las ratas durante el experimento, observando finalmente buenos resultados; mientras que las ratas en las que el alimento y agua permaneció a su alcance las 24 horas diarias, se encontraron metacercarias en estómago y contenido estomacal (a la 1.30 horas y a los 6 días) como se puede observar en la tabla #1, así como en la tabla #2 (a las 2 horas), y aunque como se mencionó anteriormente en el caso de la primera etapa pudo deberse al uso de la sonda que las haya depositado directamente en éste órgano, en la segunda etapa y resultados obtenidos posteriormente similares a éste, así como los resultados de Tantalean (1974), el motivo pudo ser el arrastro

de las metacercarias al estómago por el bolo alimenticio; sin la existencia de éste puede permanecer por algún tiempo mayor en el esófago y penetrar a él tomándose su tiempo, sin correr el riesgo de ser arrastrada al estómago por el bolo alimenticio, donde a pesar de su actividad le costaría más trabajo llegar hasta la pared estomacal, debido a la acción de los ácidos estomacales que ahí se encuentran al contenido del estómago. el cual en un momento dado la puede arrastrar hacia el intestino, lugar donde tiene su última oportunidad para penetrar a tejido, aunque en éste órgano le sería más fácil que en el estómago dado que la luz del tubo digestivo a éste nivel es más pequeña en diámetro que en el estómago y por lo tanto menos difícil llegar hasta la pared (pared intestinal); todo esto puede ser el motivo de que la mayoría de las metacercarias del género Paragonimus se encuentren casi siempre atravesando por intestino. En tercer lugar, podemos suponer que la vía de migración cambiará en P. mexicanus de acuerdo al punto de penetración sin afectar su objetivo final, que es el de llegar a los pulmones; ya que en P. mexicanus no requiere forzosamente de una estancia en hígado o algún otro órgano como sucede en el caso de P. kellicotti (citado por Cheng 1973), que a menudo pasa por hígado 2 o 3 semanas, o bien en el caso de P. mivazaki (Hashiguchi 1972) de quien se sabe siempre pasa por hígado o pared abdominal un tiempo para completar su desarrollo, en cambio según nuestros resultados podemos observar que la larva de P. mexicanus, cuenta con la facilidad de penetrar directamente a los pulmones

atravesando por esófago, ya que como se puede observar en la cuarta etapa del experimento, la metacercaria se puede encontrar a las 49 horas en el pulmón, aunque difícilmente podría enquistarse inmediatamente y tal vez por eso se encuentre solo en cavidad torácica a las 63 horas (tabla #4), pero se sabe por ejemplo que P. ohirai pasa hasta 20 días en la cavidad pleural (Hashiguchi 1969), de tal manera que P. mexicanus podría hacer lo mismo hasta llegar el tiempo óptimo para que se enquite en los pulmones, ahorrando así puntos de penetración y tiempo, asegurando más fácilmente su llegada a pulmón y tal vez hasta podría existir un aceleramiento en su desarrollo ya que es posible que se encuentre en cavidad torácica desde las 16 horas (tabla #4).

5.2 DESDE EL PUNTO DE VISTA BIOLÓGICO.

Los resultados obtenidos en éste trabajo, nos permiten conocer los puntos de penetración por los cuales la metacercaria de P. mexicanus pasa del aparato digestivo al respiratorio, corroborando lo propuesto por Tantalean (1974) de que la metacercaria de P. mexicanus es capaz de penetrar a tejido del hospedero definitivo, antes que la metacercaria de P. westermanni; además se pudo observar que dependiendo del punto de penetración, la metacercaria puede seguir distintas rutas dentro del hospedero, pero que finalmente su objetivo siempre son los pulmones, y además el propósito de conocer un poco más acerca del ciclo de P. mexicanus se encuentra satisfecho con los resultados obtenidos.

5.3 DESDE EL PUNTO DE VISTA MEDICO.

Los resultados pueden ser tomados en cuenta para el diagnóstico de la Paragonimiasis humana, enfermedad que presenta una sintomatología muy similar a la de la Tuberculosis Pulmonar; ya que conociendo las posibles rutas de éste parásito dentro del cuerpo humano es posible distinguir el cuadro clínico entre una enfermedad y otra. Por otra parte se sabe que todo parásito que atraviesa tejido de hospedero, establece una relación antígeno-anticuerpo, misma que depende de los puntos de contacto entre parásito y hospedero, si consideramos los puntos de contacto y el tiempo que tarda en llegar a pulmón la metacercaria en el caso de atravesar por estómago o intestino y los comparamos con los puntos de contacto y el tiempo que tarda en llegar por éste camino a pulmón atravesando por esófago, veremos que es posible que la respuesta inmunológica en el primer caso se pueda llegar a obtener antes de que el parásito esté en pulmón, y así actuar medicamente antes de que éste dañe los pulmones, mientras que en el segundo caso la detección inmunológica tendría que llevarse a cabo antes de 49 hrs. a partir del momento de infección lo cual resulta muy difícil de lograrse, pero se puede tomar en cuenta para estudios epidemiológicos y considerar el dato para aquellos resultados negativos al antígeno de P. mexicanus.

Por otra parte si observamos los cortes histológicos obtenidos, veremos que se muestra una eosinofilia (no muy marcada) a nivel de esófago, Hoover en 1978, realizó trabajos con P. kellicotti

y observó una marcada eosinofilia en algunos de los puntos por donde penetró la metacercaria para llegar a la cavidad pleural, pero hay que considerar que de acuerdo a la ruta que siguió P. kellicotti en el hospedero, los puntos de contacto fueron varios, mientras que en el caso de P. mexicanus, los puntos de contacto se reducen al menos en éste trabajo, únicamente al esófago (láminas I, II y III) y es probable que eso sea la causa de la baja eosinofilia.

VI. B I B L I O G R A P H Y.

- 6.1 Brenes R., R. Zeledon and G., Rojas (1980). Biological Cycle and Taxonomic position of a Costa Rica Paragonimus and the present status of Paragonimus from the New World. Brenesia 18: 353-366.
- 6.2 Chiasson R.B. (1975). Laboratory Anatomy of the White Rat. Ed. Wm. C. Brown. U.S.A.; 101 p.p.
- 6.3 Cheng T. C. (1973). Current Topics in Comparative Pathobiology, Vol. II. Academic Press. London; 963 p.p.
- 6.4 Fan P. C. and D. K. Khaw (1963), Comparative studies on larval migration of Paragonimus westermani in various experimental animals. Chinese M. ed. J. Republic of China; 10: 207-212.
- 6.5 Gretchen L. H. (1979). Animal Tissue Techniques. W. H. Freeman and Company. U.S.A.; 659 p.p.
- 6.6 Gurr E. (1962). Staining Animal Tissues Practical and Theoretical. Leonard Hill. London; 631 p.p.
- 6.7 Hashiguchi Y., T. Takei and I. Miyazaki (1969). Studies on a single worm infection of albino rats with Paragonimus ohirai Miyazaki, 1939. Jap. J. Parasitol 18 (6): 612-617.
- 6.8 Hashiguchi Y. and T. Takei (1971). Experimental transplantation of Paragonimus miyazakii metacercariae into the pleural cavity of albino rats. Jap. J. Parasitol 20 (1): 67-71.
- 6.9 Hashiguchi Y. (1972). Migration and growth of Paragonimus ohirai and P. miyazakii metacercariae artificially introduced into rats/ Research of the Kochi University Nat. Sci. 21 (8): 1-6.
- 6.10 Hickman C.P. (1973). Biology of the Invertebrates. C.V. Mosby Company. U.S.A.; 757 p.p.

- 6.11 Hoover E. A. and J. P. Debey (1978). Pathogenesis of experimental pulmonary paragonimiasis in cats. Am. J. Vet. Res. 39 (11): 1827-1832.
- 6.12 Ishii Y. (1962). Differential morphology of Paragonimus kellicotti in North America. J. Parasitol 52 (5): 920-925.
- 6.13 Ito J., Yokogawa M., Lamothe R. and Hata H. (1985). Studies on the cercaria of Paragonimus mexicanus in Aroaevirus alleii from Colima México, with special reference to its morphology (Trematoda: Troglotrematidae). Jon. J. Parasitol 34 (2): 71-77.
- 6.14 Junqueira L. C. and S. Carneiro (1977). Basic Histology. Lange. U.S.A. 572 p.p.
- 6.15 Kennedy C. R. (1976). Ecological Aspects of Parasitology. North Holland Publishing. Amsterdam. p.p. 12-137.
- 6.16 Lamothe A.R. y J. Caballero (1976). Paragonimiasis en México. Neumol. Cir. Torax. Mex. 37 (6): 407-427.
- 6.17 Lamothe A.R. J. Caballero y E. Lazaro (1977). Pseudothelphusa (P) dilatata Rathbun (Crustacea: Decapoda) segundo hospedero intermediario de Paragonimus mexicanus (Trematoda). An. Inst. Biol. Nat. Aut. Mex. 48 Ser. Zool. (1): 295-298.
- 6.18 Lamothe A.R., J. Caballero y E. Lazaro (1978) Paragonimiasis. An. Inst. Biol. Nat. Aut. Mex. 49 Ser. Zool. (1): 271-276.
- 6.19 Lamothe A.R., J. Caballero y E. Lazaro (1978). Paragonimiasis experimental en gatos (Felis catus L.) con Paragonimus mexicanus Miyazaki e Ishii 1968. Neumol. Cir. Torax. Mex. 39 (2): 71-80.
- 6.20 Lamothe A.R., J. Caballero y E. Lazaro (1978). Redescrípción de Paragonimus mexicanus Miyazaki e Ishii 1968, obtenidos

- experimentalmente. Neumol. Cir. Torax. Mex. 39 (1): 35-43.
- 6.21 Lamothe A.R., J.Caballero y E. Lazaro (1979). Descripción de la metacercaria de Paragonimus mexicanus Miyazaki e Ishii (Trematoda: Troglotrematidae). Neumol. Cir. Torax. Mex. 40 (3): 179-187.
- 6.22 Lamothe A.R. (1982). Hospederos definitivos e intermediarios de Paragonimus mexicanus Miyazaki e Ishii, 1966, en México. An. Inst. Biol. Nal.-Aut. Mex. 52 Ser. Zool.(1): 39-44.
- 6.23 Lamothe A.R., R. Pineda y O. Meave (1982). Infección natural de Paragonimus. An. Inst. Biol. Nal. Aut. Mex. 52 Ser. Zool. (1): 45-50.
- 6.24 Lamothe A.R. (1983). Introducción a la Biología de los Platermintos. AGI Editor, S.A., México; 143 p.p.
- 6.25 Lamothe A.R., E.A. Malek and O. Meave (1983). Aroapyros allei Morrison 1946 (Gasteropoda: Hydrobiidae) first intermediate host of Paragonimus mexicanus in Colima, México. J. Parasitol 69 (1) 226-228.
- 6.26 Lara N.A. y A. Mena (1913). Hemoptisis endémica de los países tropicales. Rev. Med. Yucatán 1: 1-5.
- 6.27 Lee G. and Luna (1968). Manual of Histologic Staining Methods of Pathology. Mc Graw Hill. New York, London; 258 p.p.
- 6.28 Lee O.R. (1979) A histologic study of lungs infected with Paragonirus westermani in the dog. Korean J. Parasitol 17: 19-44.
- 6.29 Leeson C.R. y T.S. Leeson (1977) Histología. Interamericana. México; 564 p.p.
- 6.30 Lewert R.M. and C.L. Lee (1954). Studies on the passage of helminth larvae through host tissue on extracellular changes

- caused by penetrating larvae. It enzymatic of larvae in vitro and in vivo. J. Inf. Dis. 95: 13-51.
- 6.31 Lumsden R.D. and F. Sogandares-Bernal (1970). Ultrastructural manifestations of pulmonary paragonimiasis. J. Parasitol. 56 (6): 1095-1109.
- 6.32 Macías M.S., J. Rosillo, B. Moncada y A. Aguillón (1969). Paragonimiasis pulmonar (presentación de 4 casos). Neumol. Cir. Torax. Mex. 40 (1): 1-14.
- 6.33 Martínez Báez M. y A. Jiménez Galan (1961). Un caso de trematodiasis pulmonar registrado en México. Rev. Inst. Salub. Enferm. Trop. (Mex.) 21 (3-4): 101-114
- 6.34 Mazzotti L and I. Miyazaki (1965). The first record of adult lung flukes Paragonimus in México (Trematoda: Troglotrematidae). Jap. J. Parasitol 14 (1): 34-36.
- 6.35 Miyazaki I. and Y. Ishii (1968). Studies on the mexican lung flukes with special reference to a description of Paragonimus mexicanus sp. nov. (Trematodo: Troglotrematidae). Jap. J. Parasitol. 17 (5): 445-453.
- 6.36 Miyazaki I., N. Ibáñez and H. Miranda (1969). On a new lung fluke found in Perú, Paragonimus peruvianus sp. nov. (Trematoda: Troglotrematidae). Jap. J. Parasitol 18 (1): 123-130.
- 6.37 Miyazaki I., N. Ibáñez and H. Miranda (1971). Studies on the metacercaria of Paragonimus peruvianus (Trematoda: Troglotrematidae). Jap. J. Parasitol 20 (5): 425-430.
- 6.38 Miyazaki I., T. Kifune and R. Lamothe (1980). Taxonomical and biological studies on the lung flukes of Central América. Dep.

- Parasit. Sch. Med. Fukuoka Univ. Ocass. Publ. (2) I-IX, 1-28 2 pl.
- 6.39 Nakagawa K. (1919). Further notes on the study on the lung distome, Paragonimus westermani. J. Parasitol. 6: 39-46.
- 6.40 Sandground J.H. (1933). Certain helminthic and protozoan parasites of man and animals in Yucatan. In the Peninsula of Yucatán. Med. Biol. Meteorol. and Social. studies published by Carnegie Inst. Washington: 222-242.
- 6.41 Tantalean V., V. Naquira, A. Huiza y E. Delgado (1974). La vía de penetración de la larva de Paragonimus peruvianus en animales de experimentación. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 16 (6): 332-336.
- 6.42 Toussaint M. (1895). Comunicación de un caso raro de distoma pulmonar. Geog. Med. Mex. 32 (21): 488-492
- 6.43 Yokogawa M. (1965). Paragonimus y Paragonimiasis In Advances in Parasitology. B. Dawes. London and New York. Vol. 3 p.p. 99-158, Vol. 7 p.p. 375-387.
- 6.44 Yokogawa M., H. Yoshimura, M. Sano, T. Okura and M. Tsuji (1962). The route of migration of the larva of Paragonimus westermani in the final hosts. J. Parasitol. 48 (4): 525-531.
- 6.45 Yokogawa S., W. Cort and M. Yokogawa (1960) Paragonimus and Paragonimiasis. Exp. Parasitol. 10: 81-205.