

01672
7



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACION

INFECCION EXPERIMENTAL DE *Polygyra* sp COMO
HOSPEDERO INTERMEDIARIO DE *Muellerius*
capillaris in vitro.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS
ES PRESENTADA POR
ALMA ANGELICA HUESCA GUILLEN



TUTOR PRINCIPAL: MA. TERESA QUINTERO MARTINEZ
COMITE TUTORAL: EDNA NARANJO GARCIA
JORGE LECUMBERRI LOPEZ

MEXICO, D.F.

2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

DEDICATORIA

Con gran Amor y gratitud a mi familia:

Miguel

Angélica

Gustavo

Gustavo David

Israel

Esperanza

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

A mis tutores: Dra María Teresa Quintero Martínez, Dra. Edna Naranjo García y Dr. Jorge Lecumberri López, por su valiosa dirección y colaboración en la realización de este trabajo.

Al jurado: Dra María Teresa Quintero Martínez, Dra. Edna Naranjo García, Dr. Jorge Lecumberri López, Dr. Víctor M. Vázquez Prats y Dr. David Herrera Rodríguez, por la revisión y acertadas sugerencias.

Al Dr. Norberto Vega Alarcón, por ser un excelente maestro y amigo.

A Norma, Gris, Mónica y Espiri, por su ayuda y compañerismo.

Al Departamento de Parasitología y a todo su personal, por sus atenciones durante todo este tiempo.

A mis amigos, por su cariño y buenos momentos.

A Abner por su amistad y por su valioso tiempo dedicado, con su ayuda todo fue más rápido y entretenido.

A mis padres, por siempre impulsarme a superarme.

A Miguel por el esfuerzo extra en la veterinaria y por apoyarme con amor en todo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONTENIDO

	Página
I. Resumen	1
Summary	2
II. Introducción	3
2.1 Planteamiento del problema	3
2.2 Revisión de literatura	4
2.2.1 Antecedentes epidemiológicos	4
2.2.2 Agente etiológico	6
2.2.2:1 Clasificación	6
2.2.2:2 Morfología	6
2.2.2:3 Ciclo biológico	7
2.2.2:4 Distribución geográfica	8
2.2.3 Localización	8
2.2.4 Hospederos	8
2.2.4:1 Definitivo	8
2.2.4:2 Intermediario	9
2.2.5 Patogenia y Lesiones	11
2.2.6 Signos clínicos	12
2.2.7 Diagnóstico	12
2.2.8 Tratamiento	12
2.3 Objetivos	13
2.4 Hipótesis	13
III. Material y Métodos	14
3.1 Colección	14
3.2 Cultivo	14
3.3 Obtención de larvas	15
3.4 Infección experimental	15
3.5 Revisión de caracoles, identificación y conteo de larvas	16
3.6 Análisis estadístico	16
IV. Resultados	17
4.1 Cultivo	17

4.2 Revisión de caracoles	17
4.3 Identificación y conteo de larvas	17
V. Discusión	19
VI. Conclusiones	22
VII. Referencias	23
VIII. Cuadros	30
IX. Figuras	33
X. Anexos	40

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Resultados del cultivo in vitro de caracoles <i>Polygyra</i> sp.	30
Cuadro 2.	Caracoles <i>Polygyra</i> sp. revisados postinfección con larvas I de <i>Muellerius capillaris</i> .	30
Cuadro 3.	Numero de larvas de <i>Muellerius capillaris</i> que evolucionaron en caracoles <i>Polygyra</i> sp.	31
Cuadro 4.	Tabla de frecuencia absoluta de larvas II y III de <i>Muellerius capillaris</i> .	31
Cuadro 5.	Número y promedio de larvas de <i>Muellerius capillaris</i> en los 68 caracoles revisados	32

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Recipiente de plástico utilizado como moluscario con adaptación en la tapa para proveer humedad y ventilación.....	33
Figura 2.	Moluscarios dentro del laboratorio.....	33
Figura 3.	Caja de Petri con tierra esterilizada dentro de un moluscario, también se observan hojas de lechuga y hojuelas de avena como alimento.....	34
Figura 4.	Infección de caracoles (<i>Polygyra</i> sp.) con Larvas I (<i>Muellerius capillaris</i>) en cajas de plástico de 1.5 cm de diámetro	34
Figura 5.	Porcentaje de mortalidad de caracoles <i>Polygyra</i> sp. postinfección con larvas I de <i>Muellerius capillaris</i>	35
Figura 6.	Revisión de los caracoles <i>Polygyra</i> sp. expuestos a larvas I de <i>M. capillaris</i>	35
Figura 7.	Número de larvas II y III de <i>Muellerius capillaris</i> identificadas en caracoles <i>Polygyra</i> sp.	36
Figura 8.	Número de larvas II de <i>Muellerius capillaris</i> identificadas en caracoles <i>Polygyra</i> sp.....	36
Figura 9.	Número de larvas III de <i>Muellerius capillaris</i> identificadas en caracoles <i>Polygyra</i> sp.....	37
Figura 10.	Larvas II de <i>Muellerius capillaris</i> por día postinfección en caracoles <i>Polygyra</i> sp.....	37
Figura 11.	Larva II de <i>Muellerius capillaris</i> en el pie de un caracol (<i>Polygyra</i> sp.) (400X).....	38
Figura 12.	Larvas III de <i>Muellerius capillaris</i> por día postinfección en caracoles <i>Polygyra</i> sp.....	39

Figura 13.	Larva III de <i>Muellerius capillaris</i> en el pie de un caracol (<i>Polygyra</i> sp.).....	38
Figura 14.	Larvas II y III de <i>Muellerius capillaris</i> por día postinfección en caracoles <i>Polygyra</i> sp.....	39

LISTA DE ANEXOS

Anexo 10.1 Técnica de Baermann.....	40
Anexo 10.2 Método de infección experimental de los moluscos según Kassai.....	40
Anexo 10.3 Observación de larvas II y larvas III de <i>Muellerius capillaris</i> en diferentes moluscos posterior a la infección, según diversos autores.....	41
Anexo 10.4 Familias de moluscos que intervienen como hospederos intermediarios de <i>Muellerius capillaris</i>	42

I RESUMEN

Infección experimental de *Polygyra* sp. como hospedero intermediario de *Muellerius capillaris in vitro*. Presenta: Alma Angélica Huesca Guillén, MVZ (Tutor principal: Dra. María Teresa Quintero Martínez, Comité tutorial: Dra. Edna Naranjo García y MVZ MC Jorge Lecumberri López).

El objetivo del presente trabajo fue establecer el cultivo *in vitro* de caracoles terrestres del género *Polygyra* sp. para posteriormente determinar si estos caracoles intervenían como hospederos intermediarios de *Muellerius capillaris*, con base en la exposición *in vitro* de los caracoles con las larvas. La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Parasitología, FMVZ, UNAM durante los meses de abril a octubre del año 2000. Se colectaron 64 caracoles terrestres (*Polygyra*) en praderas del poblado de Tepetzingo ubicado en el Municipio de Emiliano Zapata en el estado de Morelos, México. Los caracoles se mantuvieron en moluscarios de plástico con una población de 10 a 15 caracoles. Se destinaron 90 caracoles para la infección con 10 larvas (LI) de *Muellerius capillaris* por caracol durante 3.5 h. Posteriormente, para determinar la evolución de las larvas, se sacrificaron 2 caracoles por día a partir del día 10 postinfección. Los resultados fueron los siguientes: Se contabilizaron 64 ovoposiciones (8 a 12 huevos por puesta) con un período de incubación de 13 a 18 días. De los 90 caracoles expuestos, sólo fue posible revisar 68 (60%), los 22 restantes (40%) murieron. En total se encontraron 100 larvas, de las cuales 52 correspondieron a larvas II y 48 a larvas III. Las larvas II, se observaron desde el día 10 hasta el día 41 postinfección y las larvas III a partir del día 27 hasta el 43 postinfección. En conclusión, se estableció el cultivo *in vitro* de los caracoles del género *Polygyra* sp. Estos sí intervienen como hospederos intermediarios de *Muellerius capillaris*.

Palabras clave: *Muellerius capillaris*, *Polygyra* sp. cultivo, hospedero intermediario.

SUMMARY

In vitro experimental infection of *Polygyra* sp. as intermediate host of the *Muellerius capillaris*. Presented by: Alma Angélica Huesca Guillén, MVZ (Advisor: Dra. María Teresa Quintero Martínez, co-tutors: Dra. Edna Naranjo García y MVZ MC. Jorge Lecumberri López)

The aim of the present study was to establish the *in vitro* culture of *Polygyra* sp. land snails and determine if this genus intervenes as intermediate host of *M. capillaris* by *in vitro* exposition of the snails with larvae. The study was done at the Parasitology Lab. (FMVZ, UNAM) between April and October 2000. Sixty-four land snails (*Polygyra* sp.) were collected at Tepetzingo, Morelos grazing grounds. Ten to fifteen snails were maintained in plastic containers. Ninety mollusks were exposed with 10 larvae (L I) of *M. capillaris* per snail during 3.5 h. To determine the evolution of the larvae, 2 snails per day were euthanized after 10 days postinfection. Results showed 64 egg masses (8 to 12 eggs per egg mass) with 13 to 18 days of incubation period. It was just possible to revise 68 snails (60%), the 22 remaining (40%) die for unknown causes, 100 larvae were found, 52 belong to L II stage and 48 to L III. L II larvae were present since day 10th until day 41th postinfection and L III since day 27th until day 43th postinfection. It is concluded that the culture of the genus *Polygyra* sp. *in vitro* was established. These snails really act as intermediate hosts of *M. capillaris*.

Keywords: *Muellerius capillaris*, *Polygyra* sp., culture, intermediate host.

II INTRODUCCION

2.1 Planteamiento del problema

En México existen alrededor de 9'068,435 de cabezas de ganado caprino, las cuales están dedicadas a la producción de carne. La producción de leche de cabra en el año 2000 fue de 131.2 millones de litros. En el país el Consumo Nacional Aparente (CNA) de carne de caprino en 1999, se estimó que fue de 38,952.2 toneladas.¹

La mayor parte del ganado caprino se encuentra en sistemas extensivos de producción, que con frecuencia se ven afectados por diversas enfermedades parasitarias entre las que destacan las de localización pulmonar.²

Las bronconeumonías verminosas se caracterizan por ser procesos de carácter crónico. Estas infecciones de distribución mundial son importantes desde el punto de vista clínico y económico. Los perjuicios que pueden causar son por una parte, la muerte de los animales y por otra, producen pérdidas por disminución en la producción de carne, leche, lana, retraso en el crecimiento, alteración de la fertilidad y por decomisos en el rastro.^{3,4}

Para el control de estas parasitosis, es necesario adoptar una serie de medidas que incluyen el manejo adecuado de los pastos y de los animales, cuyo objetivo principal es interrumpir el ciclo, primero en los hospederos intermediarios y posteriormente en los definitivos. El tratamiento de estos últimos, debería reducir la eliminación de larvas en las heces; sin embargo, ninguno de los fármacos utilizados, hasta ahora, en los caprinos es totalmente eficaz; debido en parte a las dificultades para actuar sobre los vermes adultos que están localizados profundamente en el parénquima pulmonar.⁵

Es por ello que se consideró aportar datos acerca del ciclo biológico del hospedero intermediario, con el fin de poder plantear nuevas estrategias para el corte del ciclo del parásito.

2.2 Revisión de literatura

2.2.1. Antecedentes epidemiológicos

Las nematodosis pulmonares pueden denominarse también como: bronconeumonías verminosas, bronquitis parasitarias, protostrongilosis, muelleriosis, etc. Están ocasionadas por especies de parásitos pertenecientes a las familias Dictyocaulidae (*Dictyocaulus filaria*) y Protostrongylidae (*Cystocaulus ocreatus*, *Neostrongylus linearis*, *Protostrongylus* spp. y *Muellerius capillaris*)^{2,6,7}

La cabra como la oveja son susceptibles a las infestaciones por pequeños nematodos pulmonares, parásitos que son transmitidos por caracoles y cuya localización en el hospedero definitivo causa problemas en el aparato respiratorio. Aunque la parasitosis por estos gusanos está bastante difundida, su importancia no suele ser muy grave, ya que son poco patógenos por sí mismos.

Muellerius capillaris se presenta con una gran prevalencia en ovinos y caprinos de diferentes partes del mundo variando en las diferentes regiones de acuerdo a las condiciones climatológicas, aunque se presentan con mayor frecuencia en zonas tropicales y subtropicales.⁸

Se han registrado en países del norte de Africa (50 a 80%),⁹ del oeste y sur de Europa, Alemania (45%)⁹, Bélgica (49%)¹⁰ e Inglaterra (90 a 100%).¹¹ También, se ha diagnosticado un 50 a 90% en el norte de la península de España y un porcentaje mayor al 70% en ovejas adultas sacrificadas.⁹ La

intensidad de las infestaciones disminuyen generalmente en la época de sequía y aumentan durante el inicio de las lluvias.¹²

En México el primer hallazgo de *M. capillaris* fue por Acevedo y Bernal, (1978), en el poblado de Tetecalita, Mor. quienes encontraron un 100% en las 40 muestras analizadas.¹³

Valencia, (1983), encontró una frecuencia del 2.4% en 500 pulmones de ovejas y del 26.4% en 500 pulmones de cabras sacrificadas en el rastro de Ferrería, México, D.F. Los animales procedían de los estados de Coahuila, San Luis Potosí, Zacatecas, Chihuahua, Nuevo León y Aguascalientes.¹⁴

Castillo, (1983), observó una frecuencia del 6.28% en 2195 pulmones de ovinos y 5.76% en 10,090 pulmones de cabras sacrificados en el rastro de Milpa Alta, México, D.F. procedentes de los estados de Oaxaca, San Luis Potosí, Zacatecas, Puebla, Guerrero, Querétaro, México, Guanajuato, Hidalgo y Morelos.¹⁵ y George, (1988), quien encontró mediante exámenes coproparasitológicos una frecuencia del 5.0% en ovinos localizados en La Magdalena Soltepec, Tlaxcala.¹⁶

Figuerola, (1995), en un estudio realizado en el poblado de Tetecalita, Mor. encontró una prevalencia promedio anual del 84%.¹⁷

Gaxiola y cols., (1997), encontraron que al estudiar la situación de parasitosis pulmonares en caprinos en la ciudad de Culiacán, Sin.; un 41.3% (19/46) de las muestras analizadas mediante la técnica de Baermann fueron positivas a *M. capillaris*. En el mismo año, Gaxiola, (1997), encontró una prevalencia del 88.9% anual (75.7% febrero y 97.3% en octubre) en 74 cabras adultas en el poblado de Tepetzingo, Mor.¹⁸

2.2.2 Agente etiológico

2.2.2:1 Clasificación.^{9,19,20}

Reino	Animal
Phylum	Nematoda
Clase	Secernentea
Orden	Strongylida
Superfamilia	Metastrongyloidea
Familia	Protostrongylidae
Subfamilia	Muellerinae
Género	<i>Muellerius</i>
Especie	<i>M. capillaris</i>

2.2.2:2 Morfología

Son nematodos de color blanco o ligeramente parduzco.⁶ Los machos miden de 12 a 26 mm de largo y de 0.032 a 0.035 mm de ancho, con su extremidad posterior enrollada en espiral, la bolsa copulatriz está muy poco desarrollada o carece de ella, el gubernáculo está formado por dos rodillos esclerosados de 13 a 14 micrómetros de longitud.^{2,9,21,22} Las espículas miden 0.15 a 0.18 mm, son curvas con la mitad proximal alada y la distal dividida en 2 ramas, que terminan en puntas afiladas.²¹ Las hembras miden de 18 a 30 mm de largo y de 0.04 a 0.05 mm de ancho, la vulva está situada cerca del ano, tiene un pequeño repliegue cuticular sobre su borde posterior.^{9,22,23} La longevidad de este nematodo se estima de 6 años.²⁴ Los huevos miden 100 por 20 micrómetros y no están segmentados.²⁵

Las larvas I (L I) miden de 250 a 280 micrómetros de longitud y de 14 a 15 micrómetros de ancho; su esófago se extiende hasta aproximadamente la mitad de la longitud del cuerpo y se incrementa gradualmente sin llegar a formar un bulbo; el poro excretor se encuentra a nivel del anillo nervioso, casi a la mitad del esófago; el extremo

caudal se ondea y posee una espina dorsal muy característica, dando el aspecto de terminar en doble punta.^{10,21,22,26}

La larva II (L II) mide de 550 a 560 micrómetros de largo y de 37 a 38 micrómetros de ancho. El esófago abarca casi un tercio de la longitud total del cuerpo. El intestino es oscuro por los gránulos alimenticios. La cola mide de 48 a 50 micrómetros de largo, es cónica y la espina dorsal es más pequeña que en la LI.²⁶

La larva III (L III) es de 600 a 620 micrómetros por 36 micrómetros de ancho. El esófago ocupa un tercio de la longitud total del cuerpo. La cola mide 50 micrómetros con terminación cónica. Los gránulos alimenticios en el intestino están disminuidos (a ésta se le conoce como larva preinfectante). La larva III infectante posee una frágil vaina y los gránulos alimenticios desaparecen.^{10,26}

2 2 2:3 Ciclo biológico

El ciclo de estos vermes pulmonares es indirecto siendo los hospederos intermediarios caracoles y babosas. Dentro de los hospederos definitivos, las hembras ponen huevos que se desarrollan en los pulmones, en donde eclosionan las larvas de primer estadio (LI) y migran ascendiendo hasta la faringe, son deglutidas y se eliminan con las heces.²⁷ Las larvas pueden ser ingeridas por el caracol o penetran a través del pie.²⁵ La LI se desarrolla a segunda larva (LII) y finalmente a tercer estado larvario (L III) dentro de los moluscos en un período de 4 ó 12 semanas, hasta 5 meses.^{28,29} El hospedero definitivo se infecta cuando ingiere los caracoles localizados en pastos. Las larvas se liberan de sus vainas por la digestión y penetran en la mucosa, fundamentalmente a nivel de ciego y primeras porciones del colón,

prosiguiendo su desplazamiento por vía linfática, pasando a los nódulos mesentéricos, mudan al cuarto estado larvario y después pasan a los pulmones, en donde abandonan los capilares para alojarse en el parénquima. El período prepatente es de 38-48 días.^{2,27} Las condiciones climáticas intervienen decisivamente en la difusión de estos parásitos, ya que dependiendo de la humedad y de la temperatura es que se desarrollan los hospederos intermediarios.⁶

2.2.2:4 Distribución geográfica

Muellerius capillaris existe en casi en todo el mundo, se encuentra en Estados Unidos, Italia, Francia, España, República Checa, Alemania, Bulgaria, Rusia, Sudáfrica, Israel, Suiza, Australia, Marruecos, Hungría, Nueva Zelanda, México, Perú, Cuba, India y Polonia.^{13,30,31,32,33,34}

2.2.3 Localización

Muellerius capillaris se localiza en el parénquima pulmonar, generalmente debajo de la pleura de los lóbulos diafragmáticos de borregos, cabras y otros rumiantes domésticos y silvestres de todo el mundo.^{21,23}

2.2.4 Hospederos

2.2.4:1 Definitivo

Los hospederos definitivos son el ganado caprino (*Capra hircus*) y el ganado ovino (*Ovis aries*), además de pequeños rumiantes silvestres como el borrego cimarrón (*Ovis canadensis*), el chital (*Cervus axis*), el corzo (*Capreolus capreolus*) y la gamuza o rebeco (*Rupicapra rupicapra*).^{30,35}

2.2 4:2 Intermediario

Según registros de diferentes partes del mundo diversas especies de caracoles y babosas actúan como hospederos intermediarios de nematodos pulmonares, ocupando un lugar importante los moluscos terrestres.³⁶ Para el caso de *Muellerius capillaris* según Cordero, (1989), se han detectado 57 especies de 40 géneros en el mundo;⁷ por su parte Manga y cols., (1986), quienes realizaron un compendio sobre las especies de moluscos que actúan como hospederos intermediarios de los Protostrongylidae, señalan 26 familias diferentes, destacando Helicidae y Polygyridae, entre otras.^{37,38} En infecciones experimentales con este nematodo según Diez *et al.*, en León, España, (1999), las especies más adecuadas en orden decreciente, fueron: *Monacha granulata*, *Cochlicella barbara*, *Cerņuella virgata*, y *Cerņuella cespitum arigonis*, *Helicella itala*, *Helicella ordunensis*, *Cepaea nemoralis* y *Helix aspersa*.⁹ Con respecto al Continente Americano sólo Rysavy, (1969), en Cuba, realizó infección experimental en moluscos como *Polygyra* sp. con larvas de *Muelleris capillaris*.^{31,37}

Desde el punto de vista taxonómico los caracoles terrestres de interes para este estudio se clasifican:

Reino:	Animal
Subreino:	Metazoos
Phylum:	Mollusca
Clase:	Gasteropoda
Subclase:	Pulmonata
Orden:	Stylommatophora
Familias:	Polygyridae y Helicidae

Los moluscos son invertebrados celomados, cuyo cuerpo está constituido por una parte dura o concha y otra blanda, el cuerpo está formado por la cabeza, el pie, el manto y la masa visceral³⁹

Los gastrópodos presentan una cabeza muy desarrollada y un pie muscular ancho y grande, conservando ambas una simetría bilateral, un cuello, un víscero-palio asimétrico encerrado en una concha univalva espiralada⁴⁰

Los Pulmonata son hermafroditas, generalmente con la cavidad del manto anterior vascularizada y formando un pulmón, la concha es espiralada comprimida o ausente⁴⁰

Orden Stylommatophora - Son gasterópodos pulmonados con dos pares de tentáculos invaginables o retráctiles, llevando los ojos el par posterior en su extremo; casi todos terrestres, faltando a veces la concha (limacos o babosas)^{40,41}

Familia Polygyridae - A esta familia pertenecen principalmente caracoles de tamaño mediano (5 a 10 mm), grande (10.5 a 45.3 mm) y algunos pequeños (4 a 4.7 mm). La concha usualmente es de un solo color con tonalidades que van de amarillo a café; la abertura con 1, 2 ó 3 dientes. Estas especies son muy abundantes en regiones húmedas; distribuidas ampliamente en el norte de América, desde Canadá hasta México, Centroamérica y en las islas de Cuba, Bahamas y Bermudas^{41,42}

Género *Polygyra* - La concha es de mediana a grande, generalmente más de 4.5 mm de diámetro y mide de 4 a 18.2 mm de ancho, y tiene de 4.5 a 10 vueltas. La abertura de la concha tiene 2 ó 3 dientes⁴¹

Desde hace mucho tiempo, el hombre ha utilizado como alimento determinadas especies de moluscos terrestres; por tanto existen

diferentes sistemas de cría utilizados, que van desde sistemas rudimentarios al aire libre, hasta los más complejos en naves climatizadas.⁴³ Teóricamente todos los moluscos son comestibles, pero solamente algunos, por su tamaño y por la calidad de su carne, presentan interés desde el punto de vista alimenticio.⁴⁴ Las principales especies de interés para la helicultura son *Helix aspersa* y *Helix pomatia*^{38,39,43,44}

Brabakzai y Miller, (1984), en un estudio citogenético realizado con *Ashmunella proxima* y *A lenticula*, moluscos pertenecientes a la familia Polygyridae mencionan el cultivo de estos caracoles, sin embargo por no ser el objetivo de la investigación, no describen datos acerca del cultivo.⁴⁵

2.2.5 Patogenia y lesiones

La larva III ejerce acción traumática en la pared intestinal, posteriormente a ello, prosigue la acción mecánica obstructiva, descamación epitelial y antigénica en los nódulos linfáticos y también se presenta flujo sanguíneo, generalmente estas acciones ocurren sin mucha significancia. La larva IV ocasiona traumas al salir de los capilares pulmonares para pasar a los alvéolos y parénquima pulmonar. En todos estos procesos, se liberan productos metabólicos que son tóxicos para el hospedero definitivo, lo que puede favorecer la presentación de neumonía por invasión bacteriana secundaria.^{6,9}

Los parásitos adultos de *Muellerius capillaris* producen nódulos necróticos de hasta unos 2 cm de diámetro en alvéolos y parénquima pulmonar, las áreas afectadas contienen numerosas larvas y huevos, los cuales pueden llegar a calcificarse.^{21,25,46} Alrededor de los nódulos se aprecian áreas de colapso alveolar y enfisema, siendo más severo para las lesiones producidas por larvas

I.^{14 47 48} Los nódulos son de consistencia dura, de color variable que va desde gris hasta verde amarillento y ocasionalmente se unen formando masas de hasta 10 cm de diámetro.¹⁴ En infestaciones fuertes son capaces de reducir la resistencia de los pulmones a las infecciones por bacterias y virus.^{19,23}

En infecciones naturales, la muelleriosis ovina y caprina suele ir asociada a otras parasitosis intestinales o hepáticas, además, predispone a contraer otras enfermedades.²

Existen tres zonas concéntricas de reacción alrededor del verme; la zona central está ocupada por polimorfonucleares; la media es rica en células epiteloideas, aunque también contiene polimorfonucleares y la zona externa, contiene fibras elásticas y linfocitos.^{21 46}

2.2.6 Signos clínicos

La muelleriosis es una enfermedad de los rumiantes que afecta las vías respiratorias, cursa con neumonía aguda y se manifiesta con disnea y tos continua. En corderos de más de 6 meses, provoca retraso en el crecimiento y menor condición corporal, acompañados también de signos respiratorios, como hiperpnea y respiración abdominal, con tos frecuente, seca y ronca.^{2,6}

2.2.7 Diagnóstico

El diagnóstico generalmente se realiza mediante la técnica de migración larvaria o técnica de Baermann, aunque puede realizarse por examen de exudado faríngeo y a la necropsia.¹⁰

De acuerdo con Cabaret, (1982), la presencia de menos de 100 larvas por gramo de heces es considerada una parasitosis ligera, de 100 a 300 larvas una parasitosis moderada y más de 300 larvas por gramo de heces representa una parasitosis severa.³⁵

2.2.8 Tratamiento

Los fármacos empleados contra *M. capillaris* no son del todo eficaces, ya que la supresión de eliminación de larvas I después de una desparasitación, no siempre significa la eliminación de los vermes adultos.⁹ Se han utilizado diferentes antihelmínticos como el febantel a dosis de 5 a 10 mg/kg; albendazol a 7.5 mg/kg; mebendazol a dosis de 40 mg/kg; dosis diarias de albendazol a 1 mg/kg o de febendazol 1.21 mg/kg, durante dos semanas, son muy eficaces contra *M. capillaris* en cabras. El oxfendazol a dosis de 10 mg/kg, posee actividad contra nematodos broncopulmonares y cuenta con la ventaja de su baja toxicidad; también se han utilizado la ivermectina y moxidectina a una dosis de 400 µg/kg y 0.2 mg/kg, respectivamente^{9,35,49,50,51}

2.3. Objetivos

- Establecer el cultivo de *Polygyra* sp. en el laboratorio
- Infectar *Polygyra* sp. con larvas de *Muellerius capillaris in vitro*
- Identificar el grado de evolución de las larvas dentro del molusco.
- Contar el número de larvas que penetraron al molusco

2.4. Hipótesis

Polygyra sp. de Tepetzingo, estado de Morelos, actúa como hospedero intermediario de *Muellerius capillaris in vitro*.

III MATERIAL Y METODOS

3.1 Colección

Se colectaron en total 64 caracoles terrestres (*Polygyra* sp.) entre las 8:00 y 11:00 A.M., el 2 y 19 de marzo y el 9 de abril del año 2000 en praderas del poblado de Tepetzingo, Mor. Se transportaron al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, en frascos de vidrio con perforaciones en la tapa. También se tomaron porciones de tierra de la misma zona.

El poblado de Tepetzingo está ubicado en el Municipio de Emiliano Zapata en el estado de Morelos, México, a 18°46' latitud norte y 99°11' longitud oeste, el relieve varía de 800 a 1,450 msnm. El clima es cálido subhúmedo con lluvias en verano (Aw0), la temperatura media anual de 24° a 26°C y la precipitación pluvial es de 800 a 1,000 mm al año distribuidos la mayor parte en los meses de mayo a octubre.⁵²

3.2 Cultivo

Los moluscos colectados (progenitores) se mantuvieron en el laboratorio en recipientes de plástico de 34 x 20 x 10 cm, con adaptación de malla de plástico en la tapa para evitar la huida de los caracoles (moluscarios) (Figuras 1 y 2). La tierra fue previamente esterilizada y se colocó en cajas de Petri dentro de los moluscarios, esta tierra, sirvió como sustrato para la ovoposición. Por cada moluscario se pusieron de 10 a 15 caracoles con una caja de Petri con tierra (Figura 3).

Se alimentaron con lechuga fresca previamente lavada con agua corriente y avena en hojuelas; el cambio de alimento y la limpieza se realizaba tres veces por semana.^{53 54} Para mantener el ambiente húmedo, se colocó una toalla

mojada en la tapa de la caja, así como también la tierra se rociaba con agua cada tercer día. La temperatura ambiente dentro del laboratorio osciló entre 16° y 24°C

Los caracoles que se seleccionaron para la infección con las larvas, fueron obtenidos del grupo de caracoles cultivados desde el 11 de abril hasta el 6 de octubre del 2000, con el objeto de asegurar el contar con caracoles libres de infección natural.

3.3 Obtención de larvas

Se utilizaron larvas I de *Muellerius capillaris* para la infección experimental de los moluscos, éstas se obtuvieron de heces de 20 cabras F1 de las razas Saanen y Nubia infectadas de manera natural. Este rebaño también se localizó en el poblado de Tepetzingo, Morelos.

La colección de las heces se realizó directamente del recto de las cabras en bolsas de plástico, se transportaron en refrigeración al laboratorio de Parasitología (FMVZ-UNAM), en donde se practicó la técnica de Baermann durante 15 h para la obtención de las larvas I, que se obtuvieron el mismo día en que se utilizaron para la infección (Anexo 10 1).⁵⁵

3.4 Infección experimental

La infección se realizó conforme al método recomendado por Kassai, (1957), descrito por Rojo (1973)³ (Anexo 10 2), en cajas de plástico de 15 cm de diámetro, manteniendo en contacto caracoles-larvas durante tres y media horas, a una temperatura de 22°C; colocando 1 caracol por caja.⁵⁶ Cada caracol fue expuesto a la penetración de 10 larvas (Figura 4) En total se trabajó con 90 caracoles cultivados *in vitro* de 5 a 6 5 semanas de edad, midiendo de 5 a 6

mm de diámetro Después de la infección, se colocaron 15 caracoles por moluscario, manteniendo siempre las mismas condiciones microambientales

3.5. Revisión de caracoles, identificación y conteo de larvas

Con base en diversas investigaciones en donde se han empleado diferentes especies de moluscos terrestres incluyendo *Polygyra* sp. para ser infectados experimentalmente con larvas I de *M. capillaris*, se encontró que en la mayoría de los estudios se identificó la presencia de L II a partir del día diez postinfección; se sacrificaron un par de moluscos por día, desde el día 10 hasta el día 43 postinfección, se contó el número de larvas que penetró en cada molusco, se observó el grado de desarrollo de éstas, así como el total de larvas encontradas en todas las etapas (Anexo 10.3) ^{29,31,54,56,57,58,49,60}

El método de sacrificio de los caracoles, se realizó, colocándolos en recipientes de vidrio tapados con papel aluminio, llenos hasta el tope de agua a 40°C con una pizca de tabaco hasta que morían y su cuerpo estaba completamente relajado y fuera de la concha, posteriormente se cortó el pie con ayuda de un bisturí para comprimirlo entre un portaobjetos y dos cubreobjetos, para inmediatamente examinarlos al microscopio en busca de larvas Las larvas encontradas se identificaron según Gerichter (1951).²⁶

3.6 Análisis estadístico

Con los resultados obtenidos se realizó un análisis estadístico descriptivo, utilizando tablas de frecuencia y promedio de larvas por fase evolutiva encontradas en los caracoles ⁶¹

IV RESULTADOS

4.1 Cultivo

El cultivo se inició con 64 caracoles *Polygyra* sp. como progenitores, al cabo de cinco meses sólo quedaron 18 caracoles, registrándose una mortalidad del 71%

Cuando los caracoles estuvieron listos para ovopositar, excavaron un agujero en la tierra, donde depositaron los huevos. En total se registraron 64 puestas, los huevos midieron en promedio 1.0 mm de diámetro y eran de color blanquecino; sólo en dos ocasiones las puestas las realizaron sobre la lechuga.

Cada puesta fue de 8 a 12 huevos, se observó un período de incubación de 13 a 18 días con un 63% de eclosión. Los caracoles en la etapa inicial medían de 1 a 1.5 mm de diámetro y eran transparentes; presentaron un crecimiento de 0.5 a 1 mm de diámetro por semana. Después de cinco u ocho días, los caracoles adquirieron un color pardusco. El porcentaje de mortalidad de los caracoles nacidos dentro del laboratorio fue del 33% (Cuadro 1)

4.2 Revisión de caracoles

En el cuadro 2, se puede observar que de los 90 caracoles expuestos a larvas I, sólo fue posible revisar 68 caracoles; los 22 restantes murieron, registrándose un 32% de mortalidad postinfección (Figuras 5 y 6).

4.3 Identificación y conteo de larvas

De los 68 caracoles revisados, en 41 de ellos (60%), se identificó una larva o más. En los cuadros 3 y 4, se muestran el número de L II y III evolucionadas en los caracoles; observándose con mayor frecuencia la presencia de una larva por caracol (24 caracoles). Cabe resaltar que se observó cinco moluscos con

cinco larvas por caracol, y en dos caracoles se encontraron 10 larvas por molusco (Figura 7).

El cuadro 5 muestra las 100 larvas observadas en los 68 caracoles revisados; de las cuales 52 correspondieron a larvas II y 48 a larvas III, registrándose un promedio de larvas por caracol de 1.47 (Figuras 8 y 9)

Las larvas II se observaron a partir del día 10 hasta el día 41 postinfección (Figuras 10 y 11). Las larvas III fueron observadas desde el día 27 hasta el día 43 postinfección (Figuras 12 y 13). En los días 28, 33 y 41, se identificaron ambos estadios evolutivos de *M. capillaris*. Cabe mencionar que sólo en dos caracoles fue posible identificar tanto larvas II como larvas III en los días 33 y 41 postinfección (Figura 14)

V DISCUSIÓN

Durante los cinco meses que se cultivaron los caracoles en el Laboratorio, la población creció considerablemente (4.2 veces) (Cuadro 1). La mortalidad que se presentó en este periodo se atribuye en parte (51%) a la manipulación de los caracoles en el manejo *in vitro*, el otro porcentaje restante (20%), a que desde el 4 de julio hasta el 15 de agosto de 2000, se observó en los moluscarios la presencia de depredadores: larvas y adultos del orden Diptera de la familia Psychodidae; las larvas de estos depredadores se encontraron dentro del molusco alimentándose de la parte blanda, afectando así el cultivo, registrándose por estas causas, la pérdida de aproximadamente 15 caracoles progenitores. La presencia de estos depredadores, se puede atribuir a la existencia de huevos de estos dípteros sobre la lechuga que se dio como alimento, o simplemente por encontrarse los psicodidos adultos en el ambiente y al realizar la limpieza se introdujeron dentro de los moluscarios. Este problema se controló y finalmente se eliminó, cambiando y esterilizando continuamente la tierra

La mortalidad que se registró en los caracoles nacidos *in vitro* (33%), se debió al estrés provocado por el manejo, hacinamiento y escapes de algunos caracoles pequeños (< 1 mm), que lograron pasar entre la tapa y la boca del moluscario

Una vez que fueron expuestos los caracoles con L I de *M. capillaris*, la mortalidad registrada (32%), se puede atribuir principalmente al estrés causado por el manejo durante la exposición y/o al estado fisiológico e inmunológico del individuo, ya que la mortalidad de estos individuos fue a partir del primer día postinfección hasta el día 13. Cabe señalar que 7 de los caracoles muertos, si fue posible su revisión, observándose la presencia de

larvas, sin embargo, en los 15 moluscos restantes, no se pudo extraer el pie, el cual estaba dentro de la concha o se encontraba de color oscuro, lo que dificultó su examinación

De los caracoles revisados postinfección, se observó que estos sí actúan como hospederos intermediarios de *M. capillaris*, ya que en una buena parte de la población (60%), logró evolucionar a estadio L II y L III. Cabe mencionar que en 24 moluscos sólo se identificó la presencia de una larva por caracol, al respecto, Rysavy, (1969), señala que *Polygyra* sp. al ser un molusco pequeño, estos sólo pueden albergar una reducida cantidad de larvas en su organismo ³¹

El período observado para alcanzar el estadio de L II fue a partir del día 10 postinfección, lo que concuerda con lo señalado por Rysavy, (1969), quien es el único que realizó infección experimental con *Polygyra* sp. en la isla de Cuba. También, en otras investigaciones con varias especies de moluscos terrestres europeos, es señalado por los autores haber encontrado L II de *M. capillaris* entre los días 10 y 15 postinfección, sin embargo, Morrondo y Manga, (1989), encontraron L II de *M. capillaris* a partir de los días 7 y 8 postinfección en caracoles *Ceriuella cespitum arigonis* y *Helix aspersa*, respectivamente

El periodo requerido para alcanzar el estadio evolutivo de L III, fue de 27 días, hallazgo que se encuentra dentro del intervalo de 10 a 33 días postinfección señalado por diversos autores, quienes infectaron de manera experimental caracoles terrestres de la familia Helicidae en Europa y de la familia Polygyridae en Cuba, con larvas I de *M. capillaris* (Anexo 10.3)

En el anexo 10.3, se mencionan trabajos realizados en Europa y Cuba, donde colectaron caracoles del campo, se comprobó la ausencia de infección natural examinando al 10% de los ejemplares, o asumían que estaban libres de larvas por la zona geográfica donde se localizaban; en ninguno de estos trabajos se

cultivaron los caracoles a infectar^{29 31 54 56 57 58 59 60} Por lo anterior, no existe la certeza de que las larvas con diferente estadio evolutivo identificadas en los moluscos infectados en laboratorio, fueran de procedencia experimental o natural. Sí fueran de manera experimental, en el caso de *Ceratomyxa cespitum arigonis* (7 días postinfección para L II) y *Helix aspersa* (10 días postinfección para L III), por el corto tiempo de evolución larvaria, se puede considerar que estos moluscos favorecen ampliamente el ciclo biológico de *M. capillaris*.

En diversas partes del mundo como: Estados Unidos, Italia, Francia, España, República Checa, Alemania, Bulgaria, Rusia, Sudáfrica, Israel, Suiza, Australia, Marruecos, Hungría, Nueva Zelanda, México, Perú, Cuba, India y Polonia, se han identificado larvas de *M. capillaris* en numerosas familias de moluscos pertenecientes al Orden Stylommatophora, Systellommatophora y Basommatophora citadas en el anexo 10 4^{13,30,31,32,33,34 62} Por lo tanto, *M. capillaris* es un nematodo que tiene la capacidad de desarrollar su ciclo biológico en una gran variedad de especies de moluscos de diversas familias y ordenes, tanto terrestres como acuáticos, por lo que epidemiológicamente cobra mucha importancia.

Los nematodos están considerados entre los organismos más abundantes de la tierra, pueden vivir libres en el suelo, agua dulce y salada, o parasitar a plantas, animales invertebrados o vertebrados. Se cree que los nematodos evolucionaron desde épocas ancestrales; tienen por un lado, una gran capacidad de sobrevivir a condiciones ambientales extremas como: temperatura, humedad y tiempo. Por otro, el exitoso mecanismo de sobrevivencia de los nematodos, se debe en particular a su facilidad de adaptación a diversos hospederos, sean considerados como intermediarios,

vectores o definitivos. Es necesario resaltar que debe de existir un equilibrio en la interacción entre el parásito, el hospedero y el ambiente.^{63,64,65,66,67}

VI CONCLUSIONES

- El cultivo *in vitro* de caracoles del género *Polygyra* sp, fue exitoso, con base en el manejo adecuado de las condiciones ambientales.
- Las larvas de *Muellerius capillaris* lograron evolucionar hasta llegar al estado infectante bajo condiciones de laboratorio dentro de los caracoles terrestres del género *Polygyra* sp. de Tepetzingo, Morelos; por lo tanto este molusco sí se puede considerar como hospedero intermediario de este nematodo
- Se resalta que es posible encontrar las fases evolutivas II y III del nematodo en un mismo período y en un mismo caracol.

Después de conocer que *Polygyra* sp. también puede participar como hospedero intermediario de *M. capillaris*, información que puede ser aplicada en los diferentes programas de prevención y control del nematodo

vectores o definitivos. Es necesario resaltar que debe de existir un equilibrio en la interacción entre el parásito, el hospedero y el ambiente.^{63,64,65,66,67}

VI CONCLUSIONES

- El cultivo *in vitro* de caracoles del género *Polygyra* sp, fue exitoso, con base en el manejo adecuado de las condiciones ambientales.
- Las larvas de *Muellerius capillaris* lograron evolucionar hasta llegar al estado infectante bajo condiciones de laboratorio dentro de los caracoles terrestres del género *Polygyra* sp. de Tepetzingo, Morelos; por lo tanto este molusco sí se puede considerar como hospedero intermediario de este nematodo
- Se resalta que es posible encontrar las fases evolutivas II y III del nematodo en un mismo período y en un mismo caracol.

Después de conocer que *Polygyra* sp. también puede participar como hospedero intermediario de *M. capillaris*, información que puede ser aplicada en los diferentes programas de prevención y control del nematodo

VII REFERENCIAS

- 1 Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación Sistema de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) México (D F): SAGARPA, 2001.
- 2 Morrondo PMP, Díez BP, Panadero R y López C. Nematodosis pulmonares de los pequeños rumiantes. Cien. Vet (serie en línea) (citada en abril de 1999). Available from: <http://www.colvet.es/infovet/abr99/ciencias-v/articulo/htm>.
- 3 Rojo VFA. Bronconeumonías verminosas en León, con especial atención al ciclo biológico de *Neostrongylus linearis* An. Fac. Vet. León. 1973; 19:147-197
- 4 Cuellar OA Interpretación del diagnóstico parasitológico en cabras. Memorias VII Congreso Nacional; 1990; Culiacán (Sinaloa) México México (D F): Asociación Mexicana de Médicos Zootecnistas y Técnicos en Caprinocultura AC, 1990: 47-50
- 5 Díez BP, Morrondo PMP, Carrillo GEB, López SC, Feijoo PA Evaluación de la aplicación del albendazol contra nematodos pulmonares en ovinos en el noroeste de España. Vet Mex. 1995; 26: 117-121
- 6 Borchet A. Parasitología Veterinaria España: Acribia, 1981
- 7 Cordero-del- Capillo M, Castaño OL Epidemiology of ovine protostrongylidosis Pro Vet 1989; 9:2-3
- 8 Gaxiola CSM, Borbolla IJE, Pérez CJA, Cabrera VJA y Rubio RMC Situación de las parasitosis pulmonares y hepáticas de caprinos en Culiacán Sinaloa. Memorias de XII Congreso Nacional de Buiatría; 1997 julio 9-12; Colima (Colima) México México (D F): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1997:533-534
- 9 Díez BP, Morrondo PMP y Díez BN. Protostrongilidosis En: Cordero DCM, Rojo VFA, Martínez FAR, Sánchez AMC, Navarrete LCI, Díez BP, Quiroz RH, Carvalho VM, editores. Parasitología Veterinaria España: Mc Graw Hill, 1999: 384-395.

- 10 Benakhla A. Pneumonie vermineuse ovine á *Muellerius capillaris* ou Mulleriose ovine. Ann. Méd. Vet 1981; 125: 177-189.
- 11 Thomas Jm, Valerie JN, Boag B. The incidence of lungworm infection in sheep in North-East England. Vet Res 1970; 87:70-75.
- 12 Rosas MJE. Revisión Bibliográfica de las verminosis pulmonares de los animales domésticos (tesis de licenciatura) México, D F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1980
- 13 Acevedo HA, Bernal I. Hallazgo de *Muellerius capillaris* en caprinos de México. Ira. Reunión anual de Parasitología Veterinaria AC, 1978:48
- 14 Valencia GME. Frecuencia de *Muellerius capillaris* y Descripción de lesiones pulmonares (tesis de licenciatura) México, D F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1983.
- 15 Castillo MMA. Prevalencia de *Muellerius capillaris* en ovinos y caprinos sacrificados en el rastro de Milpa Alta (tesis de licenciatura) México, D F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1983
- 16 George SS. Frecuencia de parásitos gastrointestinales, pulmonares y hepáticos en ovinos de la Magdalena, Soltepec, Tlaxcala (tesis de licenciatura). México, D F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1988
- 17 Figueroa CJA. *Muellerius capillaris* en cabras. Eliminación de larvas hospederos intermediarios y su relación con factores climáticos (tesis de maestría) México, D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1995
- 18 Gaxiola CSM. Infestación natural por *Muellerius capillaris* en cabras, moluscos intermediarios y su relación con factores climáticos, en Tepetzingo, Morelos, México (tesis de maestría) México, D F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1997
- 19 Lapage G. Parasitología Veterinaria. México: Continental, 1971

- 20 Olsen OW. Animal Parasites: Their biology and life cycles. Minnesota USA Burgess Publishing Company 1962.
- 21 Quiroz RH. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. México: Limusa, 1984.
- 22 Kassai I. Larvae of protostrongylins in snails. Acta. Vet Hung. 1958; 8: 223-236.
- 23 Rojo VJ. Las relaciones entre Protostrongylinae y bacterias aerobias en el pulmón ovino. Ann. Fac. Vet León. 1975; 21: 51-101.
- 24 Morrondo PMP, Cordero DCM, Rojo VFA, Díez BP. Cinética de la eliminación larvaria en bronconeumonías verminosas ovinas. An. Fac. Vet León 1978; 24:39-45.
- 25 Soulsby E.J.L. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos 7ª ed. México: Interamericana, 1987.
- 26 Gerichter Ch B. Studies on the lung nematodes of sheep and goats in the Levant. Paras. 1951; 41: 166-183.
- 27 Levin N. Tratado de Parasitología Veterinaria. España: Acribia, 1978.
- 28 Solomon A, Paperna I, Glazer I and Alkon PU. Migratory behaviour and desiccation tolerance of protostrongylid nematode first-stage larvae. Int. J. Parasit. 1997; 27: 1517-1522.
- 29 Morrondo PMP, Díez BP and Cabaret J. Influence of desiccation of faeces on survival and infectivity of first-stage larvae of *Muellerius capillaris* and *Neostromylus linearis*. J. Helm. 1992; 66: 213-219.
- 30 Romaswamy K, Arora BM. Prevalence of *Muellerius capillaris* in free-ranging spotted deer (*Cervus axis*) in India and its experimental cross-transmission to goats. Wild. Diss. 1991; 27:104.
- 31 Rysavy B. Ciclo evolutivo del helminto pulmonar *Muellerius capillaris*. Tor. Nue. 1969; 6:3-12.

32. Sattlerova A. The resistance of first stage larvae of *Muellerius* spp and *Neostrongylus linearis* (from the feces of chamois, *Rupicapra r. tatraica*) to different physical factors under laboratory and natural conditions. Helmin 1982; 19:152-160.
- 33 Urban E. Studies on lung nematodes (Protostrongylidae, Dictyocaulidae) in sheep of the Podhale region, Tatra Highland II intermediate hosts of Protostrongylidae. Acta Parasit Polon Vol XCVIII. 1980; 9:63-74
- 34 Young JD, Griffith JW. Spontaneous *Pasteurella pneumonia* in adult laboratory goats complicated by superinfection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* and *Muellerius capillaris*. Lab Anim. Scie. 1985; 35:409-411.
- 35 Cabaret J. Les protostrongylidoses des caprins. La Chèvre. 1982; 132: 41-46
- 36 Cabaret J. Age susceptibility of molluscan intermediate hosts to protostrongylid nematodes. J Parasit 1987; 73:857-858.
- 37 Manga GMY, Morrondo PMP y Cordero DCM. Moluscos hospedadores intermediarios de Protostrongylidae ovinos. España: Editorial de la Universidad de León, 1986.
- 38 Cuellar CR, Cuellar CL, Pérez GT. Helicicultura cría moderna de caracoles. España: Mundi-prensa, 1986
- 39 Gallo G. El caracol: cría y explotación. 2ª ed. España: Mundi-Prensa, 1984
- 40 Marshall AJ, Williams WD. Zoología de invertebrados. 7ª ed. España: Reverté, 1985
- 41 Burch JB. How to know the eastern land snails. U.S.A.: Brown Company Publishers, 1962.
- 42 Parker, SP. Synopsis and classification of living organisms. U.S.A.: McGraw-Hill, 1982.

43. Fontanillas JC, García CI. Sistemas de cría en Helicicultura. España: Mundi-Prensa, 1994.
44. Mainardi FF. Cría rentable del caracol. España: De Vecchi, 1987.
45. Babrakzai N and Miller WB. Cytogenetic study of interspecific hybrids of *Ashmunella* (Mollusca: Pulmonata: Polygyridae), I. *A. proxima* X *A. lenticula* F1 hybrids. *Malacología*. 1984; 25:413-426.
46. Stephano HA. Estudio de los cambios macroscópicos e histológicos observados en pulmones de caprinos y ovinos infectados naturalmente por *Muellerius capillaris*. Memorias de la Primera Reunión Anual de Parasitología Veterinaria; 1980; México D.F. México (D.F.): Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria, AC, 1980.
47. Nimmo JS. Six cases of verminous pneumonia (*Muellerius* sp.) in goats. *Can. Vet. J.* 1979; 20: 49-52.
48. Ogassawara S, Benassi S, D'Angelino JI y Pereira De Araujo W. *Muellerius capillaris* como un agente de pneumonia helmintica en caprinos. *Arqu. Esc. Vet.* 1982; 34: 109-116
49. Sánchez AC, Castillo HJA y Gutiérrez GJ. Effect of febantel on different species of lungworms. *Vet. Med. Rev.* 1980; 1:27.
50. Suteu E, Bachcivangi S, Rotaru O, Cozma V, Matas D, Bozdog C and Helus D. Epizootiological, clinical, therapeutic and laboratory studies on *Muellerius capillaris* infection in goats. *Semin. Actual. In Path. Anim. Dom* 1987; 18: 223-231.
51. Quiroz RH y Rodríguez B. Valoración de la efectividad del albendazol contra *Muellerius capillaris* en cabras. Memorias de la Primera Reunión de Parasitología Veterinaria; 1980; México D.F. México (D.F.): Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria, AC, 1980: 36.
52. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Comisión Técnica Consultiva para la determinación regional de los coeficientes de agostadero. Coeficientes de Agostadero de la República Mexicana 1979.

53. Cabaret J, Weber H, Girard R. Dual or single infection of the terrestrial snail *Solatopupa similis* with two protostrongylid nematodes, *Muellerius capillaris* and *Neoststrongylus linearis*. *Ann Rech Vet* 1990; 21: 131-136.
54. Morrondo PMP, Codero DCM, Díez BP, Manga GMY. Infestación experimental de tres *Cerutuella* spp. con larvas de *Muellerius capillaris* y *Neoststrongylus linearis*. *An Fac. Vet León* 1980; 26: 107-123.
55. Cabaret J, Dakkar A, and Bahaida B. A technique for the evaluation of the number of lungworm first stage larvae in sheep faeces. *Br. Vet J* 1980; 136:296-298.
56. Morrondo PMP and Manga GY. Experimental study on the susceptibility of five helicidae species to larvae of protostrongylinae. *Mal* 1982; 22: 23-28.
57. Manga GMY, Morrondo PMP. Experimental infection by ovine *Muellerius capillaris* larvae of five species of molluscs. *Ann. Parasitol. Hum. Comp* 1989; 1: 30-41.
58. Manga GMY and Morrondo PMP. Joint larval development of *Cystocaulus ocreatus/Muellerius capillaris* and *C. ocreatus/Neoststrongylus linearis* in six species of helicidae experimentally infected. *Angew. Parasitol.* 1990; 31: 189-197.
59. Manga GMY, Morrondo PMP: Development of *Muellerius capillaris* larvae in three *Helicella* species under laboratory conditions. *Helm* 1989; 26: 21-23.
60. Morrondo PMP, Manga GMY. Infestación experimental con *Muellerius capillaris* y *Neoststrongylus linearis* de algunas especies de moluscos terrestres. *Rev Iber Parasitol* 1989; 49: 233-240.
61. Daniel WW. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. 3ª ed. México: Limusa 1993.
62. Vaught. The classification of the living mollusca. U.S.A.: American Malacologists Association, 1989.

- 63 Chitwood BC, Chitwood MB Introduction to Nematology. U S A.: University Park Press, 1974
- 64 Croll NA, Mathews BE Biology of Nematodes. U K.: Blackie, 1977
65. Dunn AM Helminología Veterinaria, 2ª Ed México: El Manual Moderno, 1983.
- 66 Thomas RJ. The ecological basis of parasite control: Nematodes Vet Parasitol 1982;11:9-24.
67. Gibbs HC Mechanisms of survival of nematode parasites with emphasis on hypobiosis Vet Parasitol. 1982;11:25-48

VIII CUADROS

Cuadro 1
Resultados del cultivo *in vitro* de caracoles *Polygyra* sp.

PROGENITORES	
Población inicial	64 caracoles
Mortalidad	71%
▪ Manejo	51%
▪ Depredadores	20%
Población final	18 caracoles
Período de cultivo	Marzo-Agosto, 2000
FASE REPRODUCTORA	
Fecha de primera ovoposición	Abril, 2000
Ovoposiciones	64
Huevos por puesta	8 a 12
Período de incubación	13 a 18 días
Crecimiento del caracol	0,5 a 1.0 mm/sem
Mortalidad de caracoles nacidos	33%
PRIMERA GENERACIÓN	
Población nacida	403 caracoles
Población sobreviviente	270 caracoles
Tamaño de muestra seleccionada para el estudio	90 caracoles

Cuadro 2
Caracoles *Polygyra* sp. revisados postinfección con larvas I de *Muellerius capillaris*

Caracoles expuestos a LI	90
▪ Revisados	68
▪ No revisados	22
Caracoles revisados	68
▪ Sacrificados	61
▪ Muertos	7

Cuadro 3
Número de larvas de *Muellerius capillaris* que evolucionaron en caracoles *Polygyra* sp.

Número de larvas II y III por caracol	Número de caracoles	Total de larvas
1	24	24
2	6	12
3	2	6
4	1	4
5	5	25
9	1	9
10	2	20
	41	100

Cuadro 4
Tabla de frecuencia absoluta de larvas II y III de *Muellerius capillaris*

Número de larvas por caracol	Número de caracoles	Porcentaje
0	27	39.7
1	24	35.3
2	6	8.8
3	2	2.9
4	1	1.4
5	5	7.3
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	1	1.4
10	2	2.9
n	68	

Cuadro 5
Número y promedio de larvas de *Muellerius capillaris*
en los 68 caracoles revisados

	L II	L III	Número total de larvas
Número de larvas	52	48	100
Promedio de larvas x caracol	0 76	0 70	1 47

IX FIGURAS

Figura 1

Recipiente de plástico utilizado como moluscario con adaptación en la tapa para proveer humedad y ventilación.

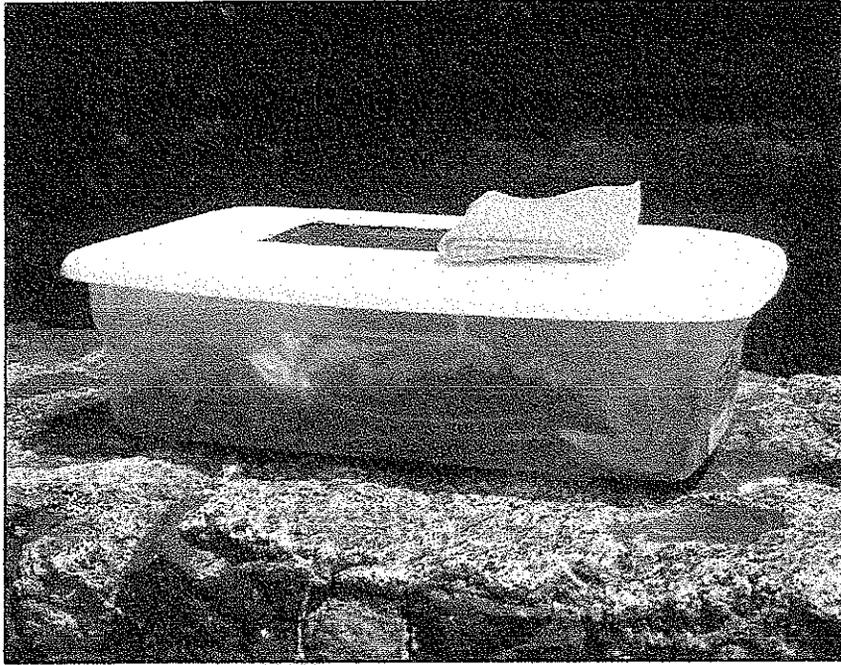


Figura 2

Moluscarios dentro del laboratorio

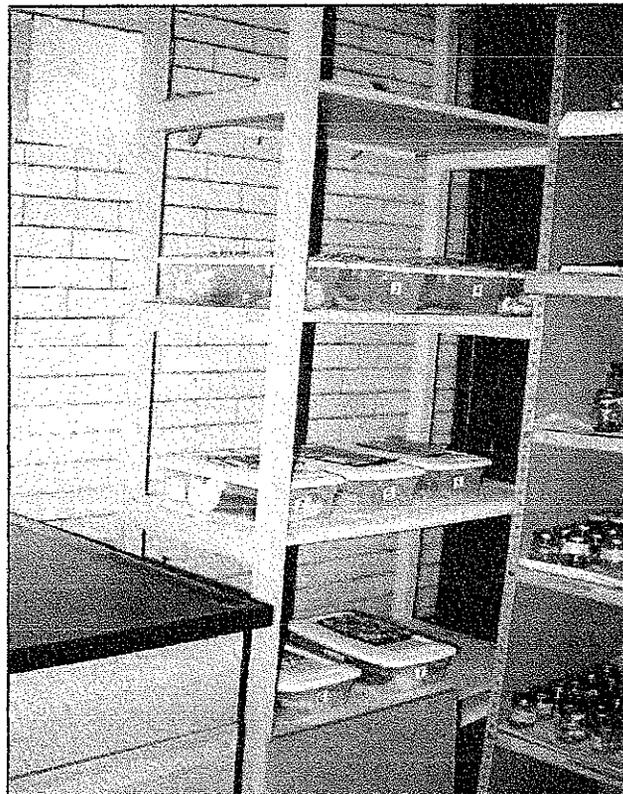


Figura 3

Caja de Petri con tierra esterilizada dentro de un moluscario, también se observan hojas de lechuga y hojuelas de avena como alimento



Figura 4

infección de caracoles (*Polygyra* sp.) con Larvas I (*Muellerius capillaris*) en cajas de plástico de 1.5 cm de diámetro

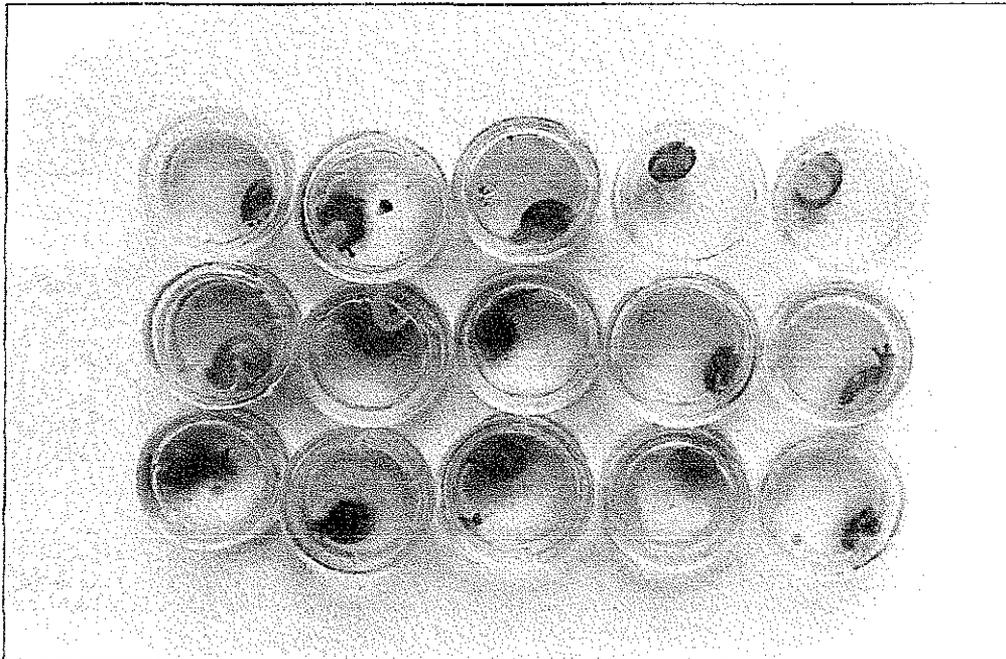


Figura 5
Porcentaje de mortalidad de caracoles *Polygyra* sp. postinfección con larvas I de *Muellerius capillaris*

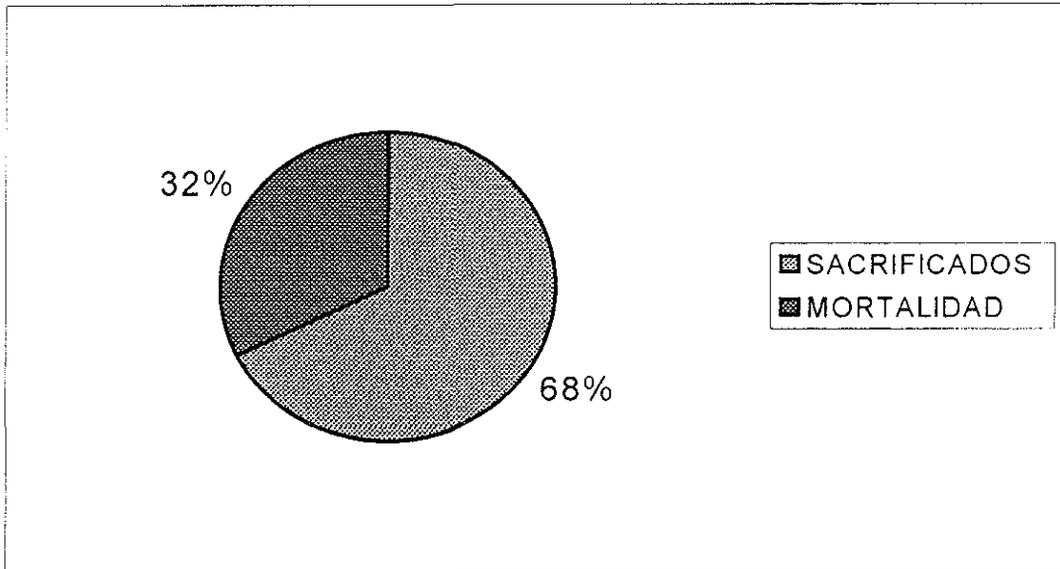


Figura 6
Revisión de los caracoles *Polygyra* sp. expuestos a larvas I de *M. capillaris*

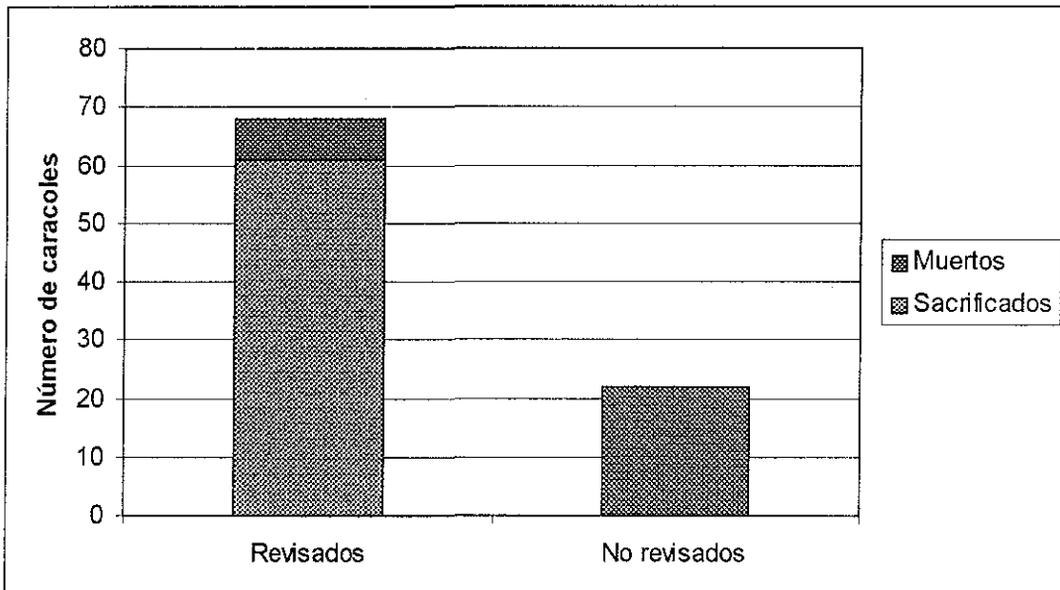


Figura 7
Número de larvas II y III de *Muellerius capillaris*
identificadas en caracoles *Polygyra* sp.

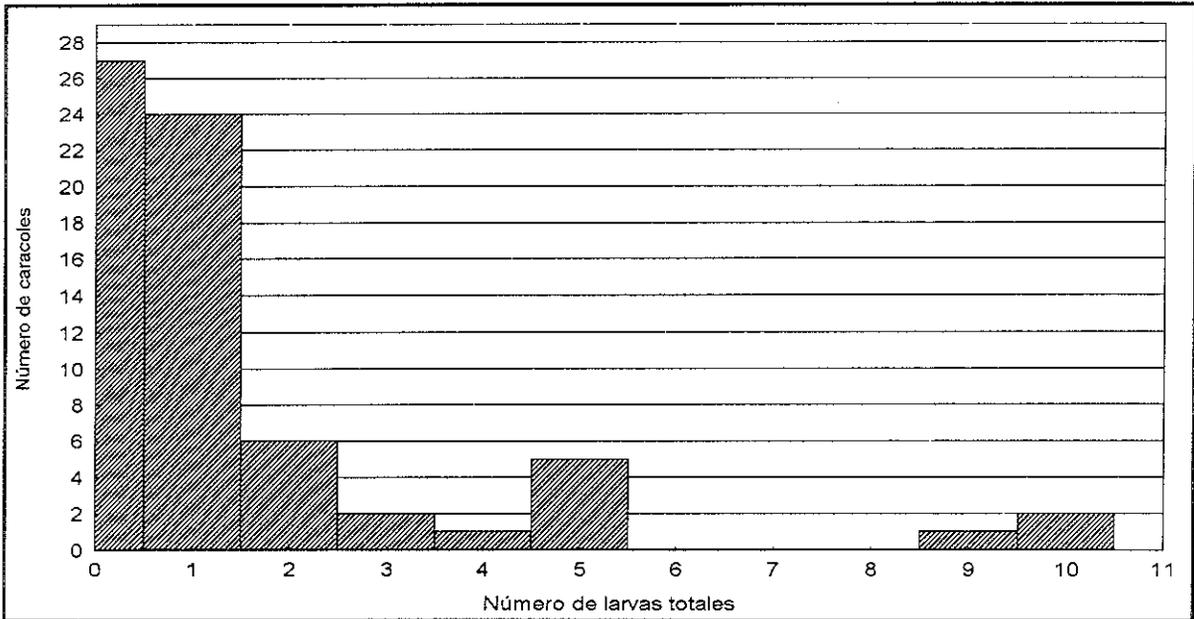
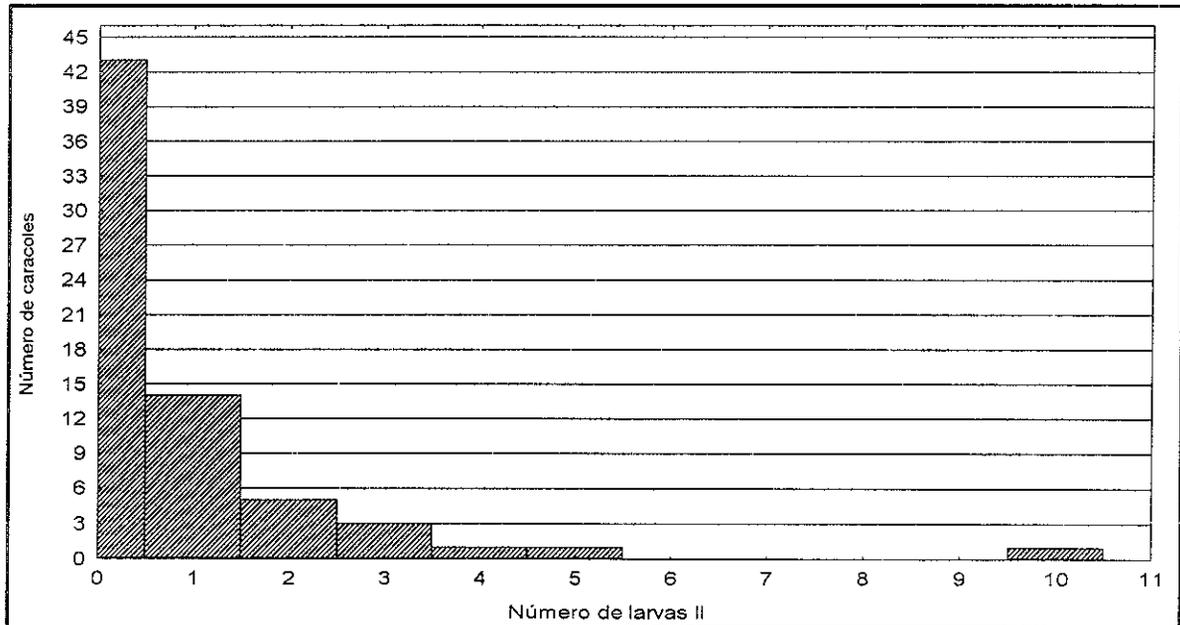


Figura 8
Número de larvas II de *Muellerius capillaris*
identificadas en caracoles *Polygyra* sp.



TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Figura 9
Número de larvas III de *Muellerius capillaris*
identificadas en caracoles *Polygyra* sp.

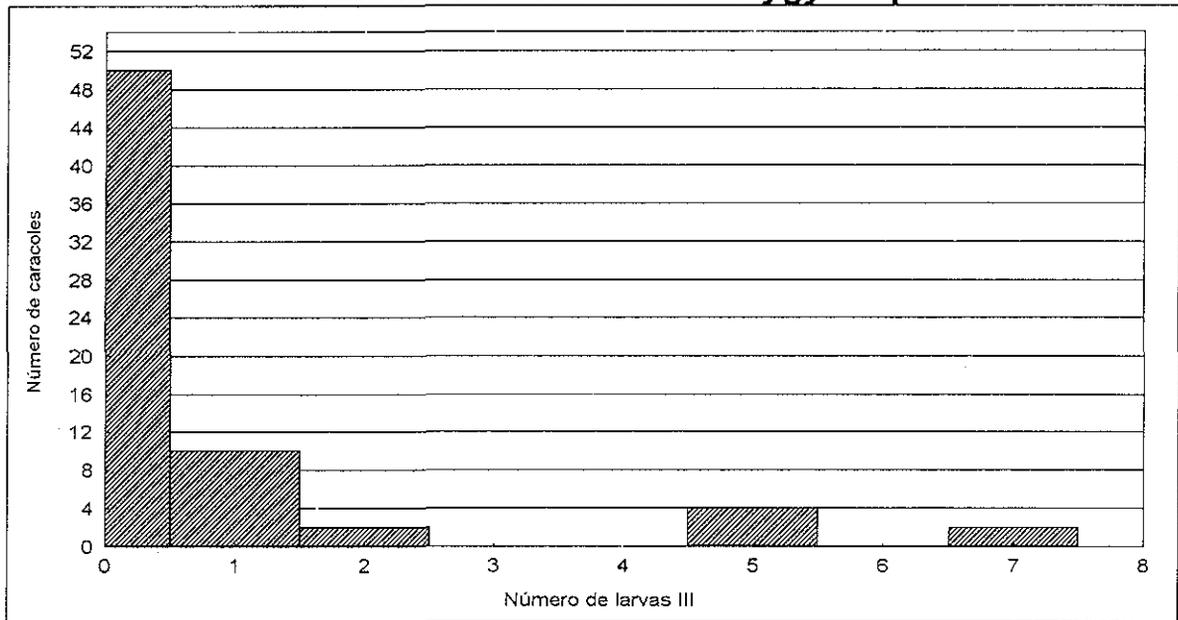
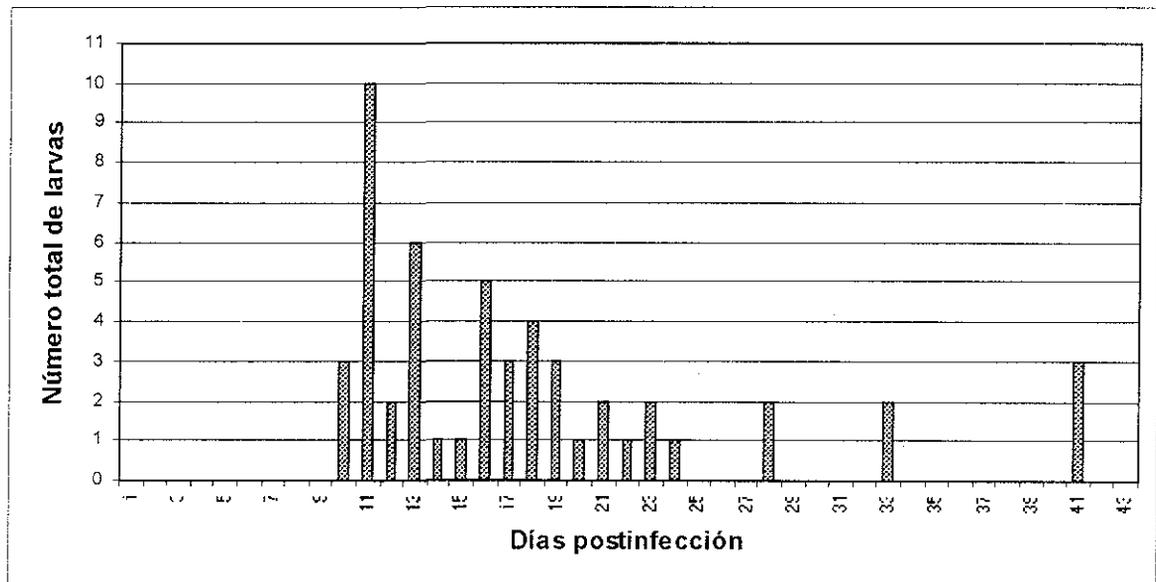


Figura 10
Larvas II de *Muellerius capillaris* por día postinfección en
caracoles *Polygyra* sp.



TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Figura 11

Larva II de *Muellerius capillaris* en el pie de un caracol (*Polygyra* sp.) (400X)

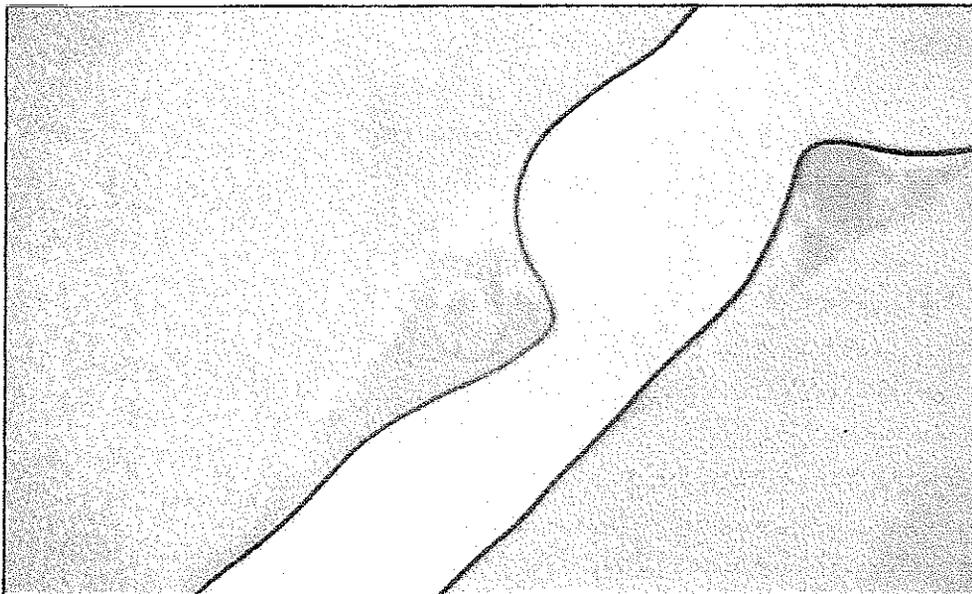
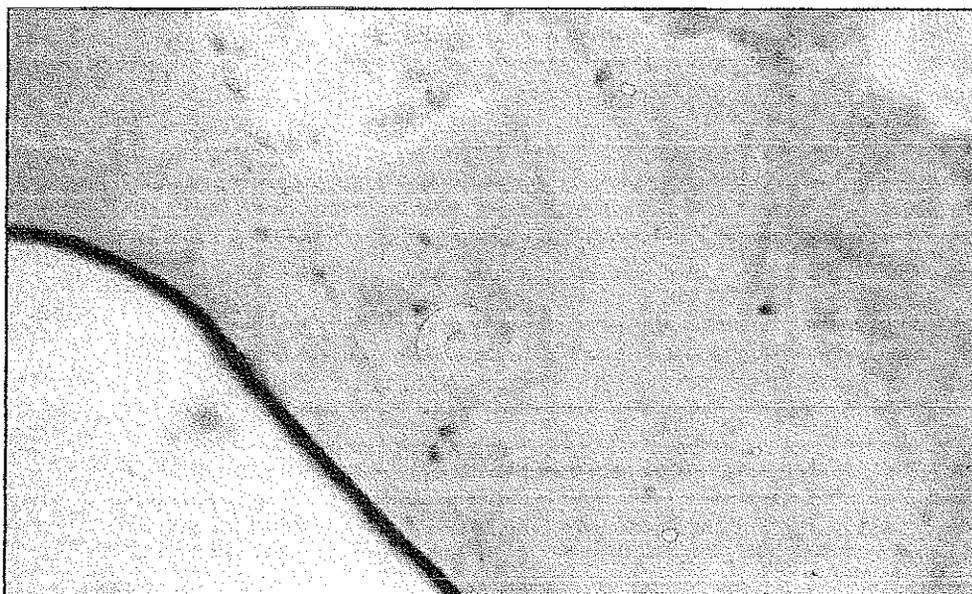


Figura 13

Larva III de *Muellerius capillaris* en el pie de un caracol (*Polygyra* sp.) (400X)



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 12
Larvas III de *Muellerius capillaris* por día postinfección en caracoles *Polygyra* sp.

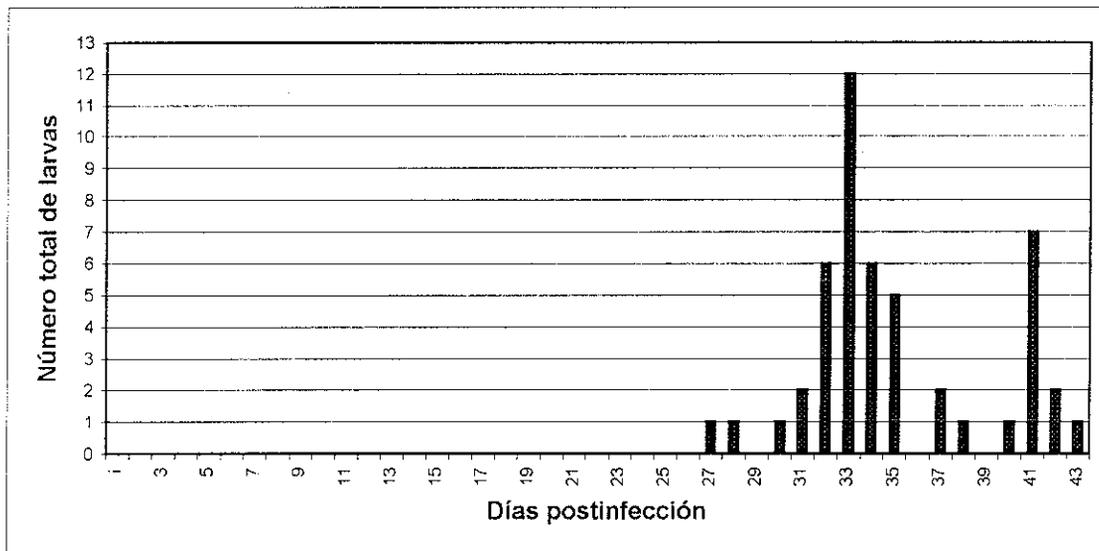
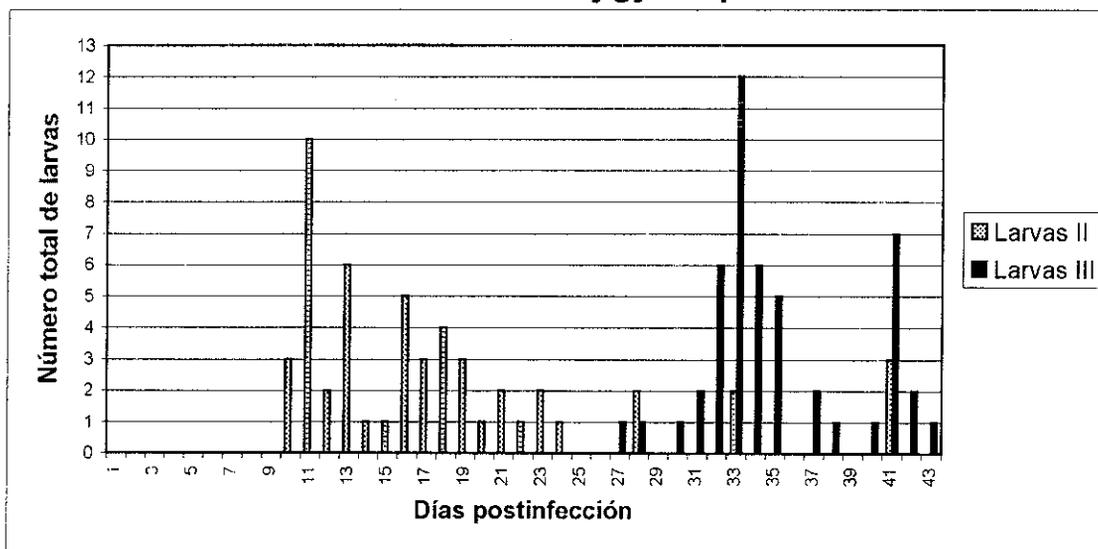


Figura 14
Larvas II y III de *Muellerius capillaris* por día postinfección en caracoles *Polygyra* sp.



ESTA TESIS NO SALE
 DE LA BIBLIOTECA

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

X ANEXOS

10.1 Técnica de Baermann

Se depositan de 3 a 5 gramos de materia fecal sobre una gasa, la que estará sobre una coladera, y esta a su vez sobre un embudo que tiene en su extremo inferior una manguera de látex cerrada con una pinza mohr. Se agrega agua tibia por las paredes del embudo hasta que tape la mitad de la muestra, dejándose reposar durante 8 horas, después de este tiempo se afloja la pinza mohr para tomar de 0.5 a 1 ml de líquido en un vidrio de reloj, se observa en el microscopio estereocópico en busca de larvas.

10.2 Método de infección experimental de los moluscos según Kassai

- Extracción de las larvas por el método de Baermann
- Concentración del líquido obtenido.
- Extensión de las larvas extraídas, con un poco de agua, sobre el fondo de una placa de Petri
- Colocación del molusco sobre las larvas
- La prueba debe realizarse a temperatura ambiente.
- No poner gran cantidad de líquido en la placa, sino el suficiente para que este húmeda

10.3 Observación de larvas II y larvas III de *Muellerius capillaris* en diferentes moluscos posterior a la infección, según diversos autores

Autor	Moluscos	Días postinfección	
		L II	L III
Familia Helicidae			
	Especie		
Morrondo y Manga, 1989 ³⁸	<i>Cochlicella barbara</i>	10	19
	<i>Cepaea nemoralis</i>	11	28
	<i>Cerņuella cespitum arigonis</i>	7	13
	<i>Helicella itala</i>	15	25
	<i>Helicella ordunensis</i>	14	25
	<i>Helix aspersa</i>	8	10
Manga y Morrondo, 1990 ³⁵	<i>Cochlicella barbara</i>	13	20
	<i>Cepaea nemoralis</i>	11	23
	<i>Cerņuella cespitum arigonis</i>	12	18
	<i>Helicella itala</i>	11	22
	<i>Helicella ordunensis</i>	10	19
	<i>Helix aspersa</i>	13	33
Manga y Morrondo, 1989 ³⁶	<i>Cepaea nemoralis</i>	10	18
	<i>Euomphalia brigantina</i>	10	15
	<i>Helix aspersa</i>	11	26
	<i>Oestophora barbula</i>	10	29
	<i>Ponentina ponentina</i>	10	28
Morrondo y Manga, 1982. ³³	<i>Cerņuella vestita</i>	14	29
	<i>Cochlicella barbara</i>	11	20
Manga y Morrondo, 1989. ³⁷	<i>Helicella ordunensis</i>	11	16
Morrondo y cols , 1992. ¹⁸	<i>Candidula intersecta</i>	10	12
Morrondo y cols , 1980. ³¹	<i>Cerņuella cespitum arigonis</i>	10	14
Familia Polygyridae			
Rysavy, 1969. ²⁰	<i>Polygyra</i> sp.	10	12

10.4 Familias de moluscos que intervienen como hospederos intermediarios de *Muellerius capillaris*

ORDEN STYLOMMATOPHORA	<i>Pupillidae</i>
<i>Arionidae</i>	<i>Subulinidae</i>
<i>Bradybanidae</i>	<i>Succineidae</i>
<i>Clausiliidae</i>	<i>Trigonochlamydidae</i>
<i>Cochlicopidae</i>	<i>Vallonidae</i>
<i>Chondrinidae</i>	<i>Vertiginidae</i>
<i>Endodontidae</i>	<i>Vitrinidae</i>
<i>Enidae</i>	<i>Zonitidae</i>
<i>Euconulidae</i>	ORDEN SYSTELLOMMATOPHORA
<i>Helicidae</i>	<i>Veronicellidae</i>
<i>Limacidae</i>	ORDEN BASOMMATOPHORA
<i>Milacidae</i>	<i>Lymnaeidae</i>
<i>Oleacinidae</i>	<i>Physidae</i>
<i>Parmacellidae</i>	<i>Planorbidae</i>
<i>Polygyridae</i>	