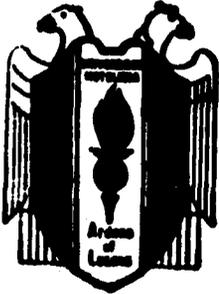


302827

15
24



UNIVERSIDAD MOTOLINIA, A. C.

ESCUELA DE QUIMICA
CON ESTUDIOS INCORPORADOS A LA U.N.A.M.

ESTUDIO EPIZOOTIOLÓGICO DE LA PREVALENCIA
DE PROTOZOOS Y HELMINTOS EN
RATONES DE BIOTERIOS

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
GABRIELA GUTIERREZ MAGALLON

MEXICO, D. F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

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.

A MIS PADRES

RAYMUNDO y MERCEDES

Porque son las personas más importantes en mi vida. A las personas que con tanto valor, amor y resignación supieron afrontar lo que la vida les dió. Por enseñarme a valorar todas las cosas por pequeñas que fueran y, a luchar por conseguir lo que uno quiere sin dejarse vencer jamás.

A MIS HERMANOS RAYMUNDO, ANDRÉS,

LAURA Y GERARDO

**Cuando llegues a un sitio difícil y todo
parezca estar en tu contra, hasta que
tengas la impresión de que ya no puedas
resistir ni un minuto más ...**

**¡Jamás renuncies en ese momento!
Porque esos son, justamente el lugar y
el momento en que cambiará la marea ...**

AL DR. EN C.

BENJAMIN NOGUEDA TORRES

**Con infinito agradecimiento, por
su apoyo y valiosa asesoría en
la elaboración de este trabajo.**

**Con gratitud a todos
mis Profesores por haberme
brindado conocimientos.**

A MIS FAMILIARES

Y AMIGOS :

**Gracias por recordarme en
todo momento el compromiso
de concluir mis estudios.**

EL PRESENTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA DE LA
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLOGICAS
DEL INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL. BAJO
LA DIRECCION DE LA M.V.Z. MARIA
CANDELARIA SALINAS ANAYA Y DEL DR. EN C.
BENJAMIN NOGUEDA TORRES.

INDICE

CAPITULO I.

1. INTRODUCCION

1.1 Planteamiento del problema.	1
1.2 Objetivo general.	2
1.2.1 Objetivos específicos.	2

CAPITULO II.

2. ANTECEDENTES.

2.1 Fundamentos.	3
2.1.1 Propiedades del parásito.	8
2.1.2 Ciclos vitales.	8
2.1.3 Helmintiasis.	9
2.1.4 Parásitos y Helminetos.	10

CAPITULO III.

3. PARTE EXPERIMENTAL.

3.1 Diagrama de flujo.	18
3.2 Material y método.	19
3.2.1. Material biológico.	
3.2.2. Material de laboratorio.	
3.2.3. Equipo.	

3.2.4. Reactivos.

3.2.5. Parásitos.

3.2.6. Gráficas.

CAPITULO IV.

4. RESULTADOS Y DISCUSION.

4.1 Resultados. 21

4.2 Discusión de resultados. 44

CAPITULO V.

5. CONCLUSIONES. 47

BIBLIOGRAFIA. 48

CAPITULO I.

INTRODUCCION

1.1. Planteamiento del problema.

Los estudios de nuevos fármacos en animales experimentales son importantes, llevados a cabo principalmente en roedores, mamíferos y primates, donde se pueden desarrollar diversos modelos experimentales para el seguimiento de una determinada sustancia, por lo que se requiere que estos animales de experimentación se encuentren en las mejores condiciones de salud, alimentación y limpieza; ya que en el caso de elaboración de vacunas, o de nuevas sustancias los resultados no serían confiables, debido a la contaminación que presentan estos animales, no sólo a nivel intestinal, sino en diversos órganos. (Fox, 1995)

En los laboratorios en donde se usan a roedores como modelos biológicos, no es raro encontrar infecciones por protozoarios y helmintos intestinales; por lo cual, se pretende realizar un trabajo de investigación sobre ratones albinos determinando la frecuencia del hallazgo de protozoarios y helmintos, dentro de los principales bioterios de la Ciudad de México y Área metropolitana. (Pakes, 1995)

1.2. Objetivo General.

Determinar la prevalencia de infecciones por protozoarios y helmintos en ratones albinos criados en bioterios del Distrito Federal y área metropolitana, que se utilizan para fines biomédicos.

1.2.1. Objetivos específicos :

1. Obtener, por donación o por compra directa 30 ejemplares de ratones provenientes de los principales bioterios del Distrito federal y Área metropolitana de México.
2. Investigar, por disección, la presencia de protozoarios y helmintos en los intestinos de los ratones.
3. Identificar, por medio de claves de identificación, a los protozoarios y helmintos colectados.
4. Informar sobre la incidencia de protozoarios y helmintos en los ratones analizados a los laboratorios que donaron los animales y que solicitaron el resultado de la necropsia.
5. Evaluar el posible impacto epizootiológico de las infecciones encontradas en los animales provenientes de bioterios.
6. Analizar el posible impacto de las parasitosis ocasionadas por los agentes encontrados en los estudios biomédicos en que se utilizan.

CAPITULO II.

ANTECEDENTES

2.1. Fundamentos.

En la actualidad se ha despertado gran interés por los parásitos que causan enfermedades en los animales de experimentación. Sin referirse a virus o bacterias; aunque éstos también originan enfermedades en los misaos. (Geoffrey Lapage, 1961)

La mayoría de los animales viven en forma independiente en sus habitats naturales, buscando sus propios materiales alimenticios y utilizando el agua libre y el oxígeno de sus procesos metabólicos.

Sin embargo, entre algunos animales existen diferentes sistemas de asociación que pueden ser divididos en dos grandes grupos : asociaciones homoespecíficas, que son las que tienen lugar entre individuos de la misma especie y asociaciones heteroespecíficas, que se realizan en diferente especie. (Smyth, 1965)

Donde cualquier animal o planta que pasa parte o todo su ciclo vital íntimamente asociado a otro organismo de diferente especie se considera un simbiote (o simbiote) y la relación existente se denomina simbiosis. (Chenk, 1998) Dentro del amplio término simbiosis se incluyen los siguientes tipos de asociación :

COMENSALISMO : Asociación simple, en la cual dos animales de diferente especie viven juntos sin ser metabólicamente dependientes el uno del otro, aunque uno o ambos organismos reciban beneficios de tal asociación. (Smyth, 1965)

FORESIS : Asociación en la cuál un organismo proporciona solamente refugio, soporte o transporte a otro organismo de especie diferente para suministrarse alimentos. (Smyth, 1965)

PARASITISMO, MUTUALISMO : Son asociaciones íntimas en las cuales el metabolismo de un individuo o de una especie depende en cierto grado de la asociación permanente con un individuo de otra especie. (Smyth, 1965) Mutualismo es considerada como caso especial de parasitismo en los cuales se presenta dependencia metabólica mutua. (Smyth, 1965)

Por lo tanto un parásito es un ser que vive a expensas de otro animal o planta de una especie diferente y al que se denomina huésped, obteniendo cierto beneficio de él y causándole daño al mismo tiempo. Ningún animal puede ser parásito por sí solo. La forma de vida parasitaria es, por lo tanto, una de las diferentes maneras en que los animales pueden vivir juntos para formar lo que el ecólogo denomina asociaciones animales. (Smyth, 1965) (Geoffrey Lapage, 1981)

Como dependencia metabólica del parásito hacia el huésped, podemos encontrar las siguientes causas : (a) estímulo del desarrollo; (b) materiales nutricios; (c) enzimas digestivas; (d) control de la maduración. (Smyth, 1965)

La dependencia para la obtención de materiales nutricios, es

indudablemente la forma más común de dependencia metabólica. La obtención de sus alimentos es de valor nulo, a menos que pueda utilizarlos. Hay una evidencia creciente que la mayoría de los tremátodos y nemátodos, poseen las enzimas necesarias para hidrolizar moléculas complejas. (Smyth, 1965)

Este concepto de parasitismo no toma en consideración la nocividad de la asociación entre huésped y parásito. En algunos casos, es tal, que el huésped es dañado en alguna forma, quizás por acción física, por la pérdida de nutrientes esenciales o por el efecto tóxico de la excreciones o secreciones del parásito. En otros casos no se provoca daño y aun en otros los metabolitos liberados por el parásito, pueden ser benéficos para el huésped. (Smyth, 1965)

Los parásitos pueden ser clasificados de acuerdo con sus ciclos biológicos ubicación en el huésped u otros varios hechos. Es práctica común, hablar de ectoparásitos y endoparásitos. Los Ectoparásitos son organismos (por ejemplo, pulgas, piojos, garrapatas) que viven en el exterior de sus huéspedes, generalmente adheridos a la piel, plumas, pelo, branquias, etc., tales formas nunca pueden realizar una existencia totalmente parásita, puesto que utilizan oxígeno del exterior del huésped. Muchos mantienen solamente contacto periódico con su huésped y de acuerdo con la definición dada antes, no pueden ser considerados parásitos, sino únicamente una clase especial de predadores. Los endoparásitos

viven en el interior de sus huéspedes, en los intestinos, las cavidades del cuerpo, los pulmones u otros tejidos; tales formas casi siempre viven una existencia completamente parasitaria.

(Smyth, 1965)

Los parásitos que causan daño y que pueden ser identificados son gusanos, insectos, garrapatas, ácaros o animales primitivos de una sola célula llamados protozoos o protozoarios. (Geoffrey Lapage, 1981)

Los protozoos son tan pequeños que no pueden observarse a simple vista; como el flagelado, Trichomonas, que produce la tricomoniasis en el ganado vacuno. Los protozoarios a diferencia de otros parásitos estos pueden multiplicarse con rapidez en el organismo de las especies animales a las cuales infestan, de la misma forma como lo hacen las bacterias. Los efectos que producen pueden desarrollarse, entonces, con más rapidez que aquellos que pueden producir los parásitos pluricelulares y ser más graves debido a la gran cantidad de protozoarios que pueden desarrollarse. (Geoffrey Lapage, 1981)

Los gusanos como es sabido, no son todos parásitos. A los gusanos parásitos se les designa con el nombre genérico de helmintos y su estudio llámase helmintología. Las especies parásitas de los animales domésticos son de dos tipos: los gusanos redondos y los gusanos planos. (Geoffrey Lapage, 1981)

Como ejemplos de gusanos redondos, tenemos a los encontrados en el ganado, tan pequeños que solamente se pueden ver con dificultad a simple vista, y otros tan grandes y gruesos como un lápiz y aún mayores. Estos gusanos redondos son pluricelulares y en muchas especies los machos son más pequeños que las hembras. (Geoffrey Lapage, 1981)

Los gusanos planos tienen, como su nombre lo indica, el cuerpo aplanado. Existen tres grupos de gusanos planos : gusanos enrollados, gusanos en forma de cinta y las fasciolas. (Geoffrey Lapage, 1981)

2.1.1 PROPIEDADES DEL PARASITO.

En el parasitismo, el parásito vive sobre su suministro de alimento y come del mismo. Debe tener adaptaciones para reconocer y reaccionar en presencia de un hospedero. Debe poseer mecanismos para pasar de un hospedero a otro. (Clark Read, 1978). Esto se podría sistematizar un poco por medio de una taxonomía que pudiera incluir lo siguiente :

- a. Infectabilidad.
- b. Establecimiento.
- c. Transmisión. (Clark Read, 1978)

2.1.2 CICLOS VITALES.

Los inmensos peligros que encuentran los parásitos antes de alcanzar la madurez se cuentan entre los aspectos más impresionantes de sus ciclos vitales. Un número fantástico de huevos y de individuos han de desarrollarse para asegurar la continuación de la vida de la especie porque un número enorme de huevecillos y de individuos jóvenes mueren antes de alcanzar la madurez. Este parásito debe ser capaz de fijarse al huésped; a menudo un parásito debe ser capaz de penetrar en el cuerpo dentro del cual encuentra un nuevo mundo lleno de antagonismo; debe ser capaz de poder crecer, desarrollarse y finalmente reproducirse. Cuando el huésped es un vector, el parásito debe dejarlo, solamente

para encontrar de nuevo los peligros de una vida libre, y enfrentarse una vez más a las probabilidades casi desesperadas de encontrar otro y diferente huésped. Una vez que está relativamente seguro dentro del huésped final, a menudo debe encontrar una pareja si la raza ha de persistir. (Dr. Elmer Noble & Dr. Glenn Noble, 1965)

2.1.3 HELMINTIASIS.

Las Helmintiasis son un conjunto de enfermedades ocasionadas por la parasitación de gusanos en el hombre y en animales. La sintomatología, epidemiología, naturaleza, y la topografía de las lesiones es variada dependiendo del parásito que las provoca. (Pelczar, Reid, 1984)

Estos parásitos pueden parasitar a sus huéspedes en las formas adultas o bien en las formas larvarias. (Pelczar, Reid, 1984)

El diagnóstico se puede llevar al cabo en :

- Excreciones (heces, orina, etc.).
- Sangre.
- Biopsia de órganos enfermos.
- Pruebas a través de anticuerpos específicos. (Pelczar, Reid, 1984)

La Afecciones : Principalmente hay aumento de Leucocitos Eosinófilos. (Pelczar, Reid, 1984)

Los protozoarios presentan ciclos de vida variados, estos pueden ser de vida libre, o vivir dentro de otros organismos (parásitos accidentales, parásitos obligados), o bien, presentar combinaciones de ambos (parásitos facultativos). (Pelczar, Reid, 1984)

2.1.4. PASASITOS Y HELMINTOS.

Estudios realizados en el Departamento de Helmintología del Instituto Oswaldo Cruz en Brasil, muestran diversos parásitos intestinales extraídos de ratones de diferentes bioterios. Tres parásitos fueron observados durante el transcurso del estudio, el conocido cestodo Vampirolepis nana (Hymenolepis nana) y los nematodos Aspicularis tetraoptera y Syphacia obvelata. El alcance de la investigación abarcó los datos morfológicos de los parásitos, simplificando de tal manera la identificación de los mismos. (Oswaldo Cruz, 1994).

Dicho estudio reporta los resultados obtenidos de ratones de diferentes bioterios, encontrándose así la prevalencia en distribución y morfología del cestodo Vampirolepis nana (Siebold, 1852), y los nematodos Aspicularis tetraoptera (Nitzsch, 1821) (Schulz, 1924) y Syphacia obvelata (Rudolphi, 1802) (Saurat, 1916), que son los comunmente encontrados en el intestino del roedor. (Oswaldo Cruz, 1994).

Eaton (1972), así como otros autores han hecho referencia de que en bioterios es frecuente encontrar infecciones intestinales ocasionadas por helmintos. (Eaton, 1972).

Higgins-Opitz y colaboradores (1990), a lo largo de un estudio, identificaron parásitos intestinales encontrados en roedores de laboratorio, y los efectos causados por los mismos. Seis parásitos fueron observados durante el transcurso del estudio, los nemátodos Aspicularis tetraptera y Syphacia obvelata, los protozoarios Entamoeba muris, Trichomonas muris, Spiroucleus muris y Chilomastix spp. Durante el transcurso del estudio se encontró que dos roedores presentaron en común todos los parásitos, sin embargo, en general la prevalencia fué S. obvelata, T. muris y S. muris estando significativamente más alto en Mastomys coucha con infección asociada de esquistosomas, incrementándose así la prevalencia de E. muris, T. muris, y S. muris. Infecciones intestinales de T. muris, y S. muris fueron significativamente más grandes en M. coucha. La infección en ratones por T. muris favorece la susceptibilidad de ellos a la infección por esquistosomas. (Higgins-Opitz, 1990)

El estado del sistema inmune es determinante en la susceptibilidad de roedores a los parásitos existentes en el medio ambiente. (Higgins-Opitz, 1990).

Los cambios inmunológicos inducidos por esquistosomas alteran la susceptibilidad de los animales. (Higgins-Opitz, 1990).

Higgins en 1990, obtuvo resultados similares a los ya antes presentados por Hsu (1982) y por Wescott (1982), en donde la distribución de estos seis parásitos, los nematodos A. tetraoptera y S. obvelata, y los flagelados T. muris, S. muris y Chilomastix spp, y el rizópodo E. muris fué similar. (Higgins-Opitz, 1990)

En general, las infecciones por nemátodos son un problema común en animales de laboratorio; siendo estos difíciles de erradicar, pero con un adecuado manejo, su control sería posible. (Wescott, 1982 y Baskerville 1988).

Es importante detectar la presencia de parásitos intestinales en animales de bioterio, ya que estos pueden alterar la susceptibilidad de los animales a los microorganismos en los experimentos en que son utilizados. (Higgins-Opitz, 1990).

Baskerville y Newton (1988) realizaron un estudio en una colonia de ratones, empleando mebendazol (60 ppm), para el control de Hymenolepis nana y Aspiculuris tetraoptera. Estos roedores fueron infectados con huevecillos de Hymenolepis nana y Aspiculuris tetraoptera; al cabo de un chequeo trimestral se comprobó la presencia de estos helmintos en la materia fecal de los ratones. Posteriormente los roedores ya infectados fueron sometidos bajo

mebendazol, al cabo de tres a doce semanas fueron examinados doce ratones, encontrándose limpios de la presencia de estos helmintos; y al cabo de seis meses no se encontró rastro alguno de Hymenolepis nana así como de Aspicularis tetraoptera. Cabe mencionar que los animales se manifestaron con una pequeña reducción en cuanto al tamaño, así como un crecimiento acelerado en las hembras. También se presentó una pequeña alteración en la cola del animal, la cuál se manifestó con un pequeño enroscamiento de la misma en un índice del 2.07 % de la población. (Beskerville & Newton, 1988).

Muller (1975), tenía idea de que la infección era originada por contaminación del alimento por ratones silvestres, donde la erradicación y control de H. nana se podría lograr eliminando las especies silvestres dentro del mismo bioterio; así como la erradicación del parásito dentro del personal del bioterio, ya que la infección cruzada es posible. En el mismo estudio se contempló el control de A. tetraoptera. (Muller, 1975).

Flynn (1973), menciona que H. nana es difícil de erradicar, ya que la transmisión puede ocurrir directamente, o bien indirectamente por insectos que actúan como huéspedes intermedios, o por una autoinfección. (Flynn, 1973). Muller (1975), hace mención de la difícil erradicación de H. nana, sin embargo, los huevos de

H. nana están solo viables en un máximo de 11 días fuera del huésped. (Muller, 1975).

Baskerville, por su parte, indica que mediante la ausencia del huésped intermediario debe ser posible llevar al cabo la erradicación de H. nana. (Baskerville & Newton, 1988).

Un medio efectivo en el control de H. nana y/o algún tipo de infección a nivel intestinal sería administrando 50 ppm de mebendazol en la dieta con insignificantes efectos secundarios. Donde el eventual reaparecimiento de H. nana, podría deberse a recontaminación de origen externo. (Baskerville & Newton, 1988).

Keast & Chersterman (1972), mencionan que el porcentaje de síntesis de RNA se ha visto incrementado en macrófagos de ratones cuando en ellos encontramos la presencia del protozoario intestinal Hexamita muris. (Keast & Chersterman, 1972).

Heston (1941), hace referencia que Hexamita muris es un parásito comunmente encontrado en el intestino de ratones y ratas. Sin embargo una infestación fuerte de dicho protozoario, o bien un crecimiento excesivo de la colonia dentro del huésped puede causar enfermedad o hasta la muerte en algunos casos. (Lussier, 1970), (Meshorer, 1969), (Sebesteny, 1969).

Está asociación de alteración del material genético a nivel macrófago, con la presencia de H. muris ha sido confirmada por diversos experimentos, donde los ratones han sido infectados

intencionalmente con el parásito. La infección con H. muris juega un papel importante en el sistema inmunológico del roedor. (Keast y Chesterman, 1972).

En una primera etapa los macrófagos presentan un incremento en la síntesis de RNA, sin embargo después de un tiempo esta habilidad se pierde. Esta alteración aparente en el RNA metabólico está acompañada por la alta velocidad de mortalidad en las colonias de ratones, donde las autopsias revelan que los roedores estaban severamente infectados con Hexamita muris. (Keast y Chesterman, 1972)

Lussier & Loew (1970) , Meshorer (1969), Sebesteny (1969), coinciden en que las lesiones características presentadas en el intestino del ratón se encuentran acompañadas de una infección fatal por Hexamita muris. (Keast y Chesterman, 1972)

La siguiente tabla muestra algunos de los parásitos encontrados en ratones y conejos:

(TRACTO DIGESTIVO)

TREMATODOS.

Echinostoma ilocanum
Haastilesia tricolor

Echinostoma hortense

CESTODOS

Cittotaenia denticulata
Cittotaenia pectinata
Hymenolepis nana
Hymenolepis microstoma

Cittotaenia stenoides
Inermicapsifer spp.
Hymenolepis diminuta

NEMATODOS

Passalurus ambiguus
Aspicularis tetraoptera
Heterakis spumosa
Strongyloides ratti
Trichostrongylus affinis
Obeliscoides cuniculi
Nematodirus aspinosus
Protospiruria numidia
Mastophorus muris
Physaloptera erinacea
Trichuris sylvilaei
Capillaria bacillata
Capillaria annulosa

Syphacia obvelata
Derastoxys veligera
Paraspidodera uncinata
Strongyloides venezuelensis
Graphidium strigosum
Nematodirus leporis
Spirura talpae
Protospiruria muricola
Physaloptera clausa
Trichuris leporis
Capillaria gastrica
Capillaria tavernae
Capillaria intestinalis
Trichostrongylus retortaeformis

(Soulsby, 1987)

La siguiente tabla muestra algunos de los parásitos encontrados en ratones y conejos :

(TRACTO DIGESTIVO)

PROTOZOOS

<u>Tritrichomona muris</u>	<u>Tritrichomonas minuta</u>
<u>Tritrichomonas caviae</u>	<u>Trichomitus wenyoni</u>
<u>Tetratrichomonas microti</u>	<u>Monocercomonas pastillum</u>
<u>Monocercomonas minuta</u>	<u>Monocercomonas cuniculi</u>
<u>Chilomitus caviae</u>	<u>Hexamastix caviae</u>
<u>Hexamastix robustus</u>	<u>Hexamastix muris</u>
<u>Enteromonas caviae</u>	<u>Retortamonas caviae</u>
<u>Retortamonas cuniculi</u>	<u>Chilomastix cuniculi</u>
<u>Chilomastix intestinalis</u>	<u>Chilomastix wenrichi</u>
<u>Chilomastix bettencourti</u>	<u>Giardia chinchillae</u>
<u>Giardia duodenalis</u>	<u>Giardia caviae</u>
<u>Giardia muris</u>	<u>Entamoeba histolytica</u>
<u>Entamoeba muris</u>	<u>Entamoeba caviae</u>
<u>Entamoeba cuniculi</u>	<u>Endolimax caviae</u>
<u>Endolimax ratti</u>	<u>Eimeria coecicola</u>
<u>Eimeria elongata</u>	<u>Eimeria exigua</u>
<u>Eimeria intestinalis</u>	<u>Eimeria irresidua</u>
<u>Eimeria magna</u>	<u>Eimeria matsubayashii</u>
<u>Eimeria media</u>	<u>Eimeria nagpurensis</u>
<u>Isopora ratti</u>	<u>Eimeria caviae</u>
<u>Eimeria dolichotis</u>	<u>Eimeria nocti</u>
<u>Eimeria hasel</u>	<u>Eimeria ratti</u>
<u>Eimeria carinii</u>	<u>Eimeria falciformis</u>
<u>Eimeria ferrisi</u>	<u>Eimeria hindlei</u>
<u>Eimeria keilini</u>	<u>Eimeria krijsmanni</u>
<u>Eimeria musculi</u>	<u>Eimeria schueffneri</u>
<u>Eimeria neoleparis</u>	<u>Eimeria perforans</u>
<u>Eimeria piriformis</u>	<u>Eimeria stiedae</u>
<u>Eimeria miyairii</u>	<u>Eimeria stiedae</u>
<u>Eimeria miyairii</u>	<u>Eimeria nieschultzi</u>
<u>Eimeria separata</u>	<u>Cryptosporidium muris</u>
<u>Cryptosporidium parvum</u>	<u>Cryptosporidium wrairi</u>

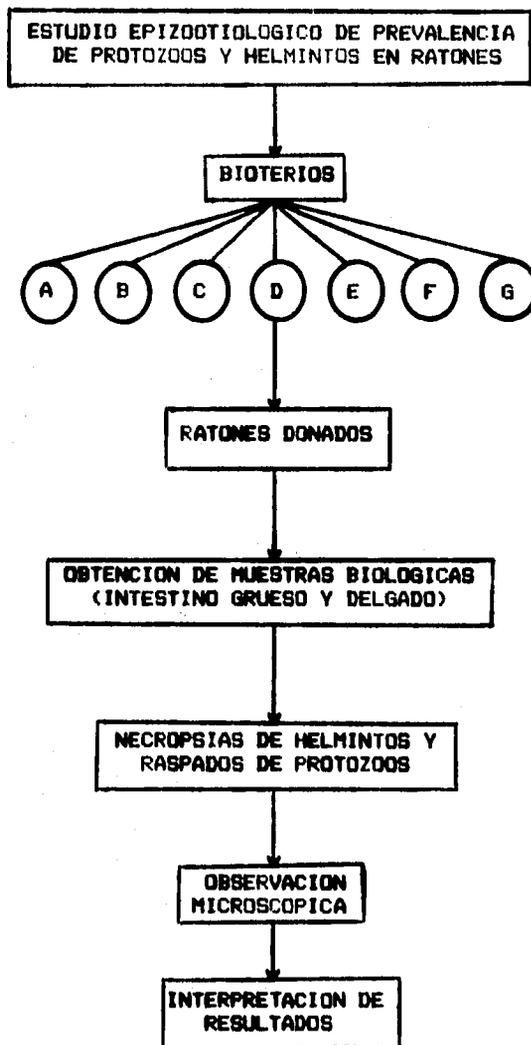
(Soulsby, 1987)

CAPITULO

III

PARTE EXPERIMENTAL

3.1 DIAGRAMA DE FLUJO.



3.2 MATERIAL Y METODO.

3.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO :

- 30 ratones (Mus musculus) adultos de diferentes bioterios de la Ciudad de México y Área Metropolitana. Los suministradores de ratones no son representados por su nombre debido a razones éticas.
- En cada grupo de ratones de los siete bioterios muestreados, se harán necropsias para determinar la presencia de helmintos y raspado en las mucosas intestinales para búsqueda al microscopio de protozoarios.

3.2.2. MATERIAL DE LABORATORIO.

- Estuche de disección.
- Cajas de Petri.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Guantes de hule.
- Aguja (portahelmintos).

3.2.3. EQUIPO :

- Microscopio Carl Zeiss. (Objetivos : 10x y 40 x)
- Fotomicroscopio Nikon F2, 55 m de microlente, conectado a 2x tono.

3.2.4. REACTIVOS :

- Solución salina (NaCl 0.85 %).
- Etanol (70 GL - 100 GL).

3.2.5. PARASITOS :

- Los ratones fueron sacrificados mediante una cámara de bióxido de carbono (CO₂), según lo acordado por los principios del Departamento de Parasitología del I.P.N. Los helmintos se recopilaron vivos en cajas de Petri, conteniendo una solución de NaCl al 0.85 % (solución salina).
- Los protozoarios fueron recopilados mediante la técnica de raspado de muestra en las mucosas intestinales.
- El helminto así como el protozoario de prueba obtenido y observado al microscopio, incluyeron el número de grupo así como protozoo/helminto/ratón donde fueron obtenidos.

3.2.6. GRAFICAS :

Los resultados obtenidos se graficaron mediante el sistema "Excel Windows Micro Soft" versión 5.0.

CAPITULO

IV

RESULTADOS Y DISCUSION.

4.1 RESULTADOS.

1. El número total de bioterios muestreados fueron siete, con un total de 210 ratones donados de diferentes bioterios de la Ciudad de México y Area Metropolitana.

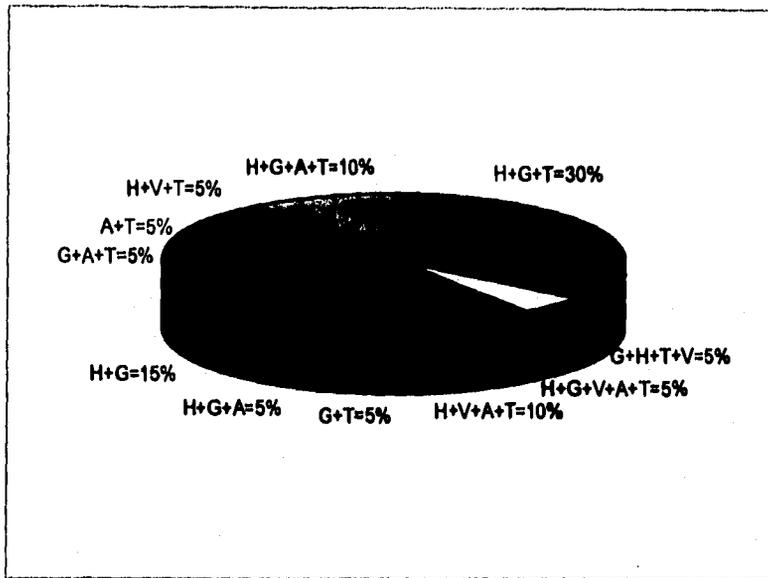
2. Se realizó un estudio de la prevalencia de protozoarios y helmintos en los diferentes bioterios, donde los resultados son representados en las figuras de la número 1 a la número 7.

3. En cada grupo se pueden apreciar diferencias importantes en cuanto a porcentajes de participación, más sin embargo se puede determinar que la contaminación de protozoarios en general, a nivel intestinal está dada por los siguientes parásitos : como protozoos encontramos a Hexamita muris, Giardia muris y Trichomona muris; y como helmintos al cestodo Hymenolepis nana (Vampirolepis nana) y los nemátodos Aspiculuris tetraptera y Shyphacia obvelata.

4. En general, en casi todos los grupos muestreados, se encontró la prevalencia de protozoarios, así como de helmintos. Encontrándose un poco más elevada la presencia de protozoos, en casi todos los grupos. Sin embargo la prevalencia de helmintos se encuentra así con un porcentaje considerable.

Fig. 1. Gráfica del grupo A.

GRUPO A.



Donde :

H : Hexaxite curis

G : Giardia curis

V : Vampirolesis nana (Hyemonolepis nana)

A : Aspiculuris tetrastrera

T : Trichomona curis

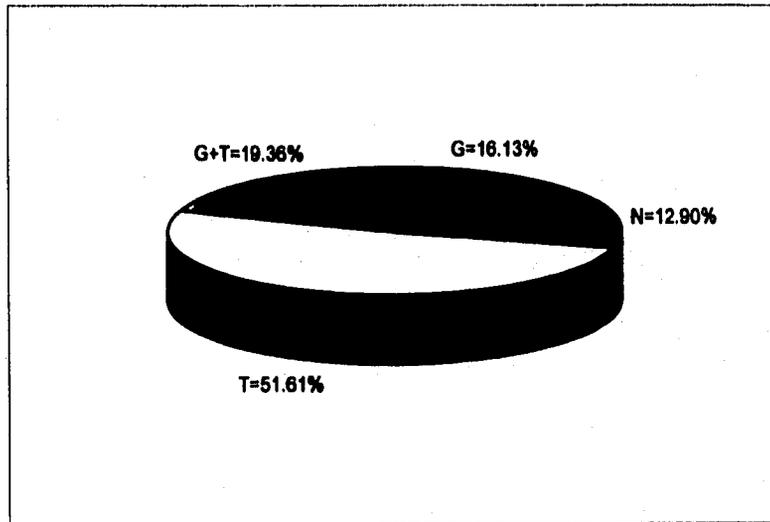
En el grupo A tanto la prevalencia de protozoos y helmintos fué positiva; encontrándose cinco parásitos durante el transcurso del estudio, entre ellos los siguientes protozoarios : Giardia muris, Hexamita muris y Trichomona muris; así como la presencia de el cestodo Hymenolepis nana, y el nemátodo Aspicularis tetraptera.

En general la prevalencia fué del 5 % de participación tanto de los protozoos como de los helmintos; encontrándose significativamente mas elevada en el caso de la agrupación H. muris, G. muris, A. tetraptera y I. muris con un 10 %, en tanto que H. muris y G. muris con un 15 % de participación; sin embargo la prevalencia superior fué de H. muris, G. muris y I. muris con un 30 % de participación.

Cabe mencionar que ninguno de los ratones muestreados de este grupo se encontraba libre de la presencia de protozoos y helmintos a nivel intestinal. Implicando su contaminación a nivel general.

Fig. 2. Gráfica del grupo B.

GRUPO B.



Donde :

G : Giardia dujari

T : Trichomonas hominis

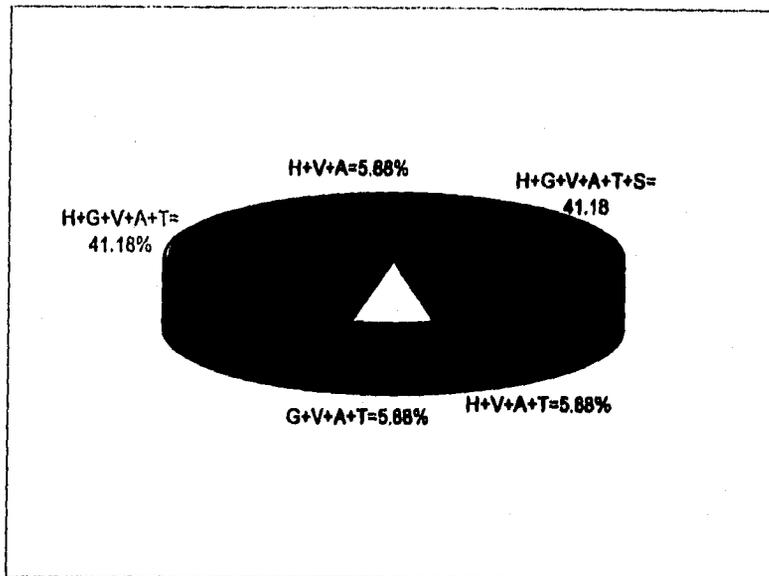
N : Muestra con ausencia de parásitos y helmintos.

El grupo B se determinó la presencia de dos protozoarios, siendo estos G. muris con una participación del 16.13 %, y I. muris con un porcentaje del 51.61 %; y una participación de ambos del 19.36 %.

Cabe mencionar la ausencia total de helmintos dentro de este grupo; así mismo el 12.90 % de la población (ratones) no presentó ningún tipo de parásito a nivel intestinal. Lo que implica que existe un mejor control sanitario.

Fig. 3. Gráfica del grupo C.

GRUPO C.



Donde :

H : Hexamita muris

G : Giardia muris

V : Vampirolepis nana (Hypenolepis nana)

A : Aspicularis tetraetera

T : Trichonema muris

S : Synhacia obvelata

En el grupo C; se encontró con la prevalencia de seis parásitos durante el transcurso del estudio, los nemátodos A. tetraoptera y S. obvelata; el céstodo H. nana (V. nana); y los protozoarios H. muris, G. muris y I. muris.

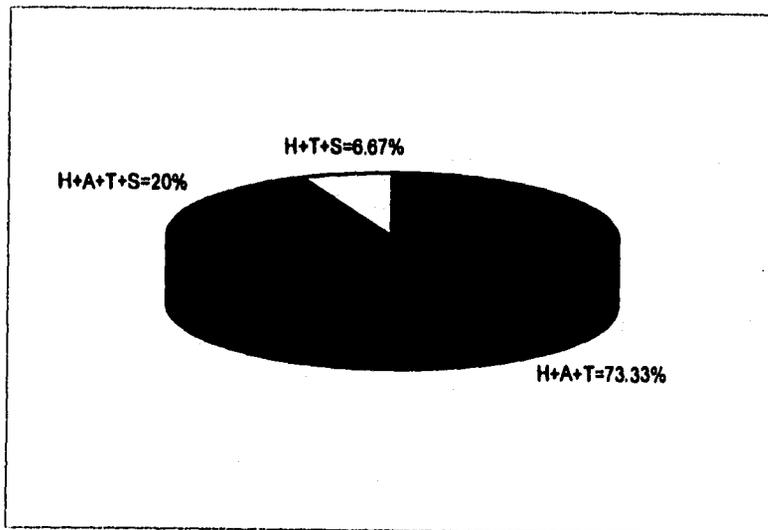
En base a los resultados obtenidos se cuenta con una participación del 41.18 % de H. muris, G. muris, V. nana, A. tetraoptera y I. muris en conjunto; así mismo con un 41.18 % se encuentra la asociación H. muris, G. muris, V. nana, A. tetraoptera y S. obvelata.

En tanto que con una participación del 5.88 % se encuentran H. muris, V. nana y A. tetraoptera; así como G. muris, V. nana, A. tetraoptera y I. muris, y por último con igual porcentaje H. muris, V. nana, A. tetraoptera.

Este grupo se caracterizó por la presencia de seis parásitos a nivel intestinal, por lo que se puede determinar que existe un inadecuado control sanitario sobre los animales del grupo C.

Fig. 4. Gráfica del grupo D.

GRUPO D.



Bonde :

H : Hyxanite curis

A : Aspicularis tetraptera

T : Trichonema curis

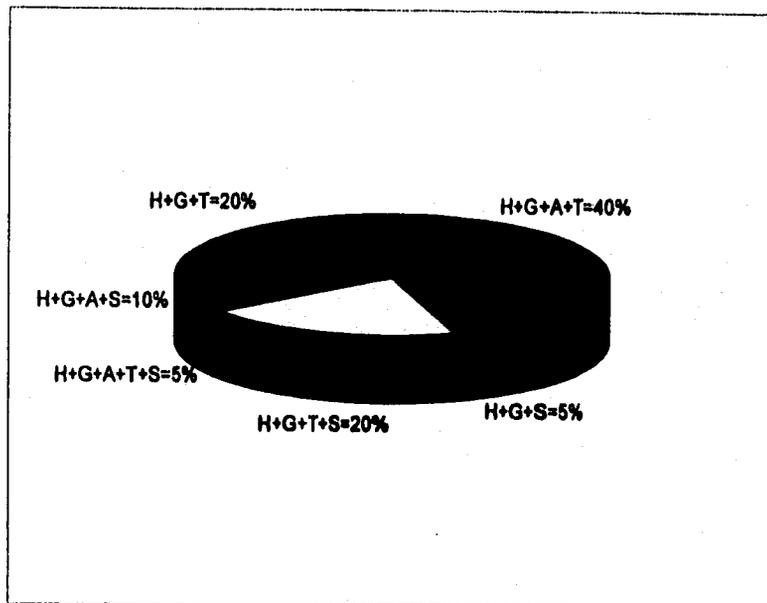
S : Synhacia obvelata

En el grupo D fueron observados cuatro clase de protozoarios, los protozoos H. muris, I. muris; y los helmintos A. tetraptera y S. obvelata, encontrándose en asociaciones de tres y cuatro parásitos, en donde la prevalencia inferior fue el caso de H. muris, I. muris, y S. obvelata, con una participación del 6.67 %. Seguido de la presencia de H. muris, I. muris, A. tetraptera y S. obvelata con el 20 %.

Con una participación mayor encontramos la presencia de H. muris, I. muris, y A. tetraptera con un 73.33 % de participación.

Fig. 5. Gráfica del grupo E.

GRUPO E.



Bonda :

H : Hexamita muris

G : Giardia muris

A : Aspicularis tetrantera

T : Trichomona muris

S : Synhacia obvelata

El grupo E, se determina positivo en cuanto a la presencia de protozoarios y helmintos, encontrándose cinco parásitos, los nemátodos S. obvelata, y A. tetraoptera; y los protozoarios H. muris, G. muris y I. muris.

Donde se puede destacar una prevalencia superior de G. muris, I. muris, H. muris y A. tetraoptera con una participación importante del 40 %; así mismo con un 20% se encuentra la agrupación H. muris, G. muris, y I. muris, con el mismo porcentaje encontramos la participación de H. muris, G. muris, I. muris y S. obvelata.

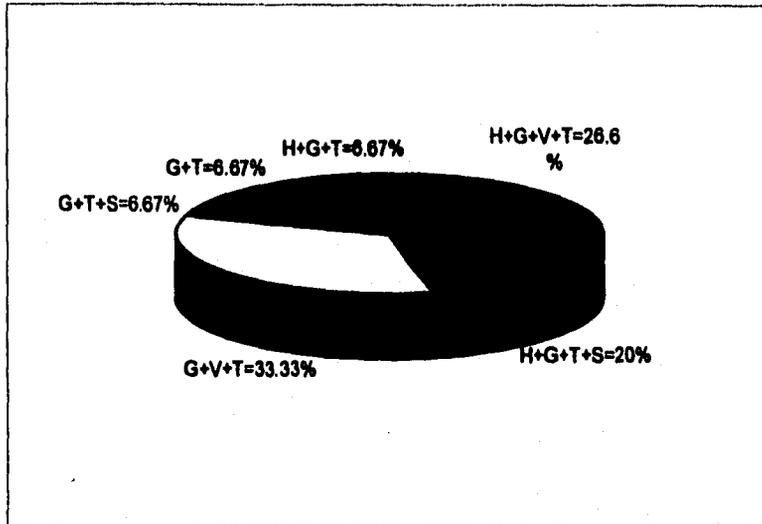
Posteriormente encontramos la asociación H. muris, G. muris, A. tetraoptera y S. obvelata con un 10 % de participación.

Por último se encuentran las asociaciones, G. muris, A. tetraoptera, S. obvelata, H. muris y I. muris; así como G. muris, H. muris y S. obvelata con una participación de 5 %.

En este grupo se puede apreciar prevalencia de Giardia muris, así como de H. muris en todos los individuos muestreados.

Fig. 6. Gráfica del grupo F.

GRUPO F.



Donde :

H : Hexamita muris

G : Giardia muris

V : Vampirolepis nana (Hyemonolepis nana)

T : Trichostrongylus muris

S : Synhacia obvelata

En el grupo F, se determinó la presencia de cinco parásitos, el nemátodo S. obvelata, y el cestodo V. nana (H. nana); y los protozoarios H. muris, G. muris y I. muris.

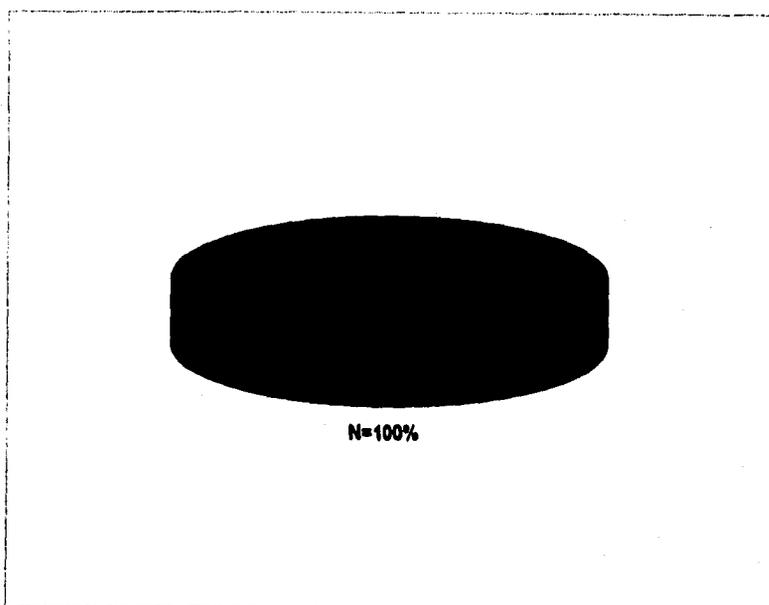
Donde se puede destacar la prevalencia de G. muris, V. nana y I. muris con una participación importante del 33.33 %; así mismo con un 26.6 % se encuentra la agrupación H. muris, G. muris, V. nana y I. muris. Donde se puede apreciar la prevalencia de Giardia muris, así como de Trichomonas muris.

Posteriormente encontramos el conjunto formado por H. muris, G. muris, I. muris y S. obvelata con un 20 % de participación.

Por último se encuentran las asociaciones H. muris, G. muris y I. muris; así como G. muris y I. muris con un 6.67 % de participación; al igual que el grupo formado por G. muris, I. muris y S. obvelata.

Fig. 7. Gráfica del grupo G.

GRUPO G.



Donde :

N : Muestra con ausencia de parásitos y helmintos.

El grupo G, a diferencia de los demás grupos, ya antes mencionados, se caracteriza por ser el único grupo, en donde los ratones se encontraron libres de la presencia de protozoos así como de helmintos. Siendo este el ejemplo a seguir de los grupos anteriores.

Existiendo un adecuado control sanitario en los animales se puede lograr mantenerlos libres de contaminación.

CARACTERISTICAS DE LOS PARASITOS ENCONTRADOS EN EL INTESTINO
DE RATONES DE LABORATORIO UTILIZADOS EN ESTE ESTUDIO.

En base a los protozoos y helmintos encontrados a nivel intestinal, a continuación se describen algunas características de los mismos, donde :

1. Vampirolepis nana. (Hymenolepis nana) (Siebold, 1852)

Pertenece al grupo de los cestodos, donde parasita a roedores, primates y al hombre. Es el cestodo más común del hombre en los trópicos y subtrópicos, y es muy frecuente en roedores de laboratorio y silvestres.

Características : son gusanos largos, blancos cuando están vivos. De cuerpo flexible con la posibilidad de achicarse, miden entre 25-80 mm de longitud. El cuerpo, consta por lo general de una cabeza o escólex, y de numerosos segmentos o proglotis, que se forman en una zona inmediatamente posterior a la cabeza. Las ventosas de la cabeza sirven para la fijación. El cuerpo se encuentra revestido de una cutícula y no poseen cilios vibrátiles. No poseen boca ni tubo digestivo; toman el alimento a través de la pared del cuerpo.

El huevo es oval, y mide de 44 a 62 por 30 a 55 μ m. La oncosfera posee tres pares de ganchos. En el hombre, el ciclo biológico es directo, y los cisticercoides se desarrollan en los villi del intestino delgado, antes de emerger para alcanzar la madurez en el lumen.

El periodo de prepatencia es de 16 días. También se ha señalado la posibilidad de autoinfestación. En los roedores, el ciclo biológico puede ser directo o indirecto, con escarabajos de la harina o pulgas como hospedadores intermediarios.

Patogenia : Las infestaciones elevadas en el hombre pueden provocar numerosos síntomas abdominales (anorexia, vómito, diarrea, dolor). Los ratones con infestaciones elevadas pueden mostrar un retraso del crecimiento, o pérdida de peso.

Tratamiento y profilaxis : Las infestaciones se extienden con facilidad, y por ello el control es difícil. En las colonias de roedores de laboratorio, son eficaces el tratamiento repetido y las medidas sanitarias estrictas. Los partos con cesárea y el mantenimiento de barreras erradicarán el parásito. Son eficaces el hidrocloreuro de bunamidina (200 mg/kg), el tiabendazol (300 mg/kg o 0.3 % en la comida durante 14 días y el mebendazol (30 mg/kg/día durante tres días). Se pueden emplear otros benzimidazoles.

Sitio de infección : Intestino.

Distribución : Cosmopolita.

2. Syphacia obvelata. (Seurat, 1916)

Pertenece al grupo de los nemátodos. Se presentan en el intestino grueso de diversos roedores.

Características : Los parásitos son pequeños machos de 1.1 - 1.5 mm; las hembras miden de 3.4 - 5 mm y los huevos miden 135 por 45 um. Los gusanos son puntiagudos y de color blanco. Hay tres labios muy visibles y no existe cápsula bucal. El esófago es oxiuriforme, con una dilatación prebulbar y un bulbo globular posterior. Hay unas pequeñas alas cervicales. El macho posee una fina y larga espícula. La parte posterior acaba en una cola, aguzada en las hembras y algo más obtusa y curva en los machos. El ciclo vital es directo. Las hembras depositan los huevos embrionados en el colon y sobre la piel perianal.

La cabeza carece de cuello. En el extremo de la cabeza está la boca, rodeada por un número variable de labios móviles. El tubo digestivo es rectilíneo, empieza en la cavidad bucal y acaba en el ano. El aparato excretor consta de dos conductos acuíferos, a veces de uno sólo. Los nemátodos tienen, generalmente, los sexos separados y presentan a menudo dimorfismo sexual.

Se alimentan de la pared intestinal, sangre, excrementos, etc., o savia y tejidos vegetales.

Patogenicidad : Se hacen infestantes al cabo de pocas horas, y la infestación se produce por ingestión de los mismos a través de contaminaciones perianales o alimentos contaminados.

En infestaciones masivas, no hay efectos patogénicos. Se ha sugerido que la reducción en la ganancia de peso y en el crecimiento pueden ser una secuela de la infestación. El diagnóstico se basa en la detección de huevos en las heces y de los gusanos en el ciego y el colon.

Tratamiento : La erradicación es difícil, y normalmente sólo las colonias nacidas mediante cesáreas y alimentadas a través de barreras pueden mantenerse libres de la infestación.

Son eficaces los siguientes antihelminintos : Adipato de piperacina en el agua de bebida (4 - 7 mg/ml durante 3 a 10 días), yoduro de ditiazanina (0.1 mg/kg de alimento durante 7 días), pamoato de pirvinio (1.6 mg/kg de alimento o 0.8 mg/l de agua durante 30 días) y diclorvos (0.5 mg/g de alimento durante un día).

Distribución : Cosmopolita.

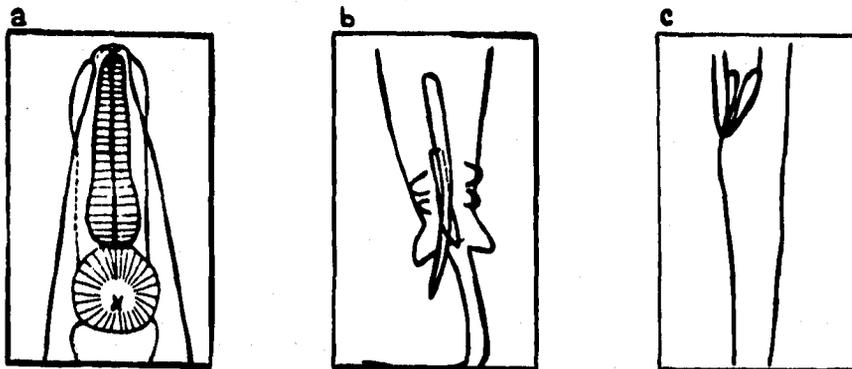


Fig. 8. *Syphacia obvelata*. a : extremo anterior, mostrando las alas laterales y el esófago con su bulbo esférico.

b : cola del macho. c : cola de la hembra.

3. Aspicularis tetraptera. (Nitzsch, 1921)

Pertenece a los nemátodos; siendo parásitos de roedores. Poseen tres labios rodeando la boca, pero carecen de vestibulo. La cola del macho es cónica y carece de espícula y gubernaculum.

Características : Se presenta en el intestino grueso de ratones y otros roedores, incluyendo ratas. Los machos miden de 2 a 4 mm de longitud, y las hembras, de 3 a 4 mm. Los huevos son simétricos y miden 85 por 37 μ m.

El ciclo vital es directo. Los huevos salen con las heces, y el estado infestante lo alcanzan aproximadamente a los seis días.

Patogenicidad : La infestación se produce por ingestión de los huevos, y el periodo prepatente dura unos 23 días. No se conocen datos de patogenicidad asociados con esta parasitosis.

Tratamiento : El tratamiento y el control son semejantes a los que se efectúan para Syphacia obvelata.

Distribución : Cosmopolita.

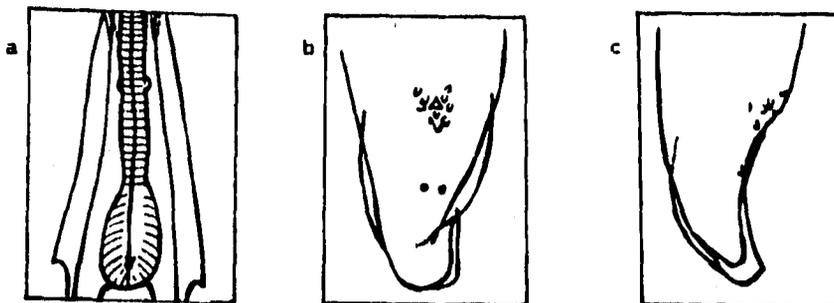


Fig. 9. Aspicularis tetraptera. a : extremo anterior. b : cola del macho. c : cola de la hembra.

4. Trichomona muris. (Davaine, 1860).

Es un flagelo intestinal muy frecuente en roedores; experimentalmente, puede ser transmitido a una gran variedad de animales de laboratorio.

Su cuerpo es oval, piriforme, de 5-20 por 3-14 μm ; el núcleo oval descansa en la primera mitad del cuerpo, y, usualmente, presenta cinco flagelos anteriores libres, aunque algunas formas sólo poseen tres o cuatro y, en pocas ocasiones, se localizan organismos con seis o más. El sexto flagelo recorre la membrana ondulante y se extiende por detrás del cuerpo.

La transmisión es directa por ingestión, aunque se ha sugerido la posible implicación de moscas como vectores mecánicos.

Patogenicidad: No existe evidencia de que el organismo sea patógeno o de que esté relacionado con trastornos intestinales.

Pueden presentarse en gran número en heces blandas o diarreicas.

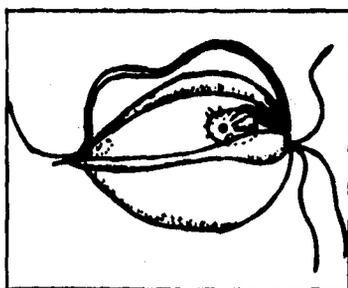


Fig. 10. Trichomona muris.

5. Hexamita muris. (Grassi, 1888).

Características : Se localiza en el intestino posterior y en el ciego de ratas, ratones y cricetos.

Patogenicidad : En Israel (Meshorer, 1969), se le ha asociado con la enteritis del ratón de laboratorio; se presenta una duodenitis catarral de aguda a crónica.

6. Giardia muris. (Kofoid y Christiansen, 1915).

En el ratón ha sido desarrollado como un modelo animal de la giardiasis humana (Roberts-Thomson y cols., 1976).

Características : Es una especie bastante común en el intestino delgado del ratón. La infección se autolimita y se continúa en resistencia a reinfecciones. Aunque la respuesta inmune es timo-dependiente, también están implicados mecanismos timo-independientes. (Stevens y cols., 1978).

La reproducción se efectúa por fisión binaria.

Patogenicidad : La transmisión se produce por la ingesta de comida y agua contaminada con quistes. Estas últimas formas pueden permanecer viables en zonas húmedas durante más de dos semanas. Provocando diarreas.

Tratamiento . Administración de quinacrina, cloroquina, diodoquina o metronidazol.

Distribución : Cosmopolita.

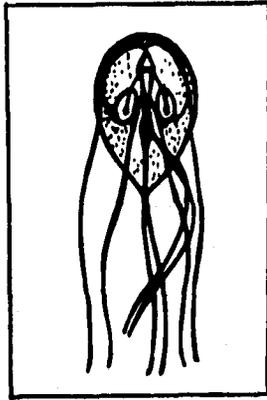


Fig. 11. Giardia muris.

4.2 DISCUSION DE RESULTADOS.

Uno de los problemas que enfrentan los bioterios a nivel mundial es poder mantener un adecuado control sanitario en sus animales, sean estos roedores, o de cualquier otro tipo. Las infestaciones se extienden con facilidad, por lo que la ciudad de México y Area Metropolitana no escapan a esta problemática, de hecho se encontraron valores muy elevados en cuanto a la prevalencia de parásitos a nivel intestinal.

El modelo experimental en animales de bioterios, son considerados como evolución de los parámetros biológicos; donde se han encontrado protozoos y helmintos basándonos en los reportes microscópicos; donde es posible observar gusanos en las glándulas mucosas del colon; así como protozoos en raspados de las paredes intestinales. Así mismo se observó un número incrementado de linfocitos y leucocitos en la mucosa del colon, lo cual implica la existencia de antígenos en el organismo parasitado. Donde se podría presentar alteraciones en la respuesta inmune del ratón, afectando particularmente la función del macrófago, desencadenando una respuesta antígeno - anticuerpo. (Hayunga, 1991; Eaton, 1972; Yukita Sato, 1993, et.al. 1995).

El propósito de comparar los valores obtenidos en las diferentes gráficas, es conocer el tipo de contaminación a la cuál se

encuentran expuestos los animales de bioterio, en este caso roedores, encontrándose que dicha contaminación puede estar constituida por los siguientes organismos : Como protozoos encontramos Hexamita muris, Giardia muris, y Trichomona muris; y como helmintos tenemos el cestodo Vampirolepis nana (Hymenolepis nana); y los nemátodos Aspicularis tetraptera y Syphacia obvelata.

La presencia de V. nana (H. nana), por si sólo es infeccioso, y en presencia de otros parásitos, esta infectabilidad aumenta, tal es el caso del del grupo C, en donde no sólo existe la presencia de dicho parásito, sino que a su vez se encuentra asociado con otros helmintos (A. tetraptera y S. obvelata); así como con los protozoos H. muris, G. muris y I. muris.

La distribución de los protozoos en los grupos A, B, C, D, E y F fue regular, encontrándose generalmente asociaciones de ambos : Hexamita muris, Trichomona muris y Giardia muris, tal es el caso del grupo A, E y F.

De los siete bioterios muestreados, solamente el grupo G presentó las características adecuadas para el manejo de roedores en investigación biomédica, la cual requiere de diversos estudios, ya sea el seguimiento de una nueva sustancia o fármaco, el manejo de vacunas, entre otros.

La infestación en el caso de los helmintos se puede presentar de dos maneras de forma directa o de forma indirecta (hospedadores intermediarios); y en el caso de los protozoos de manera directa.

La fuente de infección se puede encontrar por diversas causas; por lo que para resolver esta situación, se propone aplicar estrictas medidas sanitarias; tales como : adecuada alimentación; la limpieza de jaulas; el tratamiento continuo de medicación; partos con cesáreas y el mantenimiento de barreras erradicarán estos parásitos.

CAPITULO

v

CONCLUSIONES.

1. Se encontró que no existen diferencias importantes en cuanto al tipo de parásitos encontrados en la ciudad de México y Area Metropolitana.
2. El único céstodo encontrado durante el estudio fue Hymenolepis nana, el cual se presentó en un 42.5 % de los bioterios encontrados.
3. El nemátodo más frecuentemente encontrado fue Aspicularis tetraentera con una participación del 71 %.
4. El protozoario más común fue Trichosona muris en un 85 %.
5. El alto porcentaje de parásitos presentes en los bioterios que aceptaron participar en el estudio, nos hace proponer que se deben mejorar las condiciones de cría de los ratones.

BIBLIOGRAFIA.

- (1) Baskerville M, Wood M & Newton CM. 22, 263-268. (1988). Mebendazole for worming mice; effectiveness and side-effects. *Laboratory Animals*.
- (2) Clark P. Read, Profesor de Biología Rice University. PARASITISMO ANIMAL. Compañía Editorial Continental, S.A. México Prentice Hall .(1978). Pags. 14 - 19.
- (3) Chenk. (1990). *Parasitología General*. 8a. edición. Compañía Editorial Continental. P.p. 3-11.
- (4) D. Keast & F.C. Chesterman. 6,33-39. (1972). Changes in Macrophage Metabolism in Mice Heavily Infected with *Hexamita muris*. *Laboratory Animals*.
- (5) E. J. L. Soulsby. PARASITOLOGIA Y ENFERMEDADES PARASITARIAS EN LOS ANIMALES DOMESTICOS. 7a Edición. Editorial Interamericana. México (1987). Pags. 799-788.
- (6) Eaton GD. 22 : 850-853. (1972) *Lab Animal Sci*. Intestinal helminths in inbred strains of mice.
- (7) Elmer R. Noble & Dr. Glenn A. Noble. PARASITOLOGIA. BIOLOGIA DE LOS PARASITOS ANIMALES. Editorial Interamericana. S.A. México (1965). Pags. 15-23.
- (8) Flynn, Robert. J. PARASITES OF LABORATORY ANIMALS. division of Biological and Medical Research. Argonne, Illinois (1973). p.p. 155-159. (1973).
- (9) Fox, G.J., Cohen, J.B. and Loew, M.F. (1990). *Laboratory Animal Medicine*. Acedemic Press, Inc. P.p. 74-76.
- (10) Geoffrey Lapage. PARASITOLOGIA VETERINARIA. Compañía Editorial Continental. México, D.F. (1981).
- (11) Gloria Arroyo Blanco. *Diccionario de Biología*. Ediplesa. México, D.F. (1986). Pag. 461.
- (12) Hayunga, EG. 77 : 865-873. (1991). Morphological Adaptations of Intestinal Helminths. *J. Parasitol.*

- (13) Heston, W.E. p. 351 (1941). In *Biology of the laboratory mouse*. New York : Dover Publications.
- (14) Higgins-Opitz, B.S., & cols.24: 246-252. (1990). *Intestinal Parasites of Conventionally Maintained BALB/c Mice and Mastomys coucha and the Effects of a Concomitant Schistosome Infection*. Lab Animals.
- (15) Hsu C-K. Volumen II. 359-372. (1982) In *The Mouse in Biomedical Research* (eds ML Dettman CD & Higgins-Opitz SB. London : Academic Press.
- (16) J.D. Smyth. INTRODUCCION A LA PARASITOLOGIA ANIMAL. Editorial Continental, S.A. México (1965). Pags. 22-27.
- (17) Lussier, G. & Loew, F.M. 34, 358. (1978). An outbreak of hexamitiasis in laboratory mice. *Canadian Journal of Comparative Medicine*.
- (18) MacArthur JA & Wood M. 12, 141-143. (1978). Control of oxyurids in mice using thiabendazole. *Laboratory Animals*
- (19) Magalhães P. R., Vicente, J.J., Noronha, D., Gonçalves L., Correa D. G., Vol 89(1): 33-48, jan/mar. 1994. PARASITOS HELMINTOS DE CONVENCIONALISMO MANTENIDOS EN LABORATORIO DE RATONES. Mem Ins Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro
- (20) Meshorer, A. 19, 33. (1969). Hexamitiasis in Laboratory Mice. *Laboratory Animal Care*.
- (21) Muller R. pp. 60-62. (1975) *Worms and disease, a manual of medical helminthology*. William Heinemann Medical.
- (22) Pakes, P.S., Yue-Shoung, L. and Meunier, C.P. (1990) Factor that Complicate Animal Research. In *Laboratory Animal Medicine*. Academic Press, Inc. P.p. 649-660.
- (23) Pelczar. Reid. Chan. *Microbiologia*. 4a edición. Mc Graw Hill. México (1984). P.p. 389.
- (24) Mescott RB. Volumen II. 373-384. (1982) In *The Mouse in Biomedical Research* (eds ML Foster, JD Small & JG Fox). London Academic Press.
- (25) Sebesteny, A. 3, 71. (1969). Pathogenicity of Intestinal flagellates in mice. *Laboratory Animals*.

(26) Yukita Sato. (1993). Influence of Mouse Pinworm (Syphacia obvelata) Infection on the Immune System. J. Parasitol. 41 (1). Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine. Japan.

(27) Yukita Sato. 559-562. (1995). Antibody Production in Syphacia obvelata Infected Mice. J. Parasitol. 81 (4). Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine. Japan.