

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE FARMACIA**



TESIS DOCTORAL

**Estudios sobre la eficacia antihelmíntica de oxfendazol :  
tioxidazol y mebendazol en la triquinosis experimental**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**Francisco Bolas Fernández**

DIRECTOR:

**Antonio Ramón Martínez Fernández**

Madrid, 2015

Francisco Bolás Fernández

TP  
1984  
181



\* 5 3 0 9 8 6 6 9 7 9 \*

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

x - 53 - 223701 - 2

ESTUDIOS SOBRE LA EFICACIA ANTIHELMINTICA DE OXFENDAZOL; TIOXIDAZOL  
Y MEBENDAZOL EN LA TRIQUINOSIS EXPERIMENTAL

Departamento de Parasitología  
Facultad de Farmacia  
Universidad Complutense de Madrid  
1984



BIBLIOTECA

Colección Tesis Doctorales. Nº 181/84

© Francisco Bolás Fernández  
Edita e imprime la Editorial de la Universidad  
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía  
Noviciado, 3 Madrid-8  
Madrid, 1984  
Xerox 9200 XB 480  
Depósito Legal: M-20382-1984

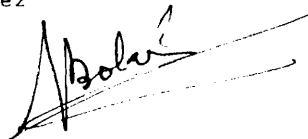
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA

" ESTUDIOS SOBRE LA EFICACIA ANTIHELMINTICA DE OXFENDAZOL ;  
TIOXIDAZOL Y MEBENDAZOL EN LA TRIQUINOSIS EXPERIMENTAL "

Memoria que presenta para aspirar  
al Grado de Doctor en Farmacia ,  
el Licenciado Francisco Bolás  
Fernández

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Bolás', with a long horizontal stroke extending to the right.

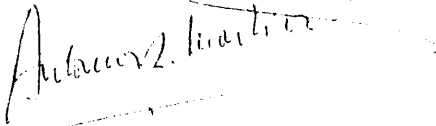
Madrid, Abril de 1981



D. ANTONIO R. MARTINEZ FERNANDEZ, CATEDRATICO Y DIRECTOR DEL  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA DE LA FACULTAD DE FARMACIA DE  
LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

C E R T I F I C O : Que la Tesis titulada " ESTUDIOS SOBRE  
LA EFICACIA ANTIHELMINTICA DEL OXFENDA  
ZOL; TIOXIDAZOL Y MEBENDAZOL EN LA TRI  
QUINOSIS EXPERIMENTAL " , presentada  
por el Licenciado en Farmacia FRANCISCO  
BOLAS FERNANDEZ, para optar al Grado de  
Doctor en Farmacia, ha sido realizada  
bajo mi dirección en el Departamento de  
Parasitología de la Facultad de Farma-  
cia de la Universidad de Santiago y para  
que así conste expido la presente certi-  
ficación.

En Madrid, a 6 de Abril de mil novecien-  
tos ochenta y uno.

  
Antonio R. Martínez Fernández



### Agradecimientos

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento,

. Al Prof. Dr. D. Antonio Ramón Martínez Fernández, que con su constante estímulo y esmerada dirección, ha hecho posible la elaboración del presente trabajo.

. Al Dr. D. Manuel Luis Sanmartín Durán, que en todo momento ha sido un infatigable colaborador en la realización de las experiencias.

. Al Dr. D. Mariano Toro Rojas, cuya orientación y ayuda, en los estudios histopatológicos, resultaron de un valor incalculable.

. Al Dr. D. Víctor Llorente Lacha, así como a Dña. Concepción Franco López de Lerena, por su desinteresada colaboración en la elaboración de esta Tesis.

. A todos mis compañeros del Departamento de Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago por los ánimos, consejos y ayuda que en todo momento me prestaron.





El presente trabajo ha sido realizado con la ayuda de una Beca de Formación del Personal Investigador durante los años 1977 , 1978 y 1979.



1

I N D I C E  
=====

	<u>Pág.</u>
I .- INTRODUCCION .....	9
II .- REVISION BIBLIOGRAFICA .....	13
2.1. Encuadre taxonómico .....	14
2.2. Biología de <u>Trichinella spiralis</u> .....	16
2.2.1. Ciclo biológico .....	16
2.3. Inmunidad en el ciclo endógeno de <u>Tri--</u> <u>chinella spiralis</u> .....	27
2.4. Terapia de la triquinosis .....	34
2.4.1. Mecanismos de acción de antihelmínti- cos .....	38
. Benzimidazoles .....	39
. Levamisol .....	42
. Morantel .....	44
. Organofosforados .....	44
2.4.2. Fármacos ensayados .....	45
. Oxfendazol .....	45
. Tioxidazol .....	57
. Mebendazol .....	60
. Ciclofosfamida .....	81
. Niridazol .....	89
III.- MATERIAL Y METODOS .....	92
3.1. Datos generales .....	93
3.1.1. Animales de experimentación .....	93
3.1.2. Cepa de <u>Trichinella spiralis</u> .....	93

3.1.3. Fármacos ensayados .....	94
. Oxfendazol .....	94
. Tioxidazol .....	94
. Mebendazol .....	94
. Ciclofosfamida .....	94
. Niridazol .....	94
. Maretín .....	94
. Prednisona .....	94
3.2. Técnicas Parasitológicas .....	94
3.2.1. Determinación de la especie .....	94
3.2.2. Dosis infestante .....	95
3.2.3. Infestación con larvas obtenidas pre- via digestión de la carne .....	95
3.2.4. Aplicación de los fármacos .....	96
3.2.5. Recuperación de adultos .....	97
3.2.6. Digestión de la canal y recuento de - larvas .....	98
3.2.7. Obtención de las células del exudado peritoneal .....	98
3.2.8. Obtención de las células esplénicas .	99
3.2.9. Transferencia de las células espléni- cas y del exudado peritoneal .....	100
3,3, Técnicas histológicas .....	101
3.3.1. Microscopía óptica .....	101
3.4. Fotografía .....	102
3.5. Análisis estadístico .....	102

IV .- EXPERIENCIAS REALIZADAS .....	103
4.1. Con oxfendazol .....	104
4.1.1. Tratamiento contra preadultos .....	104
4.1.2. Tratamiento contra adultos .....	104
4.1.3. Tratamiento contra larvas emigrantes	104
4.1.4. Tratamiento contra larvas enquistadas	105
4.1.5. Viabilidad larvaria post tratamiento (p.t.) .....	106
4.1.6. Determinación de la eficacia mínima - de oxfendazol .....	106
4.1.7. Tratamientos contra larvas enquista-- das en presencia de prednisona .....	107
4.1.7.1. Estudio de la evolución de quistes musculares en el lote control .....	108
4.1.7.2. Estudio de la evolución de quistes musculares en animales inmunosuprimi- dos con prednisona antes del trata- - miento con oxfendazol .....	108
4.1.7.3 Estudio de la evolución de quistes musculares en animales inmunosuprimi- dos con prednisona, antes, durante y después del tratamiento con oxfenda-- zol .....	108
4.1.7.4. Estudio de la evolución de quistes musculares en animales tratados sola- mente con oxfendazol .....	108
4.2. Con tioxidazol .....	108
4.2.1. Tratamientos contra preadultos .....	108
4.2.2. Tratamientos contra adultos .....	109
4.2.3. Tratamientos contra larvas emigrantes	109

4.2.4. Tratamientos contra larvas enquistadas .....	110
4.2.5. Viabilidad larvaria post tratamiento (p.t.) .....	110
4.3. Con mebendazol .....	111
4.3.1. Determinación de la eficacia mínima de mebendazol .....	111
4.3.2. Viabilidad post tratamiento con dosis mínimas eficaces de mebendazol .....	112
4.4. Influencia de agentes inmunomodificantes en la evolución de una infestación por <u>T. spiralis</u> .....	112
4.4.1. Evolución de una infestación intestinal por <u>T. spiralis</u> , en ratones no tratados .....	112
4.4.2. Evolución de una infestación intestinal por <u>T. spiralis</u> en ratones inmuno suprimidos con ciclofosfamida .....	113
4.4.3. Evolución de una infestación muscular por <u>T. spiralis</u> después de un tratamiento supresivo con mebendazol .....	113
4.4.4. Evolución de una infestación muscular por <u>T. spiralis</u> después de un tratamiento supresivo con mebendazol en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida .....	114

4.4.5. Evolución de una infestación muscular por <u>T. spiralis</u> después de un tratamiento supresivo con mebendazol en ratones inmunosuprimidos con niridazol que recibieron células inmunocompetentes antes del tratamiento .....	115
. Animales no inmunoestimulados y no tratados .....	117
. Animales no estimulados y tratados con mebendazol .....	117
. Receptores de células peritoneales vía intraperitoneal (i.p.) .....	117
. Receptores de células peritoneales vía intravenosa (i.v.) .....	117
. Receptores de células esplénicas vía i.p. ....	117
. Receptores de células esplénicas vía i.v. ....	117
V .- RESULTADOS .....	119
5.1. De las experiencias con oxfendazol ....	120
. Tratamientos contra preadultos .....	120
. Tratamientos contra adultos .....	120
. Tratamientos contra larvas emigrantes .	121
. Tratamientos contra larvas enquistadas	121
. Viabilidad larvaria p.t. ....	121
. Eficacia mínima de oxfendazol .....	122



. Tratamiento contra larvas enquistadas en presencia de prednisona .....	123
5.2. De las experiencias con tioxidazol ....	158
. Tratamientos contra preadultos .....	158
. Tratamientos contra adultos .....	159
. Tratamientos contra larvas emigrantes	159
. Tratamientos contra larvas enquista-- das .....	159
. Viabilidad larvaria p.t. ....	160
5.3. De las experiencias con mebendazol. ....	174
. Eficacia mínima de mebendazol .....	174
. Viabilidad p.t. con dosis mínimas efi caces de mebendazol .....	175
. Influencia de agentes inmunomodifican tes en la evolución de una infesta- - ción por <u>T. spiralis</u> .....	176
. Experiencia 4.4.1. ....	176
. Experiencia 4.4.2. ....	178
. Experiencia 4.4.3. ....	177
. Experiencia 4.4.4. ....	179
. Experiencia 4.4.5. ....	180
VI .- DISCUSION .....	225
6.1. De los resultados obtenidos con oxfenda zol .....	226
6.2. De los resultados obtenidos con tioxida zol .....	231

## 6.3. De los resultados obtenidos con mebenda

zol .....	235
VII.- RESUMEN .....	248
VIII.-CONCLUSIONES .....	255
IX .- BIBLIOGRAFIA .....	264
X .- ILUSTRACIONES .....	308

8

I.- INTRODUCCION

El tratamiento de las helmintiasis humanas y animales por medios quimioterapéuticos ha entrado en vías de solución, gracias a una exhaustiva tarea que desde hace más de una década, se viene realizando encaminada a la búsqueda de moléculas activas capaces de atacar el helminto en diferentes estadios de su ciclo biológico.

Aunque los conocimientos existentes hoy en día, acerca de las interrelaciones parásito - hospedador y concretamente aquellas que se refieren al metabolismo de los mismos, son amplios y profundos, resulta difícil encontrar diseños teóricos de una estructura química capaz de interferir con una ruta metabólica particular del helminto y que a su vez, no sea responsable de acciones perjudiciales para el hospeda--dor. En este sentido, existen métodos más o menos empíricos destinados al hallazgo de productos con actividad farmacológica de carácter an--tihelmíntico, tales como el cribado (Screening), por los que se han en--contrado numerosos fármacos o al menos el producto base de una familia de los mismos.

Todo "screening" farmacológico implica la existencia de modelos experimentales de laboratorio adecuados en el sentido de que permiten llevar a cabo con éxito y del modo más sencillo posible esta tarea de por sí ardua y rutinaria.

Estos modelos experimentales deben responder a un planteamiento económico simple, es decir, deben permitir obtener los máximos rendimientos posibles, utilizando los mínimos medios.

Por lo tanto, deberán mantenerse en medios u hospedadores baratos, serán capaces de ser sometidos a técnicas de análisis sencillas y las respuestas a los tratamientos se caracterizarán por su universalidad, en el sentido de que pueden extrapolarse al mayor número de gru

pos más o menos afines a ellos. En el caso concreto de los Nematodos, Trichinella spiralis, Nippostrongylus brasiliensis, Nematospiroides dubius, etc., suelen ser las piedras de toque para un gran número de antihelmínticos que por las peculiaridades de sus ciclos biológicos y su relativa facilidad de mantenimiento, se ajustan a las condiciones que un buen modelo experimental deberá reunir.

A partir del descubrimiento del Thiabendazol por BROWN en 1962 y mediante numerosos ensayos basados en efectuar sustituciones en diversas posiciones del núcleo imidazólico, se ha llegado a los tiempos actuales al hallazgo de una familia de antihelmínticos considerados como los más prometedores por el momento, se trata de los benzimidazol-carbamatos. Algunos de ellos como el Mebendazol y Oxfendazol, son de particular interés, obteniéndose resultados sorprendentes en tratamientos contra diversos helmintos efectuados tanto a nivel animal como humano.

La gran eficacia de estos fármacos se centra en la multiplicidad de sus acciones, ya que pueden atacar al parásito bajo diferentes formas actuando simultáneamente. Se ha podido comprobar para ellos la producción de interferencias de rutas metabólicas a distintos niveles a la vez, que producen alteraciones de otros procesos fisiológicos, tales como permeabilidad de membranas o alteraciones morfológicas y estructurales como ocurre con el Mebendazol en la desorganización de la pared del quiste de Trichinella spiralis. Todas estas acciones pueden ser complementadas por un efecto inmunomodificante de los mismos, produciéndose incluso la situación un tanto curiosa, en el caso del Mebendazol, el cual puede actuar como inmunoestimulante a dosis medias y altas y como inmunosupresor a dosis mínimas no eficaces como antihelmín-

ticas. Esto último es de gran importancia, si se tiene en cuenta además que son fenómenos básicamente inmunitarios los que gobiernan el porvenir de un nematodo a lo largo del ciclo biológico en el interior de un hospedador adecuado.

Por todas estas consideraciones y continuando con una de las líneas de investigación establecidas desde hace ya bastantes años en nuestro laboratorio, sobre la que disponemos de abundante información, nos hemos planteado la realización del presente trabajo encaminado a conseguir los siguientes objetivos:

1) Realización del cribado farmacológico de dos nuevos antihelmínticos llegados recientemente a nuestro laboratorio, utilizando como modelo experimental a la especie Trichinella spiralis en ratones de la estirpe CD-1.

2) Determinación de los umbrales de actividad antihelmíntica del Mebendazol y Oxfendazol sobre larvas enquistadas de Trichinella spiralis en ratones CD-1.

3) Influencia que sobre algunas fases del ciclo biológico de Trichinella spiralis, tienen algunas fármacos citostáticos, fuertemente inmunosupresores, tanto de inmunidad celular como humoral y su repercusión en un posterior tratamiento supresivo con Mebendazol

4) Estudio de las modificaciones histopatológicas ocasionadas por el tratamiento con oxfendazol contra larvas enquistadas, así como las que se producen en el tratamiento con Mebendazol en ratones bajo -

diferentes condiciones previas de inmunosupresión y en aquellos que -  
previamente han recibido elementos inmunitarios de donantes estimula--  
dos.

Los objetivos 3 y 4 son consecuencia de la hipótesis general  
ya planteada y en proceso de demostración experimental (SAN MARTIN y -  
col. 1978, MARTINEZ-FERNANDEZ y col. 1978, 1979) de que es el proceso  
de hipersensibilidad de tipo retardado, de la inmunidad mediada por cé-  
lulas, el ejecutor rápido de la destrucción de las fases quísticas en  
Trichinella spiralis, desencadenado por la acción de algunos antihel--  
mínticos benzimidazólicos, como los estudiados en el punto uno.

II.- REVISION BIBLIOGRAFICA  
=====



2.1.- Encuadre taxonómico.

El 2 de febrero de 1835, JAMES PAGET, descubre la presencia de un parásito en las formaciones quísticas musculares, encontradas durante la disección anatómica del cadaver de un hombre fallecido de tuberculosis pulmonar. PAGET, puso el hallazgo en conocimiento de RICHARD OWEN, quien indentificó al parásito enquistado como un nematodo al que denominó "Trichina spiralis".

En 1895, RAILLIET, lo renombró "Trichinella spiralis" por asignación anterior del nombre genérico de "Trichina" a un género de insectos.

Siguiendo la clasificación de los Nematodos de CHITWOOD en 1950, T. spiralis, es incluida dentro de la familia Trichinellidae, caracterizada por la presencia de una vulva sobre el esticosoma, machos sin espícula y hembras vivíparas; debido a la presencia en estado larvario de un estilete bucal y de glándulas esofágicas, libres en la cavidad general, durante toda la vida, solamente rodeadas de una pared muscular y con uno o dos esticosomas; RAILLIET en (1895), incluye a esta familia dentro de la superfamilia Trichuroidea.

La superfamilia se incluye en el orden Enoplida CHITWOOD, B.G. and CHITWOOD, M.B. Clase Aphasmidia (sin fasmidios), denominación correspondiente a CHITWOOD, B.G. y CHITWOOD, M.B. en 1933 y posteriormente cambiada por CHITWOOD, M.B. en 1940, rehabilitando el término Adenphore, que había sido acuñado por VON LINSTON en 1905 por haber sido utilizado anteriormente la denominación Aphasmidia en Entomología.

Los nematodos afasmidia entre los cuales se encuentra Trichinella spiralis proceden según CHITWOOD, M.B. y col. 1950, de la Dory-

laímida, probablemente de especies próximas a las actuales Mermytoidea parásitos de artrópodos en medio acuático, de ahí que los hospedadores más primitivos seguramente habrán sido vertebrados de agua dulce.

La clasificación taxonómica adecuada es por tanto la siguiente:

Phylum Nematoda

Clase Adenophorea (Von Linstow, 1905), CHITWOOD, 1940. Sinónimo Aphasmidia CHITWOOD y CHITWOOD, 1933.

Orden Enóplida CHITWOOD, 1933.

Superfamilia Trichuroidea, RAILLIET, 1895.

Familia Trichinellidae, WARD, 1907.

Género Trichinella.

Especie Trichinella spiralis (OWEN, 1835) -  
RAILLIET, 1895.

Existen actualmente otras especies de Trichinella perfectamente descritas y mantenidas en nuestro laboratorio, si bien nuestro trabajo se realiza solamente con la especie T. spiralis, comprobada su identidad mediante pruebas de aislamiento reproductivo hechas por BOEV S.N. y sus colaboradores, SCHAICHENOV, B. y TAXIEVA, Z.CH. en el Instituto de Zoología de la Academia de las Ciencias de Alma Ata, República del Kazaquistán, en la U.R.S.S. MARTINEZ-FERNANDEZ y cols. (1978)

## 2.2.- Biología de Trichinella spiralis.

### 2.2.1.- Ciclo biológico.

Trichinella spiralis se caracteriza por la posesión de un ciclo biológico endógeno en el que la transferencia de hospedador a hospedador se realiza por mecanismos tales como la depredación, canibalismo y necofagia, mecanismos que son ajenos a la propia triquina, pero imprescindibles para el mantenimiento de sus hospedadores. Se trata pues de un ciclo que básicamente esté asegurado por un proceso trófico complejo que resulta altamente eficaz para el parásito.

Baer llama a este ciclo biológico, autoheteroxeno, pues un mismo animal se comporta como hospedador definitivo en un primer nivel orgánico (el intestino), lugar donde el parásito alcanza la madurez sexual y como hospedador intermediario en un segundo nivel orgánico (músculo estriado), donde la larva, protegida de las defensas del hospedador por una cápsula que la rodea, espera el paso a un nuevo individuo.

Podemos iniciar la descripción del ciclo biológico de Trichinella spiralis, en el momento en que un hospedador adecuado ingiere, bajo diferentes formas, triquinas variables que en el caso de permanecer en los quistes en el momento de la ingestión, quedaron liberadas -

en el estómago merced a la acción del jugo gástrico. En relación al -- tiempo necesario para un total desenquistamiento, existen varias aportaciones, así HELLER, 1933, afirma, que fueron encontradas formas intestinales en la mucosa del intestino delgado a las 12 horas p.i., - - mientras que GOULD (1945), observó triquinas desenquistadas en la mucosa del intestino delgado de rato, dentro de la primera hora p.i. y en la mucosa duodenal, a los 20 minutos p.i.

En relación al ritmo y número de mudas, existen controversias BERNTZEN 1965, afirma que la primera muda tiene lugar en el huevo, en el interior del útero de la hembra, seguida de dos mudas en fase intramuscular y una en fase intestinal de desarrollo.

PODHAJECKY (1964), THOMAS (1965) y SHANTA y MEEROVITCH (1967) consideran que solamente ocurren dos mudas y ambas tienen lugar en el intestino. Un trabajo de KREIS (1937), concluye que los machos mudan tres veces y las hembras cuatro, otros autores como VILLELA (1958) y ALI KHAN (1966), encuentran que tanto hembras como machos mudan cuatro veces. En un trabajo de KOZEK (1971) se proponen cuatro mudas, durante la fase intestinal que tienen lugar en los machos, aproximadamente a las 9, 13, 18 y 25 horas p.i. y en las hembras a las 10, 15, 21 y 28 horas. Asimismo, considera que la inseminación de las hembras ocurre por primera vez a las 30 horas p.i., sin embargo, en trabajos anteriores realizados por KIM (1961, 1962) se proponen cuatro o más mudas, MEEROVITCH (1965) hace referencia sólo a dos y BERNTZEN (1965) encuentra solamente una en sus respectivos medios de cultivo.

De acuerdo con ROTH (1938), los vermes adultos de Trichinella se localizan en la porción distal del intestino en cobayas. GURSH - - (1949), encontró en ratas, que una gran parte de las larvas infestan--

tes aparecen localizadas en un principio en la porción proximal del intestino delgado, a continuación penetra en la mucosa y después de 22 - 24 horas post infestación (p.i.), la mayoría retornan a luz del intestino. Subsecuentemente vuelven a introducirse en la mucosa y muy pocas permanecen en la luz del intestino.

En cuanto a la proporción de machos y hembras existentes en el intestino delgado, existe la creencia general, deducida de las observaciones efectuadas en varios hospedadores (ratas, ratones, cobayas) de que el número de hembras es aproximadamente el doble del de machos, TYZZER y HONEIJ (1916), encontraron, en ratas a los 6-8 días p.i., un 36 - 41% de hembras y en los días 17 - 18 p.i. una proporción aproximada de hembras : machos análoga a 2:1, resultados análogos fueron obtenidos por GOULD 1945. CHRISTENSON 1927 y MC. COY (1931), encontraron, - sin embargo, que la razón sexual era 1:1. Otros investigadores, como - HELLER 1933, HEMMERT-HALS WICK y BUGGE, 1934, MATOFF (1937), GURSH - - (1949), SCHAAF y LAMPE (1958), analizando los vermes recogidos de ratones desde el día 2 al 18 p.i., una variación en la relación sexual que va desde un 2,93 : 4 á 5:1 (hembras:machos). BOYD y HUSTON (1954) refirió que en la luz del intestino de ratas e inmediatamente antes de la copulación de los vermes, la relación sexual de hembras a machos fue - de 2:1. PODHAJECKY (1963), en ratones experimentalmente infestados, encontró que la relación (hembras/machos) en la luz del intestino fue de 2,2:1 entre las 32 - 48 horas p.i., decayendo a 0,4:1 entre los 26-35 días p.i. THOMAS (1965) encontró que la razón de hembras/machos de triquinas intestinales, en ratón decrecía desde 2,93:1, en el cuarto día p.i. hasta 1:1 en el 16° día p.i.

Una vez que las formas intestinales de triquina alcanzaron la

madurez sexual, se disponen para la cópula. Este fenómeno está afectado de modo especial por factores como el sexo, especie del hospedador y también por diferentes productos secundarios producidos por el parásito. DOERR y MENZI (1933), HEMMERT-HALSWICK y BUGGE (1934), pensaban que la copulación tenía lugar en la mucosa del intestino delgado aunque no fueron capaces de demostrarlo. GOULD y col. (1957) y THOMAS (1965), afirman que la copulación ocurre en las vellosidades intestinales y puede repetirse varias veces.

En cuanto al tiempo de iniciación de la copulación, algunos autores determinaron la presencia de abundancia de esperma en la vesícula seminal de los machos entre los 25-38 horas p.i., mientras que la vagina de las hembras no contenía nada. A las 44 horas, la vesícula seminal estaba vacía y la porción anterior de la vagina en la mayoría de las hembras contenía gran cantidad de esperma. Concluyeron que la copulación se verificaba a las 40 horas de que ratas fueran alimentadas con carne triquinosa.

GOULD y col. (1955), encontraron óvulos y espermatozoides en los receptáculos seminales de hembras recogidos de los intestinos de ratas 30 horas después de la infestación.

WU y KINGSCOTE (1957) observaron que la inseminación y la ovulación ocurrían a las 37 horas en hembras recogidas de ratones. Sin embargo, en ratas, encontraron que un 6% de las hembras de triquina recogidas a las 30 horas p.i., contenían solamente óvulos, mientras que a las 32 horas p.i., el 72 por ciento de las hembras contenían óvulos y un 52% también espermatozoides en el receptáculo seminal. En un trabajo más reciente, KOZEK (1971 a), KOZEK (1971 b), propone que la cópula ocurre por primera vez a las 30 horas p.i.

Una vez efectuada la cópula, las hembras penetran en las glándulas de Lieberkuen, comenzando el parto de los embriones y los machos, contrariamente a lo que se pensaba y gracias a los trabajos de PODHAJECKY (1964), THOMAS (1965), MARTINEZ FERNANDEZ (1978), SANMARTIN DURAN (1979), se pudo demostrar que no son expulsados inmediatamente después de la cópula, sino que son los que más tiempo permanecen en el intestino, de tal forma que la autocuración se vislumbra por la inversión de la relación sexual.

Los autores proponen diversos tiempos para el momento en que comienza el nacimiento de las larvas. HELLER (1933), dice que tiene lugar a partir de 80-90 horas. STRYKER (1947), observa el nacimiento de las larvas entre el 9-23 día p.i., en el hombre. GOULD y col. (1955) considera que es a partir de las 96 horas p.i. BRITOV (1962), admite que entre el 6-7 día p.i.

No se observa una unidad de criterios a través de la literatura en relación al número de embriones que una larva puede producir en condiciones naturales. MC.COY (1931) calculó que una hembra de triquina en rata produjo 200-400 larvas hijas. Dicho cálculo lo obtuvo considerando que la proporción hembras:machos en el intestino era 1:1. Idéntico resultado fue obtenido por WOLFFHUGEL (1938) quien infectó una rata con dos larvas, un macho y una hembra, y recogió 200 larvas de sus músculos. El propio Mc.COY en (1932), refirió que en monos experimentalmente infestados, el número medio de larvas por hembra adulta fue de 1500.

NOLF (1937), implantó una hembra de triquina grávida en una rata la cual produjo 1.112 larvas hijas.

ROTH (1939), admite que una hembra adulta deposita de 1300 á -

1500 larvas durante su vida en la mucosa del intestino del cobaya.

EDNEY y col. (1953), estableció en 345, el número de larvas - producido por cada hembra grávida.

THOMAS (1965), encontró que cada hembra adulta, en el intesti- no del ratón, produjo entre 91 y 625 larvas.

El nacimiento de los embriones parece ser tiene lugar uno a - uno a partir del orificio vulvar de la madre. Inmediatamente del naci- miento comienza la emigración de los recién nacidos hacia los músculos esqueléticos. No existe tampoco un acuerdo unánime entre los diversos autores en relación a las vías elegidas para la emigración, parece ser que este fenómeno se halla fuertemente condicionado por el hospedador.

CERFONTAINE (1895), ASKANAZY (1895), GRAHAM (1897), STAUBLI- - (1909), CHANDLER y col. (1941), afirman que las larvas recién nacidas entran en la mucosa intestinal para ser depositadas directamente en - los vasos linfáticos intestinales, vénulas mesentéricas y conductos to- rácicos, posteriormente penetran en el lado derecho del corazón y des- pués de sobrepasar los filtros hepático y pulmonar entran en la circu- lación periférica para distribuirse por todo el cuerpo del hospedador. Parece ser que no todas las larvas emigrantes alcanzan el músculo es- quelético, a través de la circulación periférica, existen algunas vías que aunque son minoritarias en relación a las anteriormente citadas, - han sido citadas no obstante por ciertos autores, LEUCKART (1866), - - afirma que muchas larvas pueden emigrar a través del tejido conectivo, STAUBLI (1909), encontró algunas larvas emigrando a través de diversos fluídos corporales, aunque la mayor parte lo hacía por vía sanguínea. BERNTZEN (1965), observó que en ratas, muchas de las larvas verifica-- ban su emigración hacia los músculos esqueléticos a través del tejido



conectivo. Resultados similares fueron obtenidos por SHANTA Y MEERO- - VITCH (1967) con ratones. BEREZANTSEV (1963), encontró abundantes hemo- rragias en pulmón, cerebro, músculos, corazón y otros órganos de rato- nes durante la emigración de las larvas y dedujo que las larvas pasa- - ban a través de los capilares, entraban en el sistema nervioso y repe- - tían su emigración por la misma ruta hasta que eventualmente, encontra- - ban el músculo esquelético. Existe una aceptación unánime acerca del - especial organotropismo que Triquinella spiralis posee por el músculo esquelético. VOGEL (1930).

Una vez que las larvas de triquina alcanzaron el músculo esque- - lético y penetraron en las fibras musculares estriadas, experimentan - un crecimiento hasta alcanzar una longitud de 1 mm. aproximadamente y - comienza el fenómeno de encapsulación como resultado de una reacción - del hospedador.

A los 17-18 días p.i., cuando la larva empieza a enrollarse, - es capaz de resistir la acción de los jugos digestivos y desde este mo- - mento se convierte en potencialmente infestante, para otro hospedador que puede ingerir el músculo parasitado. La larva desarrollada presen- - ta ya un alto grado de diferenciación sexual.

A los 30 días la larva de triquina ha crecido, hasta una longi- - tud 10 veces mayor que la que tiene en su origen y un diámetro siete - veces mayor que el original. La larva encapsulada, de 30 días, mide - 0,9-1,28 mm. de largo por 0,035-0,040 mm. de ancho.

Teóricamente, la invasión de los músculos del hospedador por - larvas de T. spiralis puede continuar durante tanto tiempo como hem- - bras grávidas pueden ser localizadas en el tracto intestinal, se trata - pues de un período variable que depende mayormente del estado inmunoló-

gico del hospedador.

Dentro de los músculos esqueléticos en general, existen algunos por los que triquina muestra predilección a la hora de enquistarse KUHN (citado por RAILLIET en 1895), da una lista del orden de preferencia que T. spiralis tiene por ello: diafragma, paletilla, laringeos, interno crural, nuca, lingual, bucales, extraoculares, abdominales, flexores de los dedos, músculos del cuelló, intercostales y músculos de la espalda.

DOERR Y SCHMIDT(1929 a), después de haber inyectado hembras grávidas de triquina dentro de la vena yugular de cobayas, fueron capaces de demostrar la existencia de larvas en los siguientes músculos en orden decreciente de la densidad de los mismos: maseteros, diafragma músculos de extremidades anteriores, músculos de extremidades posteriores.

En estudios realizados "post mortem" sobre hombre o cerdo, se utiliza frecuentemente la porción tendinosa del diafragma, mientras que en pequeños animales de experimentación tales como la rata, el cobaya, suelen ser los maseteros y la lengua los músculos preferidos para la detección del parásito y posteriores estudios histológicos.

SCHOOP y col. (1961), determinaron que en ratas y ratones infestados, los músculos extraoculares fueron invadidos por las larvas con una intensidad, dos veces mayor que los músculos esqueléticos y en ratas, ratones, conejos, los músculos de los ojos fueron regularmente más infestados que los de los dedos.

OLSEN y col. (1964), encontraron que, entre doce cerdos, experimentalmente infestado, el diafragma registró una mayor densidad de larvas en siete de ellos y la lengua en cinco. También encontraron que

fué mayor la infestación en los músculos deltoides que en los pectorales.

Resulta lógico pensar que si la emigración de las larvas de T. spiralis hacia los músculos esqueléticos tiene lugar mayormente por vía hemática, deberán los tejidos, que por ser muy activos y estar intensamente irrigados, los que registren una mayor densidad de larvas de T. spiralis. Para demostrar esta hipótesis, se han llevado a cabo algunos experimentos: BERGER y STAHELIN (1928), cortaron el nervio ciático de una de las extremidades de un cobaya, quedando por tanto paralizada, posteriormente, lo infestaron experimentalmente con triquina, observando que ambas extremidades fueron igualmente parasitadas.

Esto refuta la idea de que el grado de infestación en un músculo es directamente proporcional al trabajo desarrollado por el mismo. SCHEIFLEY (1937), extrajo toda la cadena de ganglios pertenecientes a la región lumbar de uno de los lados, en cinco perros, con lo cual, el aporte sanguíneo a los miembros de ese lado aproximadamente dos veces mayor que el correspondiente a los miembros del lado opuesto, el resultado fue que no encontró diferencias significativas en el grado de localización de parásitos en las extremidades de ambos lados. KOZAR y KOZAR (1960) encontraron que en ratones forzados diariamente a un trabajo muscular, no se incrementó la concentración de larvas en el diafragma. DOERR y SCHMIDT (1929 a), inyectaron hembras grávidas de triquina en sangre circulante, en cobayas, y determinaron a continuación la intensidad de las larvas en varios músculos. La conclusión a la que llegaron fue que la distribución de larvas en los diferentes músculos es triados, tanto si proceden de una infestación natural entérica, como si proceden de una inoculación parenteral, no está condicionada sola-

mente por factores mecánicos de transporte de las larvas en la sangre inoculada.

La auténtica razón de la diferente distribución de las larvas de triquina en los distintos músculos esqueléticos, todavía no ha sido aclarada.

Hay muchas aportaciones relativas al momento en que tiene lugar el comienzo de la encapsulación de las larvas. Así PHILLIPSON y KERSHAW (1961), consideran que hacia el día 22 p.i., SHANTA y MEEROVITCH (1966), encuentra que las larvas comienzan a enquistarse el día 21 p.i., BRUCE (1970 b), observó que el período de desarrollo activo del quiste tiene lugar entre los días 18-22 p.i. STEWART y col. (1972) propone un plazo de 16 días para un completo desarrollo del proceso de encapsulación. Este proceso depende del momento de la llegada de las larvas a los músculos que obviamente no es el mismo para los distintos hospedadores y ni siquiera para todas las larvas pertenecientes a la misma infestación.

La naturaleza colagénica de la cápsula de T. spiralis, evidenciada en estudios al Microscopio óptico por RITTERSON (1966), GOULD (1970), BRUCE (1970 a), sugiere la participación del tejido conectivo circundante en su formación, previa estimulación del mismo.

Al microscopio electrónico, los estudios recientemente efectuados por TEPPEMA y cols. (1973) y DESPOMMIER (1975), confirman la participación de la fibra muscular en la formación de la cápsula.

Estudios ultraestructurales por FASSKE y THEMANN (1961), RIBAS MUJAL y RIVERA POMAR (1968), mostraron que durante las primeras fases de infestación muscular con larvas de Trichinella spiralis se producen marcados cambios morfológicos en las mismas, tales como:

- a).- Aumento de la matriz sarcoplásmica.
- b).- Aumento del tamaño y número de núcleos, así como de sus nucleolos.
- c).- Pérdida de integridad estructural en las sarcómeras seguida de una degeneración y desaparición de elementos miofibrilares.
- d).- Cambios en la posición de las triadas seguidas de una intensa proliferación de los componentes del sistema T y del retículo sarcoplásmico rugoso.
- e).- Incremento en el tamaño y número de las mitocondrias.
- f).- Aumento en el número de complejos de Golgi.

Paralelamente a los cambios morfológicos anteriormente señalados, ocurren cambios bioquímicos ya en los estadios tempranos de la infestación. STEWART y CLARK (1972 a) han evidenciado un notable aumento de RNA en las fibras musculares de diafragmas infestados con relación a los testigos entre los días 16 y 32 p.i. Experimentos realizados por los mismos autores (1972 b), mostraron una incorporación de metionina (aminoácido presente en pequeñas cantidades en el colágeno) en los diafragmas infestados que mostró un modelo de cambio similar al observado con la incorporación de prolina, (referido a cambios morfológicos). Esto sugiere que el incremento en la incorporación de prolina por parte de los músculos infestados frente a los no infestados, es un reflejo primario de las alteraciones en el metabolismo de las proteínas de las fibras musculares parasitadas más bien que un índice de cambios debidos a la síntesis de proteínas quísticas.

### 2.3. INMUNIDAD EN EL CICLO ENDOGENO DE TRICHINÉLLA SPIRALIS

Los mecanismos inmunológicos, tanto celulares como humorales - implicados en las relaciones de los helmintos con sus hospedadores, - pueden considerarse análogos a aquellos mecanismos efectivos ante - - otros agentes antigénicos infecciosos.

Los parásitos que como Trichinella spiralis invaden el torrente circulatorio y tejidos produciendo lesiones en los mismos, provocan una respuesta inmunológica mejor que aquellos que se limiten a permanecer en las superficies externas o internas del organismo, sin apenas - lesionarlos CULBERTSON (1938).

Hay dos respuestas básicas en la inmunidad adaptativa, la humoral y la celular. La inmunidad humoral implica la producción y secreción de anticuerpos, moléculas de inmunoglobulinas capaces de reaccionar con los antígenos de los tejidos extracelulares, mientras que la - celular se transmite por medio de linfocitos T no detectándose anticuerpos específicos.

LARSH y cols. consideran que la autocuración es un fenómeno exclusivamente celular, debido a una reacción de hipersensibilidad retardada. A esta conclusión llegan mediante la realización de una serie de trabajos a partir del año 1964, que se basen en el efecto que producía la transferencia de diversos órganos inmunógenos desde ratones o ratas sensibilizadas a receptores infectados con T. spiralis. De este modo, transfieren ganglios linfáticos LARSH y cols. (1964 a); células del - exudado peritoneal LARSH y cols. (1964 b, 1966), obteniéndose una violenta expulsión de vermes de los recipientes en los momentos de inflamación aguda.

Mediante la sensibilización con extractos crudos larvarios en adyuvante completo de Freund, LARSH y cols. (1969), obtuvieron resultados altamente positivos los cuales a su vez, fueron mejorados utilizando el antígeno Melcher's, CYPESS y LARSH (1970), CYPESS y cols. (1971). LARSH y WEATHELY (1974 a), observando que este preparado antigénico, potenciaba los fenómenos de inhibición macrofágica (MIF) en estudios tempranos.

Sin embargo, la transferencia de antisueros de donantes infestados, no manifestó efectos sobre la inmunidad por observaciones en el número de vermes en el intestino delgado, LARSH y cols. (1970 b), GORE y cols. (1972).

La transferencia de células del bazo desde donantes sensibilizados (inmunizados) y tratados durante 16 días con suero antitímocítico (ATS), a recipientes infestados con T. spiralis, produjo en éstos una pérdida de inmunidad, basada en el retraso, en la autocuración en relación a los controles, LARSH y cols. (1972). A iguales conclusiones llegaron KOZAR y cols. (1971 y MACHNICKA (1972).

WALLS y cols. (1973), utilizaron ratones CBA/H, timentomizados a los que inyectaron células singénicas de la médula ósea y observaron que algunos vermes adultos de T. spiralis, permanecían en la mucosa intestinal después de 30 días p.i., mientras que en los testigos ya se había producido la autocuración en el séptimo día p.i. La mayor diferencia entre ambos grupos la observación en las reacciones inflamatorias. En los timentomizados, la inflamación intestinal fué despreciable y solamente se detectaron pocos eosinófilos 10-15 días después de la infestación, mientras que en los controles apareció ya una suave inflamación 3-10 días después de la infestación compuesta de neutrófilos

eosinófilos, linfocitos y macrófagos.

Existe un consenso general en considerar que la respuesta de hipersensibilidad retardada tiene dos componentes fundamentales. El primero lo constituyen las uniones inmunológicas específicas entre las células T - memoria y los antígenos procedentes del verme, lo cual ocasiona un insulto al tejido interesado, el segundo consiste en una respuesta inflamatoria no específica del consiguiente tejido injuriado que crea condiciones desfavorables para verme, causando directamente su expulsión. LARSH y RACE (1954), LARSH y cols. (1956), COKER (1956), LARSH y cols. (1959, 1962, 1966, 1974 a). WASSALLI y MCCLUSKEY (1971).

En todos estos estudios, los cambios histopatológicos intestinales después de la inoculación fueron similares en todos los casos, incluyendo los componentes celulares. Difieren en el tiempo requerido para la iniciación de la fase aguda de la inflamación y su severidad, según el nivel de inmunización existente en el momento de la inoculación, la inmunocompetencia (edad) del hospedador en el tiempo de la inoculación y el grado de infestación. Los cambios químicos que acompañan a la inflamación aguda, ayudan a que los vermes abandonen las áreas inflamadas. Así por ejemplo, cambios químicos como una acidosis afectaron al parásito (CASTRO y cols. 1973). La liberación de mediadores farmacológicamente activos procedentes de la inflamación intestinal, pueden impedir el metabolismo del parásito y actúan indirectamente por medio de las funciones gastrointestinales del hospedador, produciendo un microambiente desfavorable a la infestación. Todo proceso inflamatorio posee un carácter inmunológico, siendo importantes los movimientos de los macrófagos activados, que van a los lugares de inflamación, atraídos por factores liberados por los linfocitos previamente



sensibilizados por un antígeno WILLOUBHBY (1978).

Estudios más recientes ponen de manifiesto que no sólo las células T son las responsables del fenómeno de autocuración, sino también las células - B (anticuerpos) tienen influencia pudiendo establecer de este modo, una estrecha colaboración entre inmunidad celular y humoral. GIRAUDO y cols. (1973), LARSH (1975).

OGILVIE y cols. (1974), consideraron para Nippostrongylus brasiliensis que el fenómeno tenía lugar en dos fases; una primera de inmunidad mediada por anticuerpos (I.M.A.) que produce la alteración orgánica de los gusanos implantados y una segunda fase de inmunidad mediada por células (I.M.C.), que son timodependientes, ocasionando éstas, una inflamación específica responsable de la expulsión de los gusanos. Esta inflamación se considera específica en el sentido de que es inducida por células T, dependientes de la médula ósea, como lo comprobaron WAKELIN y WILSON (1978) en ratones NIH, irradiados o timectomizados, si bien por otra parte, actúa inespecíficamente contra diversas especies de parásitos que cohabiten en la misma región.

LOVE y cols. (1976), observaron que en ratas infestadas con Trichinella spiralis, la transferencia del fenómeno inmunitario tiene lugar tanto por el suero como por las células de los ganglios linfáticos y de forma más eficaz por ambos. En ratones NIH, WAKELIN y LLOYD (1976 b), demostraron también que tanto el suero como los linfocitos de ganglios linfáticos mesentéricos, transfieren un estímulo de expulsión de la población intestinal.

Es importante considerar también el posible papel que pueden desempeñar en el fenómeno de la autocuración, aquellos agentes modificadores de la motilidad intestinal como los producidos por las células

cebadas. En este sentido, varios autores como MICHALSKA, Z y KARMANSKA (1976), KARMANSKA y MICHALSKA (1977), KARMANSKA y cols. (1977), observaron que impidiendo la actividad de las células cebadas a nivel de la lámina propia del intestino, se retrasaba la expulsión de los adultos.

SANMARTIN DURAN (1979), encontró una correlación lineal múltiple entre el tiempo p.i., el número de gusanos adultos y el número de macrófagos peritoneales, correspondiéndose el aumento rápido con la autocuración. Del mismo modo, constató la actividad de los linfocitos T productores de linfoquinas por la inhibición de la emigración de macrófagos que desde el quinto día p.i. aumenta progresivamente, paralelo al ciclo y continúa más allá de la autocuración, es decir, de la desaparición del estímulo antigénico fundamental.

Las fases parenterales de Trichinella spiralis, determinaron un aumento en la tasa de anticuerpos circulantes que al actuar sobre los embriones circulantes a través de los líquidos corporales, disminuyen la intensidad de la infestación muscular subsiguiente. Por otra parte, el hecho de que las larvas recién nacidas sean las formas más pequeñas de T. spiralis, así como la falta de una cutícula resistente hacen que éstos sean más susceptibles a las defensas del hospedador. KAZURA y GROVE (1978). Estos mismos autores, mediante estudios realizados "in vivo", afirman que las larvas recién nacidas de T. spiralis, pueden ser atacadas por eosinófilos, si bien su destrucción necesita la presencia de anticuerpos específicos. Sin embargo, DESPOMMIER (1971), JAMES y DENHAM (1975), afirmaban, mediante experiencias basadas en la inyección de larvas I (L I) de T. spiralis por vía intravenosa (i.v.), que éstas no resultaban inmunógenas ni sensibles a las reacciones inmunitarias del hospedador, ya que alcanzaban un nivel de en-

quistamiento independiente del estado inmunológico del mismo. Este hecho sugirió a JACQUELINE y cols. (1978 a) la idea de que el bloqueo de las larvas - I se efectuaba a nivel de la mucosa intestinal, antes de que estas larvas pasaran a los espacios linfáticos o a las vesículas mesentéricas, impidiéndose incluso su nacimiento. Esta hipótesis la confirmaron mediante otro trabajo del mismo año (1978 b), en el que estudiaron la eficacia "in vitro" de diferentes sueros inmunes de ratones, ratas y cerditos con vistas a la reducción en la producción de larvas por Trichinella spiralis. Trataron de averiguar la incidencia, en el proceso de distintos anticuerpos humorales e inmunoglobulinas segregadas en el intestino, encontrando que los sueros y las secreciones de animales vacunados y eficazmente protegidos por un antígeno metabólico resultaban inactivos "in vitro", mientras que aquellos que procedían de animales infestados experimentalmente o inmunizados por antígenos somáticos inhibían la producción de larvas. En cuanto a los niveles de inmunoglobulinas séricas, las más activas son las IgM, seguidas de las IgG, mientras que las IgA tienen un papel prácticamente inapreciables. En las secreciones intestinales las IgA son fundamentalmente quienes provocan la inhibición de la producción de las larvas, junto con componen-es del infiltrado inflamatorio que actúan directamente sobre las hembras madres.

SAKALAUSKAITE en (1978), efectuó un estudio del papel desempeñado por las células T y B en la respuesta inmune a lo largo de una infestación en 166 ratones con 80 larvas de Trichinella spiralis. Según esto, los anticuerpos humorales aparecían sobre el día 15 p.i., registraban los máximo títulos en el día 30 y permanecían en niveles altos hasta el día 120, fecha en que terminaba el test; solamente la IgM se

mantuvo presente desde el día 15 al 60. Las IgG aparecían sobre el día 10, registraban un máximo entre los días 20 y 30 retornando a niveles normales hacía el día 90. La inmunidad celular desarrollada hacía el día 10 alcanzó un máximo sobre el día 20. La máxima respuesta inmune fue registrada durante la fase aguda de la infestación, durante la emigración de las larvas. En la fase crónica de la infestación, cuando las larvas se encapsularon en el músculo del hospedador, las pequeñas cantidades de antígenos lanzados por el parásito a través de la cápsula, fueron suficientes para mantener la producción de anticuerpos humorales, predominantemente de IgG. Sin embargo, no encontró una correlación entre los sistemas T y B.

La llegada de las larvas a los músculos esqueléticos produce de nuevo una estimulación de los fenómenos de hipersensibilidad retardada como consecuencia del nuevo insulto sufrido por los tejidos del hospedador. Estas reacciones son T-dependientes, KARMANSKA y MICHALSKA (1978). Los mecanismos inmunitarios, tanto humorales como celulares, descienden o a lo máximo se mantienen a partir del momento en que las larvas se encapsulan completamente, debido al aislamiento que ésta produce entre parásito y hospedador. Si por cualquier fenómeno se rompe o altera la estructura de esta barrera como puede ser el tratamiento con antihelminfos, tales como Thiabendazol JARCZEWSKA y cols. (1974) ó Mebendazol DE NOLLIN y cols. (1974), RODRIGUEZ CAABEIRO y cols. (1978), SANMARTIN DURAN (1979), se desencadena un proceso de hipersensibilidad retardada a nivel muscular acompañado de un aumento en la tasa de anticuerpos circulantes, todo ello estimulado por la existencia de un foco antigénico desnudo, producido a consecuencia de la rotura en la pared y matriz quística subsiguiente al tratamiento.

#### 2.4. TERAPIA DE LA TRIQUINOSIS

La historia real del tratamiento de la triquinosis comienza tan solo en los años sesenta, después del descubrimiento del Thiabendazol, BROWN, N y cols. (1962). Hasta las revisiones de LUPASCU y cols. (1970) que recoge íntegramente la de la Tesis Doctoral de MARTINEZ, A.R. (1965), así como la de CAMPBELL, W.C. (1974), no se citan fármacos con real eficacia experimental, siendo principalmente benzimidazoles y fosforados orgánicos.

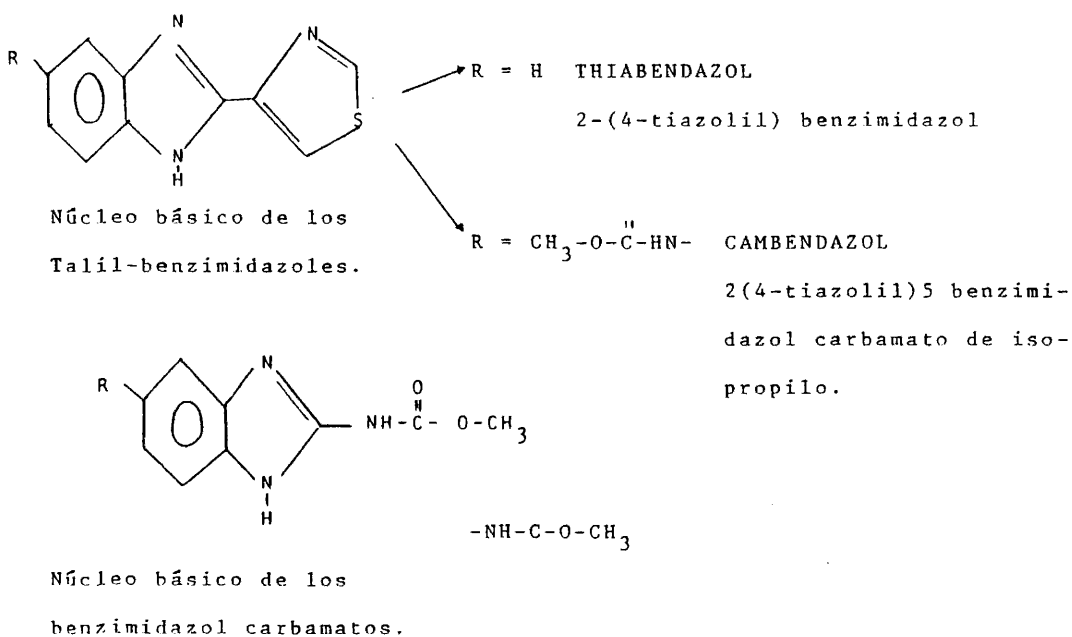
El Thiabendazol fué, de los benzimidazoles, el primero que se probó íntensamente de forma experimental, CAMPBELL y CUCKLER (1964); MARTINEZ, A.R. (loc. cit.) y en pacientes humanos, STONE y cols. (1964), trabajos seguidos al mismo tiempo y más tarde por numerosísimos autores.

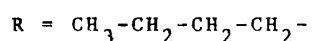
El posterior desarrollo de los benzimidazoles consistente químicamente en la sustitución en la molécula del 4-tiazolil en posición dos, por un carbamato de metilo, al tiempo que se alarga éste con radicales tales como, un benzoil en el caso del MEBENDAZOL fenil-tio en FENBENDAZOL; fenil-súlfenil en OXFENDAZOL o con cadenas lineales tales como, butil en PARBENDAZOL; propoxi en OXIBENDAZOL y propil-tio en ALBENDAZOL; todas ellas en posición cinco, aumentó el arsenal terapéutico antihelmíntico y consecuentemente el número de sustancias con posible acción contra alguna de las fases del ciclo biológico de triquina.

En nuestro laboratorio y sobre una línea de investigación establecida, se viene ensayando el espectro total de algunos de estos antihelmínticos, RODRIGUEZ CAABEIRO, F. (1977), en donde ensayó la eficacia de varios benzimidazol carbamatos y fosforados orgánicos sobre las

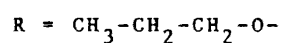
distintas fases del ciclo biológico endógeno de Trichinella spiralis, destacándose de forma especial el mebendazol por su gran eficacia contra larvas enquistadas, gracias a una colaboración del antihelmíntico y la defensa inmunitaria, conectada sobre la larva, convirtiendo cada quiste en un granuloma que se renueva lentamente hasta restituir el músculo parasitado a la normalidad.

En las páginas siguientes (35,36 y37), representamos las fórmulas estructurales correspondientes a los diversos benzimidazoles, así como las de algunos antihelmínticos más usados actualmente en el tratamiento de las Nematodosis.

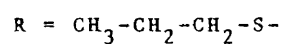




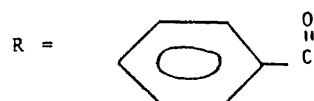
PARBENDAZOL 5-butyl-2 benzimidazol  
carbamato de metilo.



OXIBENDAZOL 5-N-propoxi-2-benzimi-  
dazol carbamato de me-  
tilo.



ALBENDAZOL 5-propil-tio-1H-benzimi-  
dazol-zil, carbamato de  
metilo.



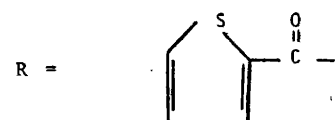
MEBENDAZOL N-5(6)-benzoil-2-benzi-  
midazol carbamato de me-  
tilo.



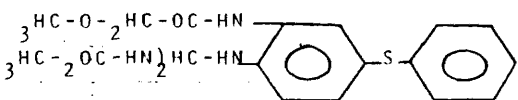
FENBENDAZOL 5(-fenil-tio)-2 benzimi-  
dazol carbamato de meti-  
lo.



OXFENDAZOL 5(6)-fenil sulfinil-2-  
benzimidazol carbamato  
de metilo.

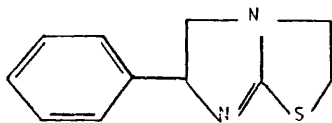


ONCODAZOL 5-2-tienil carbonil-14-  
(R-17-934) benzimidazol-zil carba-  
mato.



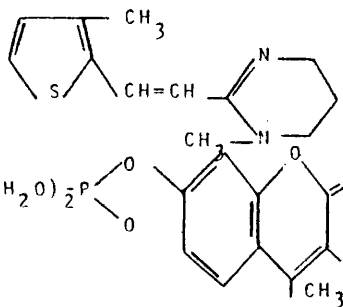
FEBANTEL  
(RINTAL)

N-2(-(2,3-bis-(metoxi--  
carbonil)-guanidino)-5-  
(fenil tio)-fenil)-2-me  
toxiacetamida.



LEVAMISOL

2,3,5,6, tetrahidro-6-  
fenil imidazo (2,1)tia-  
zol.



MORANTEL



HALOXON

Resulta muy sugestivo un estudio llevado a cabo por SPALDONOVA y CORVA, 1978, en donde tratan de establecer una relación estructura/actividad entre varios antihelmínticos benzimidazol carbamatos y su eficacia contra larvas enquistadas de Trichinella spiralis.

Primeramente, dichos autores, encontraron que mebendazol, perbendazol y albendazol son efectivos contra larvas musculares de T. spiralis, mientras que oxibendazol, oxfendazol y fenbendazol (excepto a dosis muy altas) resultaban inefectivas.

La interdependencia de esto y la naturaleza del grupo químico sustituyente en posición cinco fué la siguiente: Si el radical fenilo se unía al sistema benzimidazol carbamato, a través de un grupo carbo-



nilo, la eficacia contra larvas de T. spiralis, resultaba ser de un 100%. La sustitución de un carbonilo por un sulfuro, llevaba consigo una pérdida de actividad frente a larvas musculares (oxifendazol y fenbendazol). Un fenómeno similar ocurría también con los sustituyentes alifáticos. En posición 5 el parbendazol lleva un radical butilo y resultó altamente eficiente; al sustituir el radical butilo por un radical propoxi (oxibendazol), se obtenía una pérdida de actividad frente a las larvas. Cuando en la molécula del oxibendazol, se sustituía el oxígeno del grupo propoxi por un azufre (albendazol), se recuperaba la actividad.

Por tanto parece probable, según los citados autores, que la unión de radicales cíclicos en posición 5 a través de azufre, disminuye o incluso anula la eficacia sobre larvas musculares de T. spiralis, mientras que en el caso de radicales alifáticos, la mantiene. Por otra parte, la unión de radicales alifáticos a través de un oxígeno en posición cinco, produce una pérdida de la actividad larvívica en estos compuestos.

#### MECANISMOS DE ACCION

Los conocimientos actuales acerca de los mecanismos de acción de los diversos fármacos usados en el tratamiento de procesos patológicos producidos por nematodos son escasos, pudiendo establecerse rutas generales más bien que detalles bioquímicos concretos.

BENZIMIDAZOLES.

La hipótesis más sencilla acerca del mecanismo de acción de los benzimidazoles es la de que éstos fármacos actúan sobre una base común, pero su farmacocinética está afectada por la distribución y tiempo de vida media en el hospedador, así como en el parásito. De este modo, se encuentran mayores concentraciones de Mebendazol en las células del intestino que en otras partes del cuerpo en Ascaris suum (VAN DEN BOSSCHE y DE NOLLIN, 1973), tratamientos prolongados a dosis bajas efectuados con benzimidazol carbamatos, resultan más eficaces que aquellos en los que se utilizan dosis altas y únicas. (COLES y MCNEILLIE, 1977), lo que parece indicar que los nematodos acumulan benzimidazoles en su organismo, fenómeno que por otra parte ha sido observado por COLES (1977). En contraste, el Mebendazol parece que penetra en el interior del quiste de Echinococcus granulosus por difusión REISIN y cols. (1977).

Los efectos mutágenos de ciertos benzimidazoles, sobre bacterias sugieren una incorporación directa de los mismos sobre los ácidos nucleicos, provocando sustituciones en sus bases (SEILER, 1973). Sin embargo, Thiabendazol y tiofanato produjeron un incremento de la actividad genética en el hongo Aspergillus nidulans (KAPPAS y cols. (1974) no obteniendo evidencias de que los benzimidazoles se incorporaban al DNA de nematodos u hongos. Se realizaron diversos estudios con tiabendazol sobre el hongo Aspergillus nidulans a fin de conocer su mecanismo de acción, ALLEN y GOTTLIEB, (1970), atribuyen al tiabendazol una acción sobre el transporte electrónico de la cadena respiratoria, STUTZENBERGER y PARLE, (1973), establecen una interferencia con la síntesis

sis y utilización de la vitamina B<sub>12</sub>. Sin embargo, conocimientos más recientes (SEILER, 1975, DAVIDSE, 1975, 1976), sugieren que el metil benzimidazol carbamato (MBC), afecta a la mitosis por interferencia con las estructuras microtubulares, uniéndose a una tubulina e impidiendo de esta manera su polimerización. A igual conclusión, llegó (DAVIDSE 1976) que mediante la utilización de una raza de A. nidulaus, resistente a MBC, vió que la cantidad de éste, asociada al extracto micelial se había reducido considerablemente y basó la resistencia adquirida por el hongo en un cambio estructural en la molécula de la tubulina. Según DE BRABANDER y cols. (1975), el benzimidazol-carbamato (R-17934) que tiene propiedades antitumorales, parece actuar por interferencia con los microtúbulos en las células de la glándula mamaria. Todavía no se han llevado a cabo experimentos adecuados para ver si los benzimidazoles se unen a la tubulina de los nematodos, al igual que sucede con el hongo A. nidulaus. Sin embargo, se sabe que el mebendazol reduce la cantidad de glucógeno en un número determinado de especies de helmintos por reducción en la captación de glucosa exógena, y así en el caso de Ascaris summ, las más altas concentraciones de dicho fármaco fueron localizadas en las células del epitelio intestinal, en donde tienen lugar la absorción de glucosa (DE NOLLIN y VAN DEN BOSSCH 1973). Mediante exámenes histológicos detallados, pudo evidenciarse que este antihelmíntico provoca, sobre las células intestinales al igual que en otros tejidos, una desaparición de las estructuras microtubulares citoplásmicas, (BONGERS y cols. 1975 a, b; VERHEYEN y cols. 1976).

Al Thiabendazol, no así al Mebendazol, se le ha atribuído una acción inhibitoria sobre la fumarato reductasa en Haemonchus contortus y en este sentido, la fumarato reductasa de especies resistentes a ben

zimidazoles resulta asimismo, resistente a tiabendazol y cambendazol - MALKIN y CAMACHO (1972), PRICHARD (1973), ROMANOWSKI y cols. (1975). Sin embargo, los intentos para detectar este enzima en los huevos de Nematodirus spathiger, no fueron satisfactorios, indicando que la sola inhibición de la fumarato reductasa no explica la actividad ovicida del tiabendazol sobre la especie mencionada (COLES, 1977). Estudios más recientes, efectuados con algunos fármacos antihelmínticos, sobre los sistemas de transporte electrónico en las mitocondrias del parásito y del hospedador, sugirieron que el tiabendazol podría actuar sobre un determinado número de puntos en ambos sistemas, pero pareció improbable que ése fuera el primer lugar de acción del fármaco (KOHLER, - 1978). "In vitro", estudios efectuados en Fasciola hepática y Moniezia expansa con Mebendazol y Cambendazol, pusieron de manifiesto una disminución en los niveles de ATP. En el caso de F. hepática, 800 p.p.m. de medicamento en suspensión, durante 30 minutos, fueron necesarios para producir dicho efecto. También se observaron claros efectos sobre los nucleótidos de M. Expansa, "in vivo", con mebendazol, 3 horas después de la dosificación. Sin embargo, los parásitos eran eliminados física y metabólicamente intacto (BRYANT y cols. 1976, RAHMAN y cols. 1977). La posible interferencia con el metabolismo energético y con los mecanismos de transporte electrónico, podrían ser consecuencia de una analogía estructural de los benzimidazoles con las purinas a la vez que se favorece una liberación de ATPasa, produciéndose como consecuencia un descenso en los niveles de ATP.

Los mecanismos por los cuales los nematodos adquieren resistencia a diversos benzimidazoles, no son bien conocidos todavía, no obstante, se pueden atribuir a un aumento del poder de degradación del me

dicamento por parte del parásito o de disminuir su capacidad de absorción, así como alteración de los receptores específicos a los cuales se une el medicamento. La resistencia a benzimidazoles adquirida por el hongo Sporobolomyces roseus es al menos, debida en parte a una disminución en la toma y asimilación de los mismos (NACHMIAS y BARASH, 1976).

Aunque estudios anteriores indicaron que la resistencia adquirida por huevos de ciertos nematodos frente a Thiabendazol pudo ser debida a una disminución de la capacidad de captación de la droga, COLES y SIMPKIN (1977), utilizando un método diseñado por ambos para medir cuantitativamente la resistencia adquirida por huevos de dos estirpes de Haemonchus contortus, frente a benzimidazoles, llegaron a la conclusión de que dicho fenómeno era más complejo.

Larvas de Ostertagia ostertagi, inhibidas en el gato se caracterizaron por presentar una alta resistencia a la quimioterapia por benzimidazoles. Sobre esto existen informaciones recientes debidas a (DUNCAN y cols. 1976), acerca del efecto letal del fenbendazol sobre dichas larvas, aunque obtiene resultados poco uniformes, posiblemente debidos a los diferentes grados de latencia de las larvas inhibidas. (LANCASTER y HONG 1977). Es posible que esta resistencia fuera debida a una disminución en la toma del medicamento por parte del parásito, que conduciría a una baja interferencia en procesos metabólicos, favorecida por el estado latente de la larva.

#### LEVAMISOL.

Uno de los posibles mecanismo de acción por los que se cree -

que actúa el levamisol es inhibiendo la fumarato reductasa, no obstante, existen buenas razones para creer que éste no es el mecanismo por el cual el levamisol provoca la eliminación de los vermes. Levamisol pudo paralizar filarias, las cuales no contienen fumarato reductasas - WANG y SAZ, (1974). Ascaris suum no concentra levamisol "in vitro" y cuando las concentraciones del fármaco en el medio son bajas, se produce una salida del mismo desde el interior del parásito, VERHOEVEN y cols. (1976), fenómeno observado también por COLES (1977) para N. dubius. No se conocen las concentraciones de levamisol necesarias para inhibir la fumarato reductasa, no obstante, se sabe que su tiempo de vida biológica media es corto.

Comparando la acción del levamisol en vertebrado y teniendo en cuenta que determinados agentes bloqueantes de ganglios del sistema nervioso autónomo, tales como hexametonina, mecamilamina y penipidina, inhiben las contracciones producidas por levamisol. VAN NEUTEN (1972) y COLES (1975), concluían que este fármaco actúa como un estimulante ganglionar y observan que no resulta fácil avanzar en el esclarecimiento de estos mecanismos debido a lo poco que se conoce la fisiología y farmacología del sistema nervioso de los nematodos. Recientemente se concede gran importancia a la acción del levamisol sobre el sistema inmune y quizá esta nueva vía, aporte más luz sobre los distintos mecanismos de acción de este fenómeno sobre nematodos y otros helmintos.

MORANTEL.

Los estudios existentes se refieren a un análogo del morantel, el pirantel.

El pirantel paraliza a los nematodos por contacto, produciendo una despolarización de las membranas en las fibras musculares. Sobre A. Suum, su acción es cien veces más potente que la de la acetil-colina y a diferencia del levamisol, las contracciones fueron inhibidas por la tubocurarina y piperazina, AUBRY y cols. 1970, COLES y cols. 1975. Es interesante reseñar el hecho de que individuos de Nippostrongylus brasiliensis, paralizados por la acción del levamisol, resultaron protegidos de los efectos del pirantel. Esto podría sugerir que ambos fármacos actúan sobre los mismos receptores aunque teniendo en cuenta sus diferencias farmacológicas, también pudo ocurrir que el levamisol actuara también a otro nivel VAN DEN BOSSCHE (1976).

ORGANOFOSFORADOS.

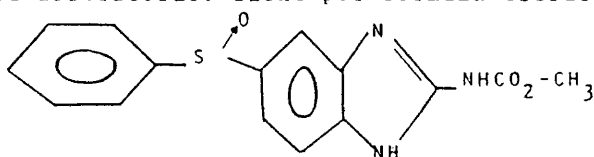
Se sabe desde hace algún tiempo, que los organofosforados actúan como inhibidores de la enzima acetil-colinesterasa en un extenso número de animales. En nematodos, esto pudo originar un aumento en los niveles de acetil-colina, produciendo parálisis y expulsión de los vermes. Existe una correlación entre la actividad antihelmíntica de organofosforados y su concentración necesaria para inhibir la enzima aislada. Asimismo, la estabilidad del complejo haloxón-enzima varía para enzimas de diferentes nematodos y para los de parásito y hospedador, hecho que pudo demostrar en parte, la variabilidad en la eficacia contra

diferentes especies y la aparente baja toxicidad del haloxón para el -  
hospedador HART y LEE, (1966).

A continuación efectuamos una sucinta revisión bibliográfica -  
de los distintos fármacos utilizados en las diversas experiencias.

#### OXFENDAZOL

AVERKIN y cols. (1975), mediante la realización de una serie -  
de experimentos en los laboratorios de Syntex Research en Palo Alto -  
(California), llegaron al hallazgo de que los sustituyentes fenilsulfi-  
nil en posición seis del núcleo benzimidazólico, incrementaban notable-  
mente su actividad antihelmíntica, llegando de esta manera a sinteti-  
zar el Methyl 5(6)- fenilsulfenil-2benzimidazol carbamato (OXFENDAZOL)  
el cual presentaba alta eficacia contra una gran variedad de parásitos  
en animales domésticos y de laboratorio. Tiene por fórmula estructural  
la siguiente



Se trata de un polvo, blanco, inodoro, prácticamente insoluble  
en agua y en la mayoría de los solventes orgánicos.

Los ensayos de toxicidad aguda y crónica efectuados, muestran  
que este antihelmíntico es muy poco tóxico. Así se ha podido determi-  
nar las DL<sub>50</sub> para ciertas especies, así como los niveles de tolerancia  
a tratamientos continuados.



Animal	DL <sub>50</sub> en mg/Kg., orales.
Ratón .....	6.400
Rata .....	6.400
Perro .....	1.600

Los niveles de tolerancia para cuarenta días de tratamiento fueron:

Rata .....	40 mg/kg./día.
Perro .....	33 mg/kg./día.

Durante noventa días de tratamiento.

Ratas .....	Nivel no efectivo = 50 ppm. en di ta.
Perros .....	6 mg/kg./día-

Existen pocos datos en la literatura acerca de la farmacocinética y mecanismo de acción de este fármaco. Así PRICHARD y cols. - (1978), en una experiencia destinada a conocer la relación que existió entre los niveles hemáticos máximos, así como el tiempo durante el cual se mantienen y el efecto de varios antihelmínticos sobre parásitos, administraron 5 mg./kg. de Oxfendazol "per os" a ovejas y realizaron la valoración de la cantidad de medicamento en sangre a distintos tiempos y observaron que el oxfendazol se absorbía lentamente, alcanzaba los niveles máximos a las 30 h. p. trat. y luego decrecía lentamente, re-

gistrándose todavía medicamento en sangre a las 140 horas p. tratamiento (p.t.).

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tratamiento.

	<u>H. Contortus.</u>		<u>T. colubriformis</u>		Tiempo de concen-- tración plasmática máxima (horas).
	Media	%reduc aritmé tica.	Media	%reduc- aritmé- ción. tica.	
Control	3.860	-	1.980	-	-
Fenbendazol	110	97,1	975	50,8	22
Oxfendazol	10	99,7	520	73,7	28

Estos resultados fueron obtenidos administrando 5 mg/.kg. de cada antihelmíntico por vía oral en dosis sencilla a ovejas previamente infestadas con 5000 huevos de H. contortus y T.colubriformis resistentes a benzimidazoles.

En cuanto a su mecanismo de acción, estos autores proponen que al igual que otros benzimidazoles pueden actuar inhibiendo la fumarato reductasa, con lo que se afecta el transporte electrónico en la cadena respiratoria. Así obtuvieron mediante las experiencias adecuadas, los siguientes resultados:

<u>Antihelmíntico</u>	<u>Concentración</u> <u>(<math>\mu</math>M)</u>	<u>%Inhibición de Fuma</u> <u>rato Reductasa.</u>
Cambendazol	12	33
	25	47
	60	77
Fenbendazol	50	31
Oxfendazol	50	100
Thiabendazol	10	15
	100	78

Asímismo, llegan a la conclusión de que la eficacia de un antihelmíntico, está en relación con el tiempo que el parásito está expuesto a altas concentraciones del mismo.

NERENBERG y cols. (1978), emplearon la técnica del radioinmuno ensayo para detectar niveles de oxfendazol en el suero de diversas especies de animales domésticos. Concretamente en terneros, administraron 3mg./kg. de oxfendazol por vía oral y determinaron la concentración hemática a las 2,4, 8, 24 y 48 horas, encontrando que los niveles máximos se registraban a las 8 horas y a las 48 horas todavía se mantenían cantidades considerables de medicamento.

BELL y TOMLINSON (1976), administraron 50 mg./kg. de oxfendazol por vía oral y marcado con carbono-14. Los metabolitos detectados en orina a las 12-14 horas, los separaron por cromatografía de inter-

cambio iónico, en una fracción neutra/básica que contenía un 0,25% de fármaco inalterado y un 6% de carbamatos de hidrólisis, y una fracción ácida de la que se obtuvieron dos componentes mayoritarios por diversas técnicas, tales como espectro infrarrojo, espectro de resonancia magnética nuclear y espectro ultravioleta, se identificaron como el 0-glucuronido de C(metil-5(6)-4-hidroxifeniltio)-benzimidazol-z-carbamato (19%) y 0-sulfato de C(metil-5(6)-4-hidroxifeniltio)-benzimidazol-2-carbamato (58%). De esto se deduce que el oxfendazol sufre un proceso de metabolización consistente fundamentalmente en glucoconjugación, sulfatación e hidroxilación.

La hidroxilación tiene lugar a través de un "Nih Shift" con formación de un epóxido intermediario.

Los primeros estudios relativos a la eficacia antihelmíntica de oxfendazol fueron efectuados por sus descubridores AVERKIN y cols. (1975). Así, encontraron que oxfendazol administrado a ovejas por vía oral a dosis de 5 mg/kg., producía una reducción del 95% de parásitos pertenecientes a los géneros Haemonchus, Ostertagia, Trichostrongylus, Bunostomum, Capillaria, Cooperia, Nematodirus, Moniezia, Chabertia, Oesophagostomum y Dictyocaulus.

Asimismo encontraron un aspecto de actividad similar cuando trataron gatos a las dosis de 1,25-2,50 mg/kg. En caballos, una dosis tan pequeña como 1,1 mg/kg., fué eficaz contra Strongylus vulgaris, Strongylus edentatus y Oxyurus equi. La eliminación de Parascaris equorum se produjo utilizando dosis de 10 mg/kg. En cerdos, una dosis de 3 mg/kg., administrada con el alimento fue activa frente a Ascaris suum, Oesophagostomum detatum y Metastrongylus spp. En estudios comparados sobre la eficacia de oxfendazol y tiabendazol, obtuvieron un 100 -

de reducción para las especies Nematospiroides dubius, Hymenolepis nana, Syphacia obvelata y Aspicularis tetraptera, administrando 125 ppm. en la dieta frente a la no eficacia de tiabendazol a los mismos niveles de dosificación.

SOWNEY, N.E. (1976), en Irlanda evaluó la eficacia de oxfendazol frente a nematodos gastrointestinales y respiratorios en terneros. El tratamiento con 2,5-5 mg/kg., produjo casi total desaparición de adultos de Ostertagia ostertagi, O. lyrata, O. nemensis, H. spp. y formas juveniles de O. ostertagi, adultos de Cooperia oncophora, C. surnabada, Nematodinus helvetianus, N. battus.

El mismo autor en un trabajo posterior (1977), afirma que dosis de 5 mg/kg., en ovejas, tiene mayor poder de reducción en la puesta de huevos por nematodos que el levamisol. Asimismo, resulta 100% eficaz contra Ostertagia circumcincta, O. trifurcata, Teledorsagia dautiani, Trichostrongylus axei, T. vitrinus, T. colubriformis, Nematodinus battus, N. filicollis, formas inmaduras de Nematodinus y chabeitia ovina y 93% de eficacia para Trichuris spp.

CORWIN, R.M. (1977), concluía que el oxfendazol, a razón de 3 mg/kg. administrado una sola vez con el alimento, redujo o eliminó la producción de huevos por Ascaris suum, Oesophagostomun dentatum y Metastrongylus pudendotectus, así como a vermes grávidos de otros ascáridos y metastrongílidos. La producción de huevos por Trichuris suis, pareció estar menos afectada, si bien el número de vermes grávidos fue considerablemente menor que en los controles. Por todo ello, pensó que dado el espectro de actividad tan amplio del oxfendazol que incluye incluso a los metastrongílidos y su aparente falta de toxicidad, este fármaco constituiría un antihelmíntico de elección.

BORGSTEEDE (1977), realizó unos ensayos en una serie de granjas comprendiendo un total de 116 terneros. Oxfendazol a dosis de 2,5 mg./kg. manifestó una excelente actividad contra los parásitos más comunes, existentes en una infestación natural a excepción de Strongyloides spp., que resultó más resistente.

CHALMERS, K. (1978), evalúa la eficacia de oxfendazol contra infestaciones, Trichostrongylus axei, T. colubriformis, dos ensayos, uno en junio y el otro en octubre, con oxfendazol a razón de 2,5 mg/kg peso vivo, la eficacia fué alta y las diferencias existentes entre los dos tratamientos en cuanto al número de vermes recogidos, no fueron significativas.

DUNCAN y REID (1978), realizaron un tratamiento en poneys con oxfendazol a 5 y 10 mg./kg. contra nematodos en infestación natural. Ambas dosis, resultaron 100% eficaces contra adultos de Strongylus vulgaris, Trichostrongylus axei, Oxiuris equis y Paráscaris equorum, así como 99,8% eficaces contra adultos de pequeños estrombílidos. Todas las larvas emigrantes de S. edentatus fueron muertas, en cambio las de S. vulgaris, solamente lo fueron en un 49-59%.

ARMOUR y cols. (1978), alimentando a terneros en pastizales que previamente habían sido contaminados de forma masiva con larva pertenecientes a Ostertagia ostertagi y Cooperia oncophora y sometiéndolos posteriormente a tratamientos con oxfendazol de 2,5 y 5,0 mg./kg., obtuvieron una eficacia de 100-85% (para la dosis baja) y 100-90 (para la dosis alta), expresados en adultos de los vermes anteriormente descritos.

KISTNER y WYSE (1978), ponían en evidencia la actividad ovicida del oxfendazol, a dosis de 5 y 10 mg./kg., sobre los huevos de una

estirpe de Haemonchus contortus resistentes a benzimidazoles y THOMAS (1978), en corderos demostró que 5 mg./kg. de oxfendazol son suficientes para inhibir las larvas y estados juveniles de O. circuncinta y H. contortus, resultando también eficaz contra formas maduras de Fasciola hepática.

KEELING y BURREN (1978), en una prueba destinada a la evaluación conjunta de cinco antihelmínticos sobre cinco especies de parásitos habituales de roedores, obtuvieron los siguientes resultados que se refieren a las dosis mínimas necesarias para eliminar el 95% de los parásitos Nematospiroides dubius, Nippostrongylus brasiliensis y Trichostrongylus colubriformis o bien para eliminar completamente a Hymenolepis nana y Aspicularis tetraptera.

	<u>H.nana</u>	<u>A.tretap.</u>	<u>N.dub.</u>	<u>N.bra.</u>	<u>T.col.</u>
Thiabendazol ... <sup>&amp;</sup>	400x3 ..	400x3 ..	400x3 ..	50x3 ..	20x1
Parbendazol ...	100x3 ..	100x3 ..	400x3 ..	100x3 ..	10x1
Oxibendazol ...	400x3 ..	400x3 ..	400x3 ..	400x3 ..	20x1
Mebendazol ...	400x3 ..	25x3 ..	400x3 ..	400x3 ..	20x1
Fenbendazol ...	400x3 ..	400x3 ..	400x3 ..	400x3 ..	100x3
Oxfendazol ...	25x3 ..	5x3 ..	400x3 ..	10x3 ..	2x1

&: Dosis en mg./kg. x número de dosis en 24 horas.

KINGSBURY (1978), afirma que oxfendazol resultó igualmente eficaz cuando se administró por inyección en el rúmen que cuando se inyectó en el abomaso a ovejas de ocho meses afectadas de infestaciones naturalmente adquiridas. Las dosis que utilizó fueron 2,5 y 5 mg./kg.

KISTNER y cols. (1979), probaron nueve dosis de oxfendazol contra nematodos gastrointestinales y pulmonares de infestaciones naturales en corderos y llegaron a la conclusión de que la dosis tipo de oxfendazol es la de 5 mg./kg. ya que produce al menos un 90% de eficacia en la mayoría de los casos, contra los múltiples parásitos en la oveja excepto contra Trichuris spp., posiblemente y además sin el riesgo de favorecer resistencias tempranas.

En cuanto a los efectos secundarios que podría presentar el oxfendazol, no existen datos fehacientes, no obstante, DELATOUR y cols. (1977), hablan de una cierta embriotoxicidad del oxfendazol en experiencias efectuadas con ovejas y ratas, mientras que PIERCY y cols. (1979) afirman que el oxfendazol a dosis tres veces superiores a las terapéuticas no produce efectos teratógenos en ovejas gestantes, ni afecta a su fertilidad.

SPALDONOVA y CORBA (1978), realizaron ensayos de la eficacia de varios benzimidazoles contra T. spiralis, encontrando que oxfendazol a 50 mg/kg. resultó altamente efectivo cuando se administró a las 6 horas p.i.; mientras que durante el desarrollo de las larvas y principalmente sobre los machos, su eficacia fue decayendo, contra larvas enquistadas, dosis inferiores a 200 mg/kg. no resultaron efectivas.

A continuación exponemos algunas citas bibliográficas relativas a la eficacia antihelmíntica del oxfendazol, a lo largo del año 1979 en diversos países.



A Ñ O 1979

AUTOR (s)

<u>(PAIS)</u>	<u>DOSIS</u>	<u>PARASITO</u>	<u>HOSPEDADOR</u>
ANDERSON, N. y cols. (AUSTRALIA)	Cuatro dosis com- prendidas entre - 0,625-5.0 mg/kg.	<u>Ostertagia</u> <u>ostertagi.</u>	gatos
COLGLAZIER, M.L. (USA)	10 mg/kg.	<u>Strongyloides</u> <u>spp.</u> (adultos).	poneys
CORWIN y cols. (USA)	1,5-9,0 mg/kg. en pienso. 4.5-9,0	<u>O. dentatum</u> <u>A. suum.</u> <u>Metastrongylus</u> <u>apri.</u> <u>Metastrongylus</u> <u>pudendotecus.</u>	cerdos
CHALMERS, K. (NUEVA ZELANDA)	2,5 mg/kg. 5,0 mg/kg.	<u>Dictyocaulus</u> <u>viviparus.</u> <u>Dictyocaulus</u> <u>filaria.</u>	terneros
GEMMEL y col. (NUEVA ZELANDA)	20 mg/kg.	<u>E. granulosus</u> <u>T. hydatígena</u>	perros

KISTNER y cols. (USA)	2,5 mg/kg.	<u>O. ostertagi</u>	vacas
MICHAEL y cols. (EGIPTO)	4,5 mg/kg.	<u>H. contortus</u> <u>T. axei</u> <u>O. circuncinta</u> <u>CH.ovina</u> <u>C. curticei</u> <u>Bunostomun tri</u> <u>gonocephalum.</u>	cabras
MICHAEL y cols. (EGIPTO)	2,8 mg/kg.	<u>Haemonchus spp.</u> <u>Coopería spp.</u> <u>Trichostrongylus búfalos</u> <u>spp.</u> <u>Ostertagia spp.</u> <u>Chabertia spp.</u> <u>Oesophagostomun</u> <u>spp.</u>	

TOOD, K. S. y            2,5 mg/kg.  
cols.  
(USA)

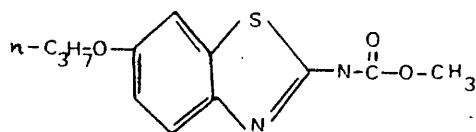
Haemonchus spp.  
Ostertagia spp.    terneros  
Trichostrongy-  
lus spp.  
Cooperia spp.  
Bunostomun spp.  
Oesophagostomun  
spp.  
Dictyocaulus spp.  
Trichuris spp.

WEBB, R.F. y            4,65 mg/kg.  
cols.  
(AUSTRALIA)

H. contortus        ovejas

TIOXIDAZOL.

ERIC PANITZ y cols. (1978), anunciaban el descubrimiento de un nuevo agente antihelmíntico, altamente eficaz contra infestaciones gastrointestinales producidas por gusanos redondos. Este compuesto era químicamente, el Metil-6-n-propoxibenzotiazol-2carbamato o tioxidazol cuya fórmula empírica es  $C_{12}H_{14}N_2O_3S$  con la siguiente configuración estructural:



Este fármaco presenta como primera característica, una analogía estructural con los benzimidazol-carbamatos y por lo tanto serán susceptibles de experiencias paralelas a fin de contrastar analogías y diferencias funcionales. Tioxidazol fue sintetizado por PANITZ y cols. (loc. cit.) en los laboratorios de Schering Corporation. Allentown (USA). Se obtuvo a partir del 2-amino-6-n-propoxibencenotiazol y del metil-clorocarbonato en piridina como solvente. Posteriormente, cristalizó en etanol resultando un polvo estable, blanco, inodoro, con punto de fusión entre 178-180°C. Es insoluble en agua y ligeramente soluble en la mayor parte de los disolventes orgánicos.

En relación a sus propiedades antihelmínticas, el tioxidazol resultó efectivo contra Nematospiroides dubius y Syphacia obvelata, en ratones, administrado en la dieta a niveles de 0,01% - 0,03%, o bien por sonda buco-gástrica a razón de 50 mg./kg. durante cinco días.

Una dosis oral de 75 mg./kg. resultó ser un 99% eficaz contra

T. spiralis en ratón.

Contra Strongyloides ratti, tioxidazol fue activo a dosis únicas orales de 200 mg./kg., a dosis de 100 mg./kg. dos veces al día, a 50 mg./kg. administrados durante tres días y a 25 mg./kg. durante cinco días.

En anteriores experimentos, llevados a cabo en perros, una dosis oral única de 200 mg./kg. fue activa contra Toxascaris leonina. Dosis diarias de 100 mg./kg. durante 3 días y de 50 mg./kg. por cinco días fueron asimismo efectivas contra Trichuris vulpis.

Dosis únicas de 10-50 mg./kg. administradas a ovejas natural o artificialmente infestadas, eliminaron en un 87-100% de Haemonchus spp, Ostertagia spp., Trichostrongylus spp., Marshallagia spp. y Cooperia spp..

En ensayos críticos efectuados en caballos, dosis únicas de 5-25 mg./kg. fueron efectivas en la eliminación de un 90% de Parascaris equorum, Oxyuris equi, Strongylus vulgaris, S. edentatus y en una amplia variedad de pequeños estrombóideos.

En cuanto a su toxicidad, se ha comprobado PANITZ y cols. (loc.cit.) que dosis de 100 mg./kg. no produjeron efectos indeseables en caballos. No obstante, se están llevando a cabo estudios para determinar su toxicidad oral y teratogenidad potencial, así como la seguridad y eficacia del mismo.

Un análogo del tioxidazol es el Sch-18099 (Etil-6-etoxibenzotiazol-2-carbamato) sintetizado también por PANITZ (1977), en Schering Corporation. Su posible eficacia antihelmíntica, fue evaluada contra infestaciones naturales por helmintos en poneys, cerdos, corderos y pollos, obteniéndose los siguientes resultados.

En poneys, dosis de 15 mg./kg. produjeron un 100% de eficacia contra Oxyuris equi y un 98% contra pequeños estrombílidos. A 20 mg/kg las reducciones fueron superiores a 95% para Strongylus vulgaris y S.-edentatus. En dos pruebas efectuadas con 100 mg./kg. obtuvo un 100% de reducción para Parascaris equorum, no observando ninguna acción sobre Gastrophilus spp. y Anoplocephala spp.

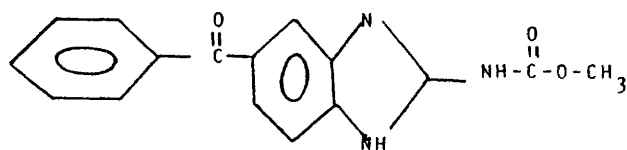
Cuando los ensayos fueron realizados en cerdos, dosis simples de 10 á 100 mg./kg. no fueron efectivas, sin embargo, 500 ppm. de Sch-18099 en la dieta durante siete días resultaron 100% activas contra Ascaris suum, Trichuris suis, pero no contra Strongyloides ransomi. Dosis de 250 ppm. en dieta, produjeron reducciones del 77% contra - - A. suum.

En corderos, dosis de 200 mg./kg. fueron eficaces en más de un 90% contra Haemonchus contortus, Trichostrongylus axei, Marshallagia - marshalli, Bunostromum trignocephalum, Oesophagostomun columbianum, - Trichuris ovis, Chabertia spp. En menos de un 80% para Trichostrongy--lus vitrinus, Nematrolinus filicollis, Ostertagia circuncinta, Coope--ria curticei. A dosis de 100 mg./kg., la eficacia disminuyó para todos los vermes citados excepto O. circuncinta y C. curticei.

Utilizando dosis de 125-1000 ppm. en la dieta durante siete -- días, se obtuvo de un 14,3 á 89% de reducción de Ascaridia galli y a - 1000 ppm. un 100% frente a Heterakis gallinarum.

MEBENDAZOL.

Actualmente puede considerarse como el antihelmíntico más eficaz de los benzimidazol carbamatos conocidos, sintetizado en Janssen - Pharmaceutica, tiene la fórmula siguiente:



Se trata por tanto del metil-N-5(6)-benzoil-2-benzimidazol carbamato, fórmula empírica C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>.

Es un polvo blanco-amarillento, inodora, insípida y prácticamente insoluble en agua y en la mayor parte de los solventes habituales.

Mebendazol es una sustancia estable; en este sentido, las pruebas de estabilidad efectuadas en condiciones normales (almacenamiento prolongado a temperatura ambiente), así como las pruebas de envejecimiento acelerado (calentamiento progresivo hasta 121°C. y presión de 1,8 atmósferas), aseguran su estabilidad, pudiendo utilizarse en formulaciones de piensos granulados compuestos, sin que además existan intersecciones con los componentes habituales de los mismos.

Los estudios de toxicidad aguda, efectuados por espacio de siete días, demostraron la baja toxicidad de mebendazol, obteniéndose en la mayoría de los casos unas DL<sub>50</sub> para diversas especies, mucho más altas que las dosis necesarias para producir una eficacia del 100% en tratamientos contra helmintos de esas especies.

	DL <sub>50</sub> en mg./kg. orales.
Ratones .....	1280
Ratas (adultas) .....	1280
Ratas (3 semanas) .....	2560
Cobayas .....	1280
Conejos .....	640
Perros (adultos) .....	640
Perros (6 semanas) .....	640
Gatos .....	640

En relación a ésto, cabe destacar una aportación correspondiente a KROTON y cols. (1978), sobre la influencia que puede llegar a tener el tamaño de partícula en la toxicidad del mebendazol. Así en ratones comprobó que partículas de 3-5 um. fueron cinco veces más tóxicas (DL<sub>50</sub>=0,62g/kg.), que cuando las partículas tenían un tamaño entre 10-20 um. (DL<sub>50</sub>=3,60g/kg.).

Administrando mebendazol marcado radiactivamente a cerdos, se han podido efectuar estudios farmacocinéticos, así se pudo comprobar que se eliminó un 80-90% en los tres días siguientes a su administración. El fármaco no degradado aparece principalmente en heces recientes que los metabolitos aparecen en orina. Después de dos días de tratamiento, los niveles en órganos y tejidos (excepto hígado y riñón) son inferiores a 0,1 ppm. produciéndose por tanto, una rápida metabolización y excrección. Estudios más concretos realizados por LURE y cols (1978), sobre la distribución y excrección de mebendazol en ratones con hidatidosis experimental, estiman que a dosis bajas (25 mg./kg.), el mebendazol se absorbe lentamente y se metaboliza y excreta rápida-



mente. La concentración hemática máxima, se obtuvo a las 3-4 horas después de la administración y 24 horas más tarde, solamente se registró un 30-40% de la concentración inicial, en algunos tejidos como hígado, sangre, riñón y quistes hidatídicos.

También pudieron comprobar que tanto si el fármaco se administraba en dosis sencillas como en dosis repetidas, durante varios días hasta completar una dosis simple, los niveles hemáticos alcanzados -- eran iguales. Esto último, está en desacuerdo con la idea de varios autores, entre ellos PRICHARD y cols. (1978) que afirman que la administración prolongada, aumenta los niveles hemáticos, así como su duración para diversos antihelmínticos benzimidazol carbamatos, incrementando así, la efectividad de los mismos.

Los primeros estudios destinados a conocer el mecanismo de -- acción del mebendazol fueron efectuados por SONJA DE NOLLIN y HUGO VAN DEN BOSSCHE en (1974), en Trichinella spiralis, aplicando la microscopía electrónica a los músculos infestados, pudo ver que el mebendazol destruye la larva en un tiempo relativamente corto.

RODRIGUEZ CAABEIRO (1978), realizó un análisis de las modificaciones histopatológicas producidas en músculo de maseteros de ratones infestados, post tratamiento con mebendazol y estableció que el orden cronológico en que ocurrían las lesiones era el siguiente: daños de la matriz quística, seguidos por lesiones degenerativas en la larva, invasión de células inflamatorias e inmunocompetentes, las cuales llegan a la pared quística y penetran en el interior del quiste produciendo la completa desaparición de la matriz y necrosis de la larva. La degeneración de la matriz inducida por mebendazol, lleva a las siguientes consecuencias:

- Inhibición de la toma de glucosa por parte de la larva, obligándola a utilizar y agotar sus reservas de glucógeno.

- Los metabolitos de la larva, junto con sus antígenos, entran en la circulación del hospedador, provocando la respuesta inflamatoria e inmunológica, demostrada a los pocos días del tratamiento.

- Dado que las sustancias capsulares son segregadas por las células de la matriz, cualquier daño que el tratamiento con mebendazol, le produzca, resultará en una pérdida de la estructuración normal de la cápsula, con lo cual se produce un debilitamiento en la barrera entre hospedador y parásito.

Por otra parte, al igual que otros antihelmínticos el mebendazol BOCZON, K (1976), tiene un efecto inhibitorio sobre la succinato - deshidrógenasa, afectando a la cadena respiratoria y también impidiendo la fosforilación oxidativa en la mitocondrias de las células de diversos órganos del parásito.

Recientes estudios llevados a cabo por LACLETTE y cols. (1978) afirman que el mebendazol interfiere la síntesis de la tubulina, impidiendo su polimerización en las células del cerebro bovino "in vitro". En posteriores estudios efectuados sobre cisticercos aislados, a fin de ver el efecto directo del mebendazol sobre la larva, obsérvase los siguientes cambios: Desaparición de estructuras microtubulares y bloqueo de movimiento vesiculares en las células de la subcutícula seguidas de degeneraciones progresivas en la pared al iniciar el tratamiento. Después de 20 horas de tratamiento aparecían unas estructuras paracrystalinas en el citoplasma de las células subcuticulares que se identificaron como unidades tubulares, colocadas en forma hexagonal, que venían a sustituir a las anteriores estructuras existentes.

En relación a la acción inmunomodificante del mebendazol cuando se aplica como antihelmíntico, se encuentran informaciones contradictorias. Así CORBA y cols. (1977), estudiando la dinámica de anticuerpos circulantes contra T. spiralis, después de la administración de mebendazol, observó que durante la fase intestinal, los anticuerpos aparecían 7-10 días, antes que en los controles, posteriormente alcanzaban un máximo hacia el día 30 p.i. y luego decrecían no detectándose a partir del día 66-76 p.i. y afirmaba que la formación y dinámica de anticuerpos contra T. spiralis dependía de la efectividad del tratamiento.

ZANDER y HORCHNER (1977), en cobayas, tratados durante 14 días a razón de 40 mg./kg. con mebendazol observaron que durante los dos meses siguientes a la administración del fármaco, los títulos de anticuerpos detectados por inmunofluorescencia no diferían de los controles, a partir de los 100 días empezaban a decaer en los controles y más tarde de 170 días volvieron a igualarse ambos, no detectándose a partir de los 190 días.

Según BOLSHAKOVA y LEIKINA (1977), la administración de mebendazol a dosis de 25 mg./kg. a ratones infestados con Echinococcus multilocularis, no afectó significativamente a la respuesta inmune tanto humoral como celular, si bien produjo una ligera caída en los anticuerpos.

SAKALAUSKAITE (1978), después de administrar 75 mg./kg. de mebendazol, 3 días consecutivos a ratones previamente infestados con 80 larvas de T. spiralis, admitió un posible efecto inmunosupresivo del mebendazol, tanto a nivel celular como humoral, el cual se incrementaría con tratamientos prolongados.

Por el contrario, OZERETSKOVSKAYA y cols. (1978), consideraron que mebendazol era un inmunoestimulante durante las fases aguda y crónica de una triquinellosis en animales silvestres.

SANMARTIN DURAN (1978), concluye que el tratamiento supresivo contra larvas enquistadas de T. spiralis. produce un disparo inmunitario, concretado en un rápido incremento del número de macrófagos hasta el 7° día p.t., que se mantiene en lento descenso hasta el límite de la observación, 19° p.t., el cual coincide histológicamente en la casi restauración de la integridad del músculo infestado. Esta estimulación inmunitaria parece ser de naturaleza celular de inmunidad mediada por células según una hipersensibilidad de tipo retardado, alterada ligeramente por Prednisona pero suprimida por el Niridazol. En el mismo trabajo, observa que el mebendazol a dosis no antihelmínticas tales como 5 mg./kg., deprime el número de células y si bien no puede afirmarse que sea inmunosupresor, tampoco resulta inmunoestimulante.

KOROVA y cols. (1979), observan que inyecciones intraperitoneales de 450 mg./kg. de mebendazol a ratones con hidatidosis experimental, producen un aumento en los títulos de anticuerpos humorales que se hacen cuatro veces mayores que en los no tratados en el día 11 post-tratamiento (47 post. infestación), existiendo también un incremento de la respuesta inmunitaria de tipo celular. Por lo tanto, concluyen que el mebendazol estimula los sostenes linfocitarios T y B.

En relación a los posibles efectos secundarios de mebendazol, estudios efectuados en hombres y animales, demostraron que el mebendazol es un fármaco seguro, en animales de experimentación, así, dosis tan altas como 640 mg./kg. orales no inducen daños detectables en los cromosomas de las células germinativas pre y post. meióticas del ratón

LEONARD, A y cols. (1974). Tratamientos crónicos con altas dosis en ratas y perros, sólo produjeron algún incremento en el peso del hígado y disminución de peso en la gónadas de los machos de rata MARSBBOM, R. - (1973).

No se han producido efectos secundarios en cerdos que recibieron durante 92 días, 16, 31, y 63 p.p.m., observándose en estos últimos un restablecimiento de las heces. El análisis de parámetros tales como conversión alimenticia, hemograma y análisis séricos, así como los resultados obtenidos de la autopsia fueron normales. En cerdas gestantes, piensos suplementados con 30 p.p.m. de mebendazol, durante el período ininterrumpido comprendido entre la cubrición y el parto, no produjeron efectos teratógenos. Sin embargo, experimentos llevados a cabo últimamente en la rata, han apuntado sobre la posibilidad de determinados efectos teratógenos atribuibles al mebendazol BOUREE y cols. - (1978), BLAGOU y cols. (1978).

Los primeros estudios sobre el efecto del mebendazol, sobre T. spiralis, corresponden a THIENPO NT y cols. (1972), incorporando 32 p.p.m., durante siete días a la dieta de ratas experimentalmente infestadas, obteniendo una reducción del 100% frente a adultos y larvas emigrantes. Aumentando la dosis a 125-500 ppm., durante 14 días consiguieron un 100% frente a larvas enquistadas.

SPALDONOVA, R. y cols. (1974), observaron que una sola dosis de 60 mg./kg. eran activas sobre preadultos, 40 mg./kg. durante cuatro días producía reducciones del 90-100% sobre la fase intestinal, 75% frente a larvas emigrantes. Una única dosis de 60 mg./kg., daba lugar a reducciones del 96-100% sobre la fase intestinal y muscular y 43-55% contra larvas emigrantes.

FERNANDO y DENHAM (1976), concluían que el mebendazol a 50 mg./kg. era efectivo contra T. spiralis, a las siete horas después de la infestación, en ratones. Los vermes adultos a las 72 horas p.i., eran menos afectados, volviendo a ser altamente activo frente a larvas enquistadas.

La administración de mebendazol a dosis comprendidas entre 6-25 mg./kg., a ratones infestados dos horas antes con 200-250 larvas de T. spiralis, produjo una eliminación del 95-100% en los vermes. Después del primer día de infestación la sensibilidad del parásito al benzimidazol se redujo y así dosis de 50 mg./kg. solamente resultaron parcialmente activas.

La administración de 50 mg./kg. durante cinco días (del 14 al 18 p.i.) se produjo en una reducción del 96% de las larvas recuperadas en el día 45 post. infestación (MACCRACKEN, 1978).

RODRIGUEZ CAABEIRO (1978), obtiene el espectro de acción de este antihelmíntico a lo largo del ciclo endógeno de T. spiralis, encontrando la máxima eficacia en las fases extremas (preadultos y larvas enquistadas), para descender a una especie de meseta cuando el tratamiento se efectúa contra adultos y larvas en emigración. Contra preadultos, dosis de 20 mg./kg. producen un 100% de reducción, mientras que dosis de 30 mg./kg. contra larvas enquistadas, ocasionan la muerte de las mismas.

En las tablas siguientes (núms. I, II, III, IV y V), se exponen unas citas bibliográficas representativas del poder antihelmíntico del mebendazol, tanto a nivel clínico, como experimental a lo largo de los últimos años. Esta revisión es continuación de la llevada a cabo por R. CAABEIRO (1977), recogida en su Tesis Doctoral.

T A B L A - 1

(AÑO 1976)

AUTOR (s)	DOSIS	PARASITO	HOSPEDADOR
(PAIS)			
BANZON y col. (FILIPINAS).	200 mg./kg. 4 días y repetido cada 2 me-- ses, durante 10 me-- ses.	<u>Ascaris lumbrico-</u> <u>coides.</u> <u>Trichuris tri--</u> <u>chiura.</u> <u>Ancilostómidos.</u>	niños.
BRANDT y col. (CUBA).	100 ppm.	<u>Stephanurus den-</u> <u>tatus.</u>	cerdos -- adultos.
GOLDSMID y ROGERS. (RODESIA).	400 mg./kg., dos ve-- ces al día durante - 14 días.	<u>Dipetalonema --</u> <u>perstans.</u>	humanos.
HASS y COLLINS. (USA).	100 mg./kg. dos ve-- ces al día por cinco días.	<u>Ascáridos.</u> <u>Ancilostómidos.</u> <u>Tricocéfalos.</u>	
KAMMERER y JUDJE. (USA).	50 mg./kg. durante - 10 días.	<u>Echinococcus -</u> <u>granulosus.</u>	ratón.
KOZKIEWICZ (POLONIA)	10 mg./kg. durante - cinco días.	<u>Trichuris spp.</u>	perros.

T A B L A - 1

(AÑO 1976)

AUTOR (s)			
(PAIS)	DOSIS	PARASITO	HOSPEDADOR
McCALL y CROUTHAMEL. (USA)	40 mg./kg. durante tres días.	- <u>Dirofilaria</u> <u>immitis.</u>	perros.
McCURDY y cols. (USA).	8,8 mg./kg. en una pasta sobre la lengua	- <u>Strongylus vulga</u> <u>ris.</u> <u>Strongylus equi-</u> <u>nus.</u> <u>Strongylus eden-</u> <u>tatus.</u> <u>Parascaris equorum</u> <u>Oxyuris equi.</u> <u>Pequeños estróngi-</u> <u>lidos.</u>	caballos.
MAGALINGAM y cols. (MALASIA)	100 mg./kg. durante tres días, 3 veces al día.	<u>Trichuris trichi-</u> <u>ra.</u>	niños.
PAWLOWSKI y cols. (POLONIA)	40 mg./kg. seis sema nas P.I.	<u>Taenia saginata</u> (cisticerco)	terneros.



T A B L A - I

(AÑO 1976)

AUTOR (s)

<u>(PAIS)</u>	<u>DOSIS</u>	<u>PARASITO</u>	<u>HOSPEDADOR</u>
SHEDIVTSOVA (URRS).	I/15 DL <sub>50</sub>	<u>Nippostrongylus</u> <u>brasiliensis.</u>	ratones.
SCHENONE y cols. (CHILE).	100 mg./kg. 3 veces al día. 200 mg./kg. 3 veces	<u>Enterobius vermi-</u> <u>cularis.</u> <u>Ascaris spp.</u> <u>Trichuris spp.</u>	niños.
VERCRUYSSSE y cols. (BELGICA)	2-5 mg./kg.	<u>Baylisascaris</u> <u>transfuga.</u>	mamíferos salvajes.

T A B L A - II

(AÑO 1977)

AUTOR (s)

<u>(PAIS)</u>	<u>DOSIS</u>	<u>PARASITO</u>	<u>HOSPEDADOR</u>
BINA y cols. (BRASIL)	100 mg./kg. dos veces al día durante 3 días	<u>Ascaris lumbricoides.</u> <u>Trichuris trichiura.</u> <u>Ancylostómidos.</u>	humanos.
CHO y cols. (COREA DEL SUR)	100 mg./kg.	<u>Enterobius vermicularis.</u>	niños.
COLGLAZIER y cols. (USA).	8.8 mg./kg.	<u>Strongylus vulgaris.</u> <u>Strongylus edentatus.</u> <u>Strongylus equinus.</u> <u>Pequeños estrongílicos.</u> <u>Osyuris equi.</u>	ponies.

T A B L A - II

(AÑO 1977)

AUTOR (s)	DOSIS	PARASITO	HOSPEDADOR
(PAIS)			
ECKERT y cols. (SUIZA)	500 ppm. durante 60 - 120 días a partir del 40 p.i.	<u>Echinococcus</u> - <u>granulosus.</u>	ratones.
GEMMEL y cols. (NUEVA ZELANDA).	10-80 mg./kg., de 4- 8 veces.	<u>Taenia hidatíge-</u> <u>na.</u>	perros.
GORODNER y cols. (ARGENTINA).	100 mg./kg. dos veces al día durante 3 días.	<u>E. vermicularis.</u> <u>Ancilostómidos</u>	humanos.
HORCHNER y cols. (ALEMANIA)	12,5-62 mg./kg. día-- rios durante 10-14 - días.	<u>Cysticercus te--</u> <u>nuicolis.</u> <u>Cysticercus pisi</u> <u>formis.</u>	ratones.
LAL y cols. (INDIA).	30 mg./kg., durante - 5-45 días p.i.	<u>Ascaridia galli.</u>	pollos.
LORIA CORTES y cols. (COSTA RICA).	100 mg./kg. dos ve-- ces al día durante 4 días.	<u>Trichuris spp.</u> <u>Necator spp.</u> <u>Ascaris spp.</u>	niños.

T A B L A - II

(AÑO 1977)

AUTOR (s)

<u>(PAIS)</u>	<u>DOSIS</u>	<u>PARASITO</u>	<u>HOSPEDADOR</u>
MERDIVENCI y cols. (TURKIA).	100 mg./kg. dos veces al día durante 3 días.	<u>Hymenolepis nana</u>	niños.
OTERO DOMINGUEZ y cols. (CUBA)	200 mg./kg. diarios - durante tres días.	<u>E. vermicularis</u> <u>Necator americanus</u> <u>Trichuris spp.</u>	humanos.
PEÑA CHAYARRIA y cols. (COSTA RICA).	100 mg./kg. dos ve-- ces al día durante 2- 6 días.	<u>Taenia solium.</u> <u>Taenia saginata.</u>	humanos.
SCRAAG y PROCTOR. (SUDAFRICA).	100 mg./kg. 3-4 veces al día por tres días.	<u>Trichuris spp.</u> <u>Ascaris spp.</u>	niños.
SEO y cols. (COREA).	100 mg./kg. dos veces al día por tres días.	<u>A. lumbricoides.</u> <u>T. trichiura</u> <u>Ancylostoma duode</u> <u>nale.</u> <u>Trichostrongylus</u> <u>orientalis.</u> <u>Hymenolepis nana.</u>	humanos.

T A B L A - III

(AÑO 1978)

AUTOR (s)	DOSIS	PARASITO	HOSPEDADOR
(PAIS)			
ARANBULO y cols. (FILIPINAS).	100 mg./kg. dos veces al día durante 3 días.	<u>Taenia saginata</u>	humanos.
BLAGOU y cols. (URSS).	50-100 mg./kg. tres - veces.	<u>Ascaris spp.</u> <u>Enterobius spp.</u> <u>Trichuris spp.</u>	humanos.
DOYD y cols. (USA).	100 mg./kg. durante - tres días.	<u>Strongyloides</u> <u>stercoralis.</u>	humanos.
BUNNAG y cols. (TAHILANDIA).	100 mg./kg. dos veces al día durante tres - días.	<u>Trichuris tri--</u> <u>chiura.</u> <u>Necator americanus.</u>	-
CHEVIS y KELLY. (NUEVA ZELANDA)	6,25-100 mg./kg. a - las ocho semanas p.i. 6,25-50 mg./kg. a las 3-6 semanas p.i.	<u>Fasciola hepática</u> <u>Fasciola hepática</u>	ratas. ovejas.

T A B L A - III

(AÑO 1978)

AUTOR (s)

<u>(PAIS)</u>	<u>DOSIS</u>	<u>PARASITO</u>	<u>HOSPEDADOR</u>
DENHAM y cols.	10 ppm.	<u>Brugia pahangi</u> (Adultos)	
(INGLATERRA)	40 ppm.	<u>Brugia pahangi</u> (Larvas infestantes).	
	0,001-0,1 %	"	mosquitos
	50 mg./kg. subcutáneos durante cinco días.	<u>B.pahangi</u> (adultos)	gatos.
DISSANAIKE	100 mg./kg. durante -	<u>Ascaris spp.</u>	
(MALASIA)	60 días en la dieta.	<u>Trichuris spp.</u>	
		<u>Necator americana-</u>	niños.
		<u>nus.</u>	
GITSU y KROTOV.	25 Mg./kg. durante 20 días.	<u>Opistorchis feli-</u>	hamster.
(URSS).		<u>neus.</u>	
GUERRERO	22 mg./kg./día, duran	<u>Toxocara canis.</u>	
(USA	te 3-5 días.	<u>Ancylostoma caninum.</u>	
		<u>Trichuris vulpis.</u>	perros.
		<u>Uncinaria stenocé</u>	
		<u>pahala.</u>	
		<u>Taenia pisiformis.</u>	

T A B L A - III

(AÑO 1978)

AUTOR (s)	DOSIS	PARASITO	HOSPEDADOR
(PAIS)			
KABA (ZAIRE)	100 mg./kg.	<u>Ancylostoma spp.</u> <u>Ascaris lumbricoides.</u> <u>T. Trichiura.</u>	niños.
MASON y cols. (NUEVA ZELANDA)	125 ppm. en la bebida por seis días.	<u>Acuaria skrjabini.</u>	pájaros.
OGUZ T. (TURQUIA)	25 mg./kg. durante 5 días.	<u>Cysticercus tenuicollis.</u>	corderos.
PAWLOWSKI y cols. (POLONIA)	5 mg./kg. durante 10 días.	<u>Taenia saginata.</u>	gatos.

T A B L A - IV

(AÑO 1978)

AUTOR (s)

<u>(PAIS)</u>	<u>DOSIS</u>	<u>PARASITO</u>	<u>HOSPEDADOR</u>
RAY y cols. (INDIA)	10-100 mg./kg.	<u>Ancylostoma ceylanicum.</u>	mesocrice tos.
SEO y cols. (COREA DEL SUR)	100-200 y 300 mg./kg.	<u>Ascaris lumbricoi</u> <u>des.</u>	humanos.
TIDBALL y cols. (FILIPINAS)	- -	<u>Capillaria phippinensis.</u>	humanos.
WIKERHAVSER y cols. (YUGOSLAVIA)	50 mg./kg. cinco días.	<u>Syphacia obvelata</u> <u>Aspicularis tetra</u> <u>tera.</u>	ratones.



T A B L A - V

(AÑO 1979)

AUTOR (s)

<u>(PAIS)</u>	<u>DOSIS</u>	<u>PARASITO</u>	<u>HOSPEDADOR</u>
BARSANTI, J.A. y cols. (USA)	20-100 mg./kg. por periodos intermitentes de tres meses.	<u>Mesocestoides</u> - spp.	perros.
CLAYTON, H.M. (REINO UNIDO).	15,2-20,0 mg./kg./día durante 5 días en pasta.	<u>D. arnfieldi.</u>	asnos.
DAVISON, R.P. (AUSTRALIA).	100 mg./kg./día durante 3-4 días.	<u>T. trichiura.</u>	niños.
DRUDGE, J.H. y cols. (USA).	8.8 mg./kg.	<u>S. vulgaris.</u> <u>S. edentatus.</u>	caballos.
DUWEL, D. (REPUBLICA FEDERAL ALEMANA)	4.6 mg./kg.	<u>D. vivíparus.</u> <u>O. ostertagi.</u> <u>T. axei.</u> <u>C. oncophora.</u> <u>O. radistum.</u>	gatos.

T A B L A - V

(AÑO 1979)

AUTOR (s)

<u>(PAIS)</u>	<u>DOSIS</u>	<u>PARASITO</u>	<u>HOSPEDADOR</u>
EVANS, W.S. y cols. (CANADA).	16.7 % en pasta.	<u>H. diminuta.</u> <u>H. nana.</u> <u>H. microstoma.</u>	escarabajos
GOLDSMID, J.M. y cols. (RODESIA)	400 mg./kg. dos veces al día durante 14 días.	<u>D. perstans.</u>	hombres - 79 años.
HEATH, D.D. y cols. (NUEVA ZELANDA)	50 mg./kg. oral sencillo.	<u>Taenia crassiceps.</u> (larvas).	ratas.
KOVROVA, E.A. y cols.	450 mg./kg. intraperitoneal.	<u>E. multilocularis.</u>	ratones.
LE JAMBRE, L.F. (AUSTRALIA).	6.10 mg./kg. una vez.	<u>O. circumcincta.</u> (adultos). <u>O. trifurcata.</u> (adultos).	corderos.

T A B L A - V

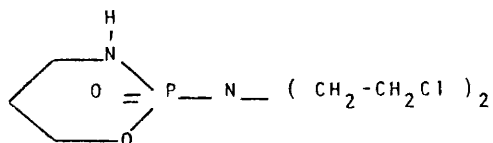
(AÑO 1979)

AUTOR (s)

<u>(PAIS)</u>	<u>DOSIS</u>	<u>PARASITO</u>	<u>HOSPEDADOR</u>
MURRAY-LYON, I.M. y cols. (REINO UNIDO.)	20-26 mg./kg. diarios durante 4 semanas.	<u>E. granulosus.</u>	niños.
PEREVERZEVA, E.V. y cols. (URSS).	75 mg./kg. administrados en los períodos siguientes: 2 - 4 días p.i. 6 -11 " " 25-30 " "	<u>T. spiralis.</u>	ratones.

### CICLOFOSFAMIDA

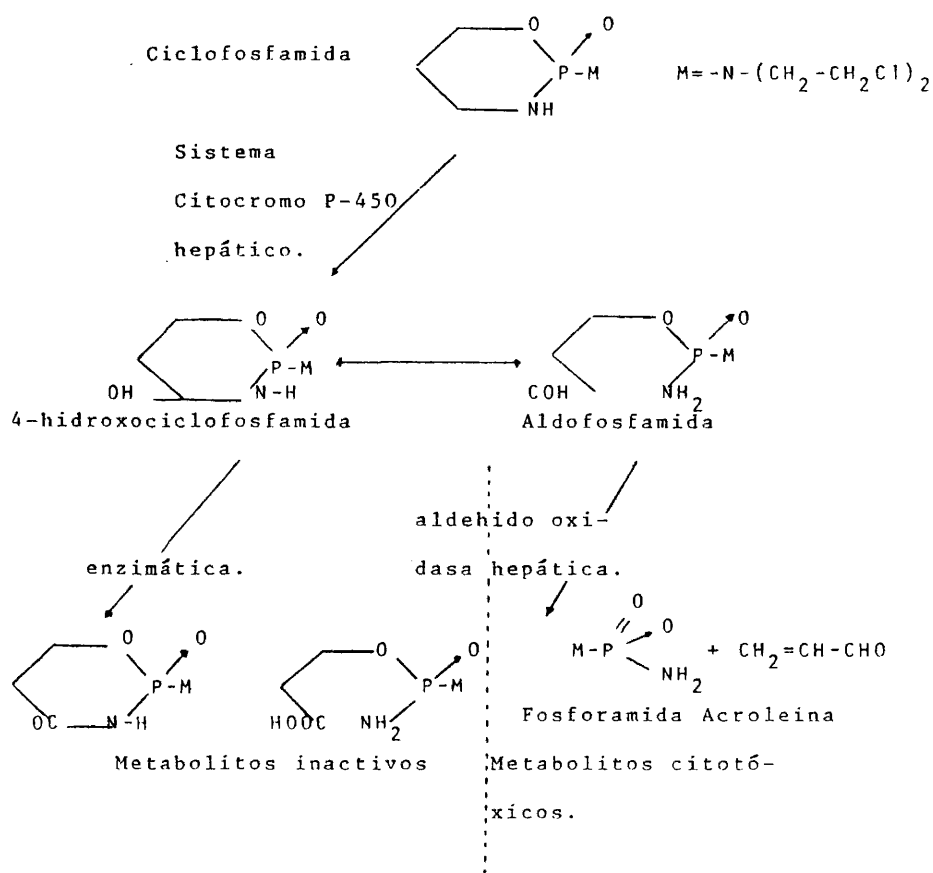
Estudios encaminados a modificar la estructura química de un agente alquilante, Mecloretamina, con el fin de incrementar su selectividad por los tejidos neoplásicos, llevaron a la síntesis de la ciclofosfamida, nueva mostaza nitrogenada cuya actividad antitumoral ha sido evidenciada por numerosos autores en animales de experimentación y humanos. CALABRESI y WELCH (1962), FAIRLEY y SIMISTER (1965).



Es un polvo blanco, cristalino y estable aunque tienda a perder agua de cristalización cuando las condiciones ambientales son desfavorables pudiendo, no obstante, recuperarla de nuevo por simple exposición al aire húmedo. Fácilmente soluble en solución salina fisiológica y en agua destilada, siendo las soluciones acuosas resultantes altamente inestables de modo que deberán ser administradas inmediately después de su preparación.

Se absorbe bien por cualquiera de las vías habituales de administración. Este fármaco es inactivo "in vitro", cuando llega al hígado es activado por los sistemas oxidativos mixtos de los microsomas del retículo endoplásmico liso BROCK (1967). Concretamente, el sistema Citocromo-P-450 oxidasa HILL y cols. (1972 a), SLADEK (1973), CONNORS (1975), transforma la ciclofosfamida en 4-hidroxiciclofosfamida, la cual establece un equilibrio tautomérico con la aldofosfamida. Estos compuestos pueden ser nuevamente oxidados a 4-cetociclofosfamida y car

boxifosfamida, por vía enzimática, resultando ambos inactivos. Por - -  
otra parte, la aldofosfamida va a los tejidos específicos por vía hemá  
tica. En las células de los tejidos susceptibles de citolisis, la aldo-  
fosfamida sufre una B-eliminación dando lugar a la mostaza fosforamida  
y acroleina, metabolitos que resultan altamente citotóxicos.



ESQUEMA

Metabolismo de la ciclofosfamida. Tomado de "The Pharmacological Basis of Therapeutics". GOODMAN y GILMAN. 5a. edición Ed. Mcmillan USA. Pags. 1263.

SLADEK (1972), observó que tanto si se inducía el citrocromo - P-450 con fenobarbital, como si se inhibía con proadifén, la actividad antineoplásica e índice terapéutico de la ciclofosfamida no experimentaban variaciones apreciables. La explicación de este hallazgo fué la siguiente: La ciclofosfamida que biológicamente es poco activa, se elimina del cuerpo lentamente. Los metabolitos activados como la aldofosfamida alquilan lugares específicos en las células susceptibles, produciéndose una respuesta que atiende a la ley del "todo o nada", o bien son desintoxicadas por la formación de metabolitos inactivos rápidamente excretados por el riñón. Los efectos citotóxicos dependen de la cantidad total más que de la velocidad de generación de metabolitos citotóxicos. Así, parece probable que las acciones biológicas de la ciclofosfamida puedan estar más drásticamente afectadas por las velocidades de desintoxicación y eliminación que por las velocidades de síntesis - de los metabolitos activados.

Estudios con ciclofosfamida marcada con tritio en perros y humanos BOLT y cols. (1961), mostraron que en orina la cantidad de fármaco detectado fue menos del 14% y la cantidad de heces después de una administración intravenosa fué inapreciable. La máxima concentración hemática se obtuvo a la hora de ser administrada oralmente. Después de inyectar ciclofosfamida por vía intravenosa, y marcada con C14 a dosis comprendidas entre 6-80 mg./kg., la vida biológica media resultó ser de seis horas y media y los metabolitos alquilantes estaban en un 56% ligados a proteínas plasmáticas. Asimismo, la administración de Alopurinol previamente, prolonga la vida biológica media de la ciclofosfamida.

El mecanismo de acción de la ciclofosfamida, así como el de -

Otras mostazas nitrogenadas, se basa en su poder alquilante sobre moléculas esenciales tales como ácidos nucleicos, impidiendo de esta forma la replicación de la molécula por bloqueo de las cadenas de nucleótidos y de este modo interfiere la mitosis y división celular en todos aquellos tejidos de rápida proliferación, CONNORS (1975). Además puede inhibir fenómenos como la glicolisis, respiración y síntesis de proteínas OCHOA y HIRSCHBERG (1967).

Los agentes alquilantes son por tanto activos sobre los sistemas hematopoyéticos como lo prueba el hecho de que dosis subletales de mostazas nitrogenadas son capaces de producir, dentro de las 6-8 horas posteriores a su administración, cese en la mitosis y desintegración en la médula ósea y tejidos linfoides en animales de experimentación, - - siendo los linfocitos las células más sensibles a la acción de la ciclofosfamida, de tal modo que su efecto puede ser comparado al de las radiaciones ionizantes.

La administración de ciclofosfamida por vía parenteral, tiene un efecto destructor sobre las células de la mucosa intestinal con detención de la mitosis en los epitelios, seguida de descamación y desprendimiento de los mismos. Ataca a los folículos pilosos produciendo una alopecia reversible. Sobre el sistema nervioso central, tiene un efecto estimulante produciéndose náuseas, vómitos con convulsiones, parálisis muscular y múltiples efectos colinomiméticos en individuos bajo tratamiento GOODMAN y GILMAN (1975).

La ciclofosfamida es un potente agente inmunosupresor que alarga la supervivencia de homoinjertos en ratón, BERCHBAUM y BROWN (1963) impide la respuesta de los anticuerpos 7S y 19 S a los glóbulos rojos de carnero, SANTOS y OWENS (1966). Asimismo, ha sido utilizada pa-



ra inducir tolerancia a una gran variedad de antígenos, tales como eritrocitos de carnero AISENBERG (1967) o Y-globulina equina STOCKMAN y TRENTIN (1972). Algunos estudios indican que la ciclofosfamida ejerce una acción preferente sobre áreas B-dependientes de tejidos linfoides, así, tratamientos efectuados en pollos impiden el desarrollo de la inmunidad humoral dejando intacta la celular, LERMAN y cols. (1970). En ratones adultos se ha podido establecer una acción diferente de la ciclofosfamida sobre las células T y B, ya que a dosis bajas afectaba a las poblaciones T, incluídas las T supresoras y a dosis altas producía una depleción selectiva de células B, POULTER y TURK (1972), TURK y POULTER (1972). Sin embargo, NETA y SALVIN (1974), observaron que en animales de laboratorio previamente tratados con ciclofosfamida se producía un incremento de las respuestas T dependientes expresado en una intensificación de las reacciones de hipersensibilidad retardada a glóbulos rojos de carnero. Asimismo, observaron una disminución de la respuesta DTH; que contradecía los resultados obtenidos anteriormente por investigadores, a la vez que no concordaba con los mecanismos de acción propios de los agentes alquilantes, plantearon la hipótesis de que la inmunosupresión humoral producida por el fármaco era responsable del aumento de la respuesta DTH al no producirse los complejos Antígenos-anticuerpo controladores de la misma. Esta hipotética interpretación fué reforzada por las aportaciones de TURK y PARKER (1973), KATZ y cols. (1974), sobre la particular sensibilidad de las células B a la ciclofosfamida y sobre el papel supresor de estas o de sus productos en las reacciones DTH. No obstante, ASKENASE y cols. (1975), demostraron aumento de la respuesta de hipersensibilidad retardada a dosis de ciclofosfamida no supresoras de anticuerpos, por lo que propuso la

existencia de unas células T-supresoras altamente sensibles a ciclofosfamida RAFF y CANTOR (1971).

SCHWATZ y cols. (1976), afirman que la ciclofosfamida además de matar a células B, elimina algunas subpoblaciones de células T que jugarían un papel importante en las respuestas de inmunidad celular. A análogas conclusiones llegaron KOLB y cols. (1977), que además mediante análisis histológicos y electroforéticos, llegaron a detectar la formación de una nueva población de células en el bazo durante la fase de regeneración del mismo después de un tratamiento con ciclofosfamida en ratones. Estas poblaciones desaparecieron una vez concluido el proceso de regeneración y observaron que poseían un efecto supresivo "in vitro" sobre las mitosis de células T y B.

L'AGE-STEHR y DIAMANTSTEIN (1978), encontraron que en ratones tratados con 125 mg./kg. de ciclofosfamida proliferaban unas células T autorreactivas. Este aumento, según ellos, era debido a que la ciclofosfamida inducía, en ratones normales, la aparición de nuevos locus antigénicos (quizá presentes en la superficie de las células B primitivas o componentes propios alterados por la inducción de virus endógenos) a la vez que tenía lugar una eliminación transitoria de células T supresoras que por tanto dejarían vía libre a las células autorreactivas

Otros autores como SHAND y HOWARD (1978-1979), concluyen que tratamientos con ciclofosfamida (100-150 mg./kg.), producen una tolerancia reversible de células B a antígenos timo-independientes sobre todo inmunoglobulinas, debido a una inhibición en la regeneración de sus receptores de superficie. Este fenómeno no se observa para otros compuestos análogos como Clorambucil, Melfalan o 6-Mercaptopurina.

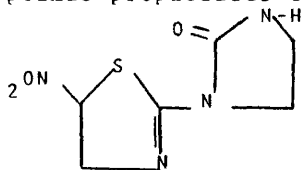
PRZYJALKOWSKY y cols. (1979), estudiando la influencia de la -

ciclofosfamida sobre las inmunoglobulinas séricas en ratones convencionales y libres de gérmenes, encuentran que la ciclofosfamida causa una inmunodepresión preferente sobre los linfocitos B, traducida en una caída de los niveles séricos de IgG, mientras que estimula ligeramente la producción de inmunoglobulinas de tipo IGM - IgA. En otro de sus trabajos, utilizando las mismas estirpes de animales, encuentran que la administración de ciclofosfamida a dosis de 50 mg./kg., aumenta la intensidad de una infestación por T. spiralis, y la duración de la estancia de los vermes en el intestino, hecho que se traduce en una mayor infestación muscular. Estudios hematológicos paralelos ponían de manifiesto un predominio de linfocitos pequeños (T), sobre los grandes linfocitos (linfocitos B) sensiblemente disminuídos.

A la vista de todos estos datos y teniendo en cuenta que en las distintas fases de la triquinosis experimental ocurren fenómenos inmunitarios de naturaleza compleja, nos pareció interesante el estudio de la evolución de una infestación intestinal de T. spiralis bajo tratamiento inmunosupresor con ciclofosfamida y las repercusiones que podrían observarse en la posterior fase muscular.

### NIRIDAZOL

Fu  sintetizado por WILHEM y SCHMIDT, en los laboratorios CIBA de Basilea y seleccionado de entre un gran número de derivados del nitrotiazol, viendo que aquellos 5-nitrotiazoles con una urea cíclica en posición 2, presentaban óptimas propiedades terapéuticas.



Se trata pues, del 5-nitro-2-tiazol-2-imidazolidina, polvo - - cristalino amarillo, inodoro e insípido. Es escasamente soluble en - - agua y en la mayoría de los solventes orgánicos.

Es especialmente activo contra esquistosomas y por su afinidad con los nitroimidazoles y nitrofuranos, actúa también frente a amebas, trichomonas y agentes bacterianos, si bien no se emplea en estos casos por resultar más tóxico que los fármacos actualmente utilizados.

Después de la administración de una dosis oral de Niridazol, - se absorbe lentamente en algunas horas. Durante su primer paso por el hígado se metaboliza en su mayor parte. Debido a su lenta absorción y rápida metabolización, las concentraciones hemáticas alcanzadas no serán elevadas, no obstante, una pequeña cantidad persiste en sangre periférica durante varias horas. Los metabolitos se combinan en alta proporción a proteínas plasmáticas y ambos, compuesto inalterado y metabo- litos, se distribuyen ampliamente en tejidos. La eliminación tiene lugar lentamente y en igual proporción por orina y heces. Parece ser que la actividad antiesquistosomal del niridazol se debe a la elevada con-

centración que éste alcanza en sangre portal y al hecho de que la mayor parte de las especies de *Schistosoma* vivan casi exclusivamente en los vasos derivados de la vena porta.

Trabajos recientes atribuyen al niridazol un papel fuertemente inmunosupresor en la inmunidad celular de ratones, MAHMOUD y cols. (1975), en cobayas DANIELS y cols. (1975) y en el hombre WEBSTER y cols. (1975). Sin embargo, a esas mismas dosis el efecto sobre la producción primaria de anticuerpos es mínima, no afectando a la producción secundaria PELLEY y cols. (1975).

El niridazol impide la formación de granulomas parasitarios en torno a los huevos de esquistosomas en ratones. No se conoce "in vivo" el mecanismo por el cual el niridazol inhibe la infiltración de células mononucleares, pero "in vitro" pudieron evidenciarse unos metabolitos, en el suero de cobayas previamente tratados con niridazol, que bloqueaban la producción de los factores inhibidores de macrófagos (M.I.F.) DANIELS y cols. (1975).

Bajo los efectos del niridazol se observa también una disminución de las reacciones de rechazo en injertos de piel MAHMOUD y WARREN (1974), así como una inhibición en las reacciones de hipersensibilidad retardada RUDOFISKY y PALLARA (1977).

La administración continua de niridazol desde antes de la infestación por *T. spiralis*, no altera la expresión inmunitaria más característica de la infestación intestinal: la autocuración, SANMARTIN DURAN (1977). Fenómeno que se considera fundamentalmente debido a la I.M.C., LARSH (1967), RUITENBERG y STERENBERG (1974), con ratones tiectomizados o recién nacidos, tratados con sueros antitimocíticos o antilinfocitos y WALLS y cols. (1973) con ratones irradiados y recons-

tituidos. Además de no verse afectado el proceso de autocuración, tampoco existía una inhibición de la migración macrofágica, lo cual podría interpretarse como que el niridazol no actuaba sobre los linfocitos T auxiliares. Asimismo, el tratamiento continuo con niridazol, impedía la respuesta celular estimulada por el tratamiento antihelmíntico supresor de una infestación muscular, hecho que junto con los anteriores sugerían que la acción de niridazol se centraba sobre los linfocitos  $T_{DTH}$  (responsables de las reacciones de hipersensibilidad retardada). El mismo autor, comprobaba la ausencia de diferencias apreciables entre los efectos del niridazol cuando se aplicaba durante todo el ciclo de triquina y cuando se aplicaba solamente antes del tratamiento antihelmíntico supresivo de la fase muscular, lo cual le llevó a concluir que solamente afectaba a la reacción de hipersensibilidad derivada de la desorganización de la estructura capsular, por lo que el organismo se sensibilizará de nuevo al contacto con los antígenos larvarios. No obstante, la aplicación de niridazol frente a una infestación experimental por T. spiralis, disminuye la infiltración inflamatoria acompañada de un retraso en la destrucción de la larva. La misma observación fue hecha por GROVE y WARREN (1976).

JONES y cols. (1976), administrando a ratas y a hombres 25 mg./kg. de niridazol radiactivo, pudieron detectar en orina mediante técnicas cromatográficas adecuadas, tres metabolitos que eran responsables de la actividad inmunosupresora a los antígenos "in vitro", resultando inactivo como inmunosupresor, el compuesto sin degradar.

.III.- MATERIAL Y METODOS  
=====

### 3.1.- DATOS GENERALES

#### 3.1.1.- ANIMALES DE EXPERIMENTACION

Se han utilizado ratones pertenecientes a la estirpe CD-1, - - CHARLES RIVER, los cuales fueron puestos a reproducir en jaulas de - - plástico suministradas por la casa PANLAB. Los animales se mantenían - en un ambiente de temperatura y humedad controlados, 18-21°C. y 45-60 respectivamente.

Para la experimentación los animales fueron separados del de--partamento de cría y colocados en grupos de ocho como mínimo dentro de jaulas confeccionadas por nosotros a base de malla metálica y caja de plástico. Posteriormente, fueron colocados en el departamento de experi--mentación bajo las mismas condiciones ambientales anteriores y con - alimentación a base de piensos compuestos granulados (SANDERMUS) y - - agua natural suplementada de vez en cuando con un completo vitamínico (AUREO-F soluble), a razón de 2 gr./litro.

Los lotes de animales para cada experiencia fueron todos ma- - chos o todas hembras, procurando que existiera uniformidad en el grupo. Se utilizaron animales de una edad aproximada de 50 días y un peso de 25-30 gramos.

#### 3.1.2.- CEPA DE TRICHINELLA SPIRALIS

En todas las experiencias se ha utilizado la cepa GM-I, regis--trada en la O.M.S. y mantenida desde 1963 en que fué aislada de un ga--to montés capturado en Asturias, mediante pases periódicos por rata co--mo reserva o ratón con vistas a la experimentación.



### 3.1.3.- FARMACOS ENSAYADOS

Oxfendazol: Sintetizado en los laboratorios de Syntes Research y amablemente suministrado por el Dr. Richard Schlitz, Palo Alto (California).

Tioxidazol: Es un producto de Schering Corporation, Allentown U.S.A., que nos fué facilitado por el Dr. Eric Panitz.

Mebendazol: Hemos utilizado el preparado comercial LOMPER de Janssen Pharmaceutica, para farmacia.

Ciclofosfamida: Hemos utilizado la fórmula comercial para farmacia (GENOXAL), en viales inyectables de los laboratorios FUNK, S.A.

Niridazol: Se empleó el preparado comercial, AMBILHAR (CIBA), - obtenido a través de la Dirección General de Farmacia del Ministerio de Sanidad y Seguridad Social.

Maretín: Fue empleado el producto de Bayer, Leverkusen, Alemania para uso veterinario.

Prednisona: Fue utilizado el preparado de MERCH para farmacia.

### 3.2.- TECNICAS PARASITOLOGICAS

#### 3.2.1.- DETERMINACION DE LA ESPECIE

La determinación de la especie de Trichinella utilizada en - - nuestras experiencias, fué realizada por B. SCHAIKENOV y Z. CH. TA ZIEVA del Laboratorio Helmintológico dirigido por el Dr. BOEV, en el Instituto de Zoología, Kazach Academy of Sciences, Alma-Ata, U.R.S.S.

La determinación se realizó mediante infestaciones de ratones con un par de larvas de Trichinella de diferente sexo, una perteneciente al ejemplar del tejido muscular aislada de nuestros ratones, y la -

otra de una población de especie conocida (T. spiralis, T. nativa, -- T. nelsoi) y mediante posteriores estudios de las tasas reproductoras se llegó a la conclusión de que la especie en cuestión era Trichinella spiralis.

### 3.2.2.- DOSIS INFESTANTE

Todos los ratones utilizados en las experiencias fueron infestados con  $300 \pm 50$  y  $200 \pm 50$  larvas cada uno, siendo en todo caso la misma dosis infestantes para el grupo de animales que constituían cada experiencia.

### 3.2.3.- INFESTACION CON LARVAS OBTENIDAS PREVIA DIGESTION DE LA CARNE

Se utilizó la técnica de digestión según MARTINEZ, A.R. (1978)

Se parte de ratones infestados, a los que se les quita la piel y evisceran, pasando a continuación la canal troceada por un homogenizador o picadora de carne modelo Hispano Suiza durante 20 segundos, con ayuda de un poco de líquido de digestión previamente preparado. La digestión, se hace sobre 100 cc. de agua destilada por cada 10 gramos de carne, con 0,5 gr. de pepsina Merck, título 1:10.000, 0,7cc. de ácido corhídrico y 0,9 gr. de Cloruro sódico.

La carne triturada con el líquido de digestión se pasa a matraces de 250 ml., los cuales se disponen en un agitador de incubación - INFORS-AG-BASEL, tipo ITH, a 300 r.p.m. durante cuatro horas y a 37°C.

Terminada la digestión, el contenido del matraz se pasa por mallas tipo Din II71 de 0,03 mm. y 0,06 mm. de luz de malla, bajo chorro de agua a presión, recogiendo el contenido de la malla de 0,06 mm. mediante barrido con el chorro, sobre una copa de 1000 cc., se completa

con solución salina y se deja reposar. A continuación se sifona el sobrenadante y el sedimento se pasa a un Baermann con solución salina durante una hora a 37°C., a fin de seleccionar las larvas viables. Posteriormente se recuperan las larvas sedimentadas y se pasan a un vaso de precipitados de 100 cc. Se enrasa con solución salina y se cuentan en cámara McMaster con ayuda de contador de mano.

El llenado de las cámaras se efectúa depositando, de una sola vez, una muestra con pipeta pasteur tomada de la suspensión de larvas en agitación. El recuento se realiza sobre microscopio OLYMPUS a 4 x y la cantidad de larvas encontradas se refiere a 100 cc. volumen inicial del que se parte.

El inóculo para la infestación se ajusta en gelatina al 1%, - concentración satisfactoria y que no es preciso mantener en baño María si está recién preparada. Por otra parte, asegura una buena suspensión de las larvas, hecho importante para una infestación uniforme.

Los ratones se inocularon con sonda buco-gástrica, unida a jeringa-automática tipo CORNWALL, administrándole 0,4 ml. a cada uno.

#### 3.2.4.- APLICACION DE LOS FARMACOS

Para los tratamientos efectuados con los diferentes fármacos, fué preciso conocer el peso medio de cada lote de ratones utilizado, a fin de poder determinar la dosis. El pesado se realizó en balanza OHAUS y las dosis fueron calculadas en relación al volumen máximo de suspensión que un ratón puede recibir, 0,4 ml. por vía oral, sin que aparezcan problemas de expulsión por vómitos.

Los productos fueron suspendidos en carboximetilcelulosa sódica al 1%, por resultar insolubles en agua, a excepción de ciclofosfami

da, que fué disuelta en vehículo salino estéril y apirógeno.

Oxfendazol, Tioxidazol, Mebendazo, Maretín, Niridazol y Predni-  
sona, fueron administrados oralmente mediante sonda buco-gástrica con  
jeringa automática, cuidando de mantener la suspensión de los fármacos  
en agitación durante el tiempo que duraban los tratamientos.

Ciclofosfamida fué administrada por vía intraperitoneal con  
jeringa de insulina, desinfectando previamente el área interesada con  
solución de yodo.

### 3.2.5.- RECUPERACION DE ADULTOS

Se siguió la técnica de DENHAM y MARTINEZ (1970), adaptada a  
nuestras condiciones de trabajo. Una vez sacrificados los animales,  
por punción abdominal se descubre el intestino, se separa por trac-  
ción y se extrae. A continuación se abre longitudinalmente y se trocea  
en porciones de 2-3 cm. que se pasan seguidamente a un erlenmeyer con  
100 cc. de solución salina fisiológica. Se incuban durante 4 horas a  
73°C., a fin de producir la autólisis de la mucosa, y por último se pa-  
san a la cámara fría toda la noche.

A la mañana siguiente, el contenido de cada matriz, se vierte  
sobre dos mallas DIN-III7 de 0,03 y 0,01 mm. (acopladas en ese orden).  
Se somete a chorro de agua a presión y el residuo de la malla de 0,01  
mm. es recogido sobre un vaso de precipitados de 100 cc. Esta opera-  
ción se repite por cada ratón, teniendo la precaución de lavar bien  
las mallas entre un ratón y el siguiente.

Posteriormente se procede al recuento, tomando alícuotas de 10  
cc. que se depositan en una placa de Petri reticulada, añadiendo unas  
gotas de tintura de yodo que tiñe a los vermes, haciéndolos más visi-

bles. Se realizan seis recuentos en el estereomicroscopio OLYMPUS á 16x.

#### 3.2.6.- DIGESTION DE LA CANAL Y RECuento DE LARVAS

Se sigue una técnica análoga a la descrita en 3.2.3.

Los ratones una vez sacrificados, se pelan y evisceran y la canal se deposita sobre placas de petri en las que se cortan y homogenizan con tijera curva.

Cada ratón se pasa a un matraz, una vez homogenizado en turmis con la correspondiente cantidad de líquido digestivo y se mantiene en agitador incubador durante cuatro horas. Posteriormente, pasan por mallas y se llevan a vasos de 100 ml. para proceder al recuento en cámara McMaster.

Al verificar el recuento, se diferencia entre larvas vivas (aquellas que se encuentran enrolladas, o que sin estarlo se mueven al poner la cámara sobre una platina caliente a 30-40°C.), y larvas muertas (aquellas que adoptan la forma típica de un seis abierto, o permanecen estiradas sin reacción a los estímulos térmicos.

#### 3.2.7.- OBTENCION DE LAS CELULAS DEL EXUDADO PERITONEAL

Los animales experimentalmente infestados, se anestesian y se sangran mediante sección de la vena yugular para evitar cualquier contaminación hemática del líquido peritoneal.

Para la recogida de las células peritoneales, se quita la piel de la parte ventral del animal y se le inoculan 5 ml. de BBS de HANKS. Se hace masaje peritoneal y se recoge todo el líquido posible en condiciones asépticas. Una vez extraído, el líquido peritoneal de cada ra--

tón, se pasa a unos tubos estériles siliconados que se mantienen en --  
hielo. A continuación se realizan tres lavados sucesivos con BSS por --  
centrifugación a 200 g. durante diez minutos. El sedimento final se re--  
suspende en 2ml. de BSS y posteriormente se procede al contaje de las  
células de cada tubo en cámaras Burkner, efectuando una dilución previa  
de 0,1 ml. de suspensión final en 0,9 ml. de Azul Tripán para facili--  
tar el contaje a la vez que se observa la viabilidad (80%). Paralela--  
mente, se realizan extensiones obtenidas a partir de la suspensión fi--  
nal de células, que se tiñen por técnicas de May Grunwald y Wright, a  
fin de determinar el porcentaje medio de linfocitos y de macrófagos.

Composición del B.S.S. de HANKS para 100 ml.

CLNA	.....	8 gr.
CLK	.....	0,4 "
SO <sub>4</sub> Mg. 7H <sub>2</sub> O	.....	0,2 "
PO <sub>4</sub> HNa <sub>2</sub> 12H <sub>2</sub> O	.....	0,152 gr.
PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> K	.....	0,06 "
CL <sub>2</sub> Ca	.....	0,14 "
Rojo Fenol al 0,2%	.....	5 ml.
Glucosa H <sub>2</sub> O	.....	1 gr.
Penicilina	.....	10.000 U.I.
Estreptomina	.....	10.000 microgramos.

3.2.8. - OBTENCION DE CELULAS ESPLENICAS

Los animales tras anestesia con éter se sacrifican por exanguí--  
nación. Inmediatamente y en condiciones estériles, se extraen los ba--  
zos de por lo menos 15 animales, procurando que éstos estén libres de

tejidos adyacentes y se pasan a una placa de plástico con un poco de B.S.S. A continuación, utilizando dos pinzas estériles y un masticador, se trocean los bazos hasta obtener una suspensión homogénea de células. Es importante que el material utilizado sea de plástico para evitar la adherencia de algunas poblaciones de células de vidrio. En caso de utilizarlo de vidrio, deberá ser liso y siliconado trabajando siempre en baño de hielo.

La suspensión así obtenida, se pasa a un tubo de 17x100 (16 ml) y se coloca sobre baño de hielo para que los fragmentos tisulares sedimenten, durante diez minutos. Posteriormente, se transfiere el sobrenadante (suspensión celular) a un tubo cónico de centrífuga, estéril, de plástico o de vidrio siliconado. Seguidamente se realizan tres lavados con B.S.S. estéril a 200 g. durante diez minutos y el sedimento se suspende en 10 ml. de BSS de nuevo.

En los casos en que existe una contaminación con eritrocitos, la suspensión obtenida se trata con una solución que contiene  $\text{ClNH}_4$  0,155M;  $\text{CO}_3\text{HK}$ , 0,01M; ácido etilendiaminotetracético 0,1 mM, a pH=7,4 y suplementado con suero inactivado de ternera al 10%. Se incuba durante diez minutos a cero grados, produciéndose así la lisis de los eritrocitos NOVOGRODSKY y cols. (1975). Posteriormente se centrifuga obteniéndose en el sobrenadante los eritrocitos lisados y el sedimento que serán las células esplénicas que se resuspenden en 5 ml. de BSS y se cuentan en cámara Burkner.

### 3.2.9.- TRANSFERENCIA DE LAS CELULAS ESPLENICAS Y DEL EXUDADO PERITONEAL.

Con las células esplénicas y de exudado peritoneal obtenidas -

según se describe en los apartados 3.2.7 y 3.2.8, a partir de donantes previamente infestados, se preparan sendos "puzzles", que posteriormente se resuspenden en solución B.S.S. con antibióticos y se cuentan en cámara Burker. Seguidamente se ajusta el inóculo de modo que a cada recipiente le sea transferido un número determinado de células viables.

La transferencia se realiza siguiendo las técnicas de LARSH y cols. (1970) y WAKELIN y WILSON (1977), modificadas en algunos de sus pasos.

Las células del exudado peritoneal son transferidas a ratones recipientes de dos formas. Unos recibieron  $4 \times 10^8$  células viables por vía intraperitoneal en un volumen de 0,5 ml., utilizando jeringas de insulina estériles y desechables. Otro grupo recibió  $4 \times 10^7$  células por vía intravenosa a través de la vena externa del ojo, con jeringa de insulina y aguja muy fina, en un volumen no superior a 0,25 cc. En ambos casos la razón donante: recipiente fué aproximadamente de 2:1.

El mismo planteamiento fué seguido para las células, si bien en este caso pocos bazo donantes fueron suficientes para proporcionar una cantidad abundante de células para la transferencia.

### 3.3. TECNICAS HISTOLOGICAS

#### 3.3.1. - MICROSCOPIA OPTICA

Estos estudios fueron realizados en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital General de Galicia.

Los trozos de tejido muscular fueron fijados en formol neutro al 10%, de donde pasaron a un Autotecnichon Mono Mod. 2A, sufriendo deshidratación mediante sucesivos pases por alcoholes de grado crecien



te, aclarado en xilol e inclusión en parafina.

Los cortes fueron realizados en un microtomo tipo Minot, de ma nivela Leitz. El espesor de los mismos oscilaba entre 4-7 Mm.

Las tinciones efectuadas fueron la Hematoxilina-eosina, Acido periodoco de Schiff, Tricrómico de Masson, Hematoxilina fosfotungstica de Mallory, según las técnicas de ROMEIS (1928) MCMANUS y cols. (1968)

Las observaciones para cada caso se efectuaron sobre un promedio de ocho cortes.

#### 3.4.- FOTOGRAFIA

Las fotografías, tanto de las preparaciones en fresco como his tológicas, se hicieron con cámara OLYMPUS C-35A sobre microscopio VA-- NOX OLYMPUS con película Agfachrome 50-L (50°ASA) en color y cámara - automática Orthomat, sobre un microscopio LEITZ Dialux.

#### 3.5.- ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados obtenidos a lo largo de las distintas experien- cias fueron sometidos a pruebas de significación basadas en la t de - Student, análisis de la varianza y correlación lineal.

IV.- EXPERIENCIAS REALIZADAS  
=====

#### 4.1.- CON OXFENDAZOL

4.1.1.- Se ha determinado la eficacia antihelmíntica del oxfendazol -- frente a preadulto de Trichinella spiralis en ratón. Los tratamientos se efectúan a las 24 horas p.i. y el sacrificio de los animales tuvo lugar al 8º día p.i.

4.1.1.1.- En la primera experiencia se dispuso de cinco lotes, uno de los cuales actuaba como control de infestación y el resto recibió 2, 3, 5 y 7 mg./kg. de oxfendazol respectivamente.

4.1.1.2.- Se administraron las dosis de 15,25 y 50 mg./kg. a tres lotes correspondientes de animales, mientras que el cuarto permaneció in tratado y se consideró como testigo de la infestación.

4.1.2.- Se determinó la eficacia antihelmíntica del oxfendazol frente a la fase adulta de Trichinella spiralis. Los animales fueron tratados al 6º día p.i. y el sacrificio de los mismos tuvo lugar el 8º día p.i. -- Para ello se montaron dos grupos de experimentos:

4.1.2.1.- Constó de un lote control no tratado frente a cuatro lotes -- que recibieron sucesivamente las dosis de 5, 7, 15 y 25 mg./kg.

4.1.2.2.- Estaba formado por un lote testigo y tres lotes experimentales tratados con 50, 100 y 200 mg./kg. del fármaco ensayado.

4.1.3.- Se evaluaron los efectos del oxfendazol, sobre las larvas emigrantes de Trichinella spiralis. En esta fase los animales fueron tratados en los días 13, 14 y 15 p.i. y sacrificados al día 30 p.i., con el fin de que el antihelmíntico actuara solamente sobre fases parenterales, se ha suprimido previamente la población intestinal mediante la

administración de 60 mg./kg. Maretín en el 9º día p.i. En este caso se dispusieron dos experiencias:

4.1.3.1.- Se utilizaron dos grupos de ocho animales cada uno. Uno de ellos no recibió tratamiento alguno y fue por tanto considerado como testigo. El otro se trató a razón de 300 mg./kg. de oxfendazol.

4.1.3.2.- Consistió en un grupo control y dos experimentales, que fueron tratados con oxfendazol a las dosis de 400 y 500 mg./kg. En ambos experimentos, la eficacia fué determinada mediante recuento de larvas aisladas de los músculos por digestión.

4.1.4.- Se evaluaron los efectos del oxfendazol sobre larvas enquistadas de Trichinella spiralis. Los tratamientos se llevaron a cabo los días 35, 36 y 37 p.i. y el sacrificio de los animales a los 42 p.i. Para ello, se han empleado un total de siete lotes de ocho ratones cada uno, distribuidos como sigue:

4.1.4.1.- En una experiencia se utilizaron dos lotes, uno intratado, testigo de la infestación, y el otro que recibió 200 mg./kg. de oxfendazol.

4.1.4.2.- Se dispuso de cinco lotes de animales, cuatro de los cuales recibieron 300, 400, 500 y 700 mg./kg. de oxfendazol, y el quinto fué considerado como testigo.

En ambos casos, la eficacia del tratamiento fué determinada por:

- a).- Observación directa de los quistes musculares por compresión.
- b).- Recuento y observación de viabilidad directa de las larvas por resistencia a una digestión estandar.

c).- Toma de muestras para anatomía patológica de los músculos de ratón infestados y tratados con las distintas dosis del antihelmíntico.

d).- Viabilidad diferida mediante pruebas de reinfestación.

4.1.5.- Se estudió la viabilidad de las larvas recuperadas al quinto día del tratamiento con oxfendazol. Las larvas tratadas y recuperadas fueron administradas a grupos de ratones (un lote por dosis) y posteriormente se determinó su capacidad de alcanzar el estado adulto, así como la actividad reproductora y poder de enquistamiento en relación a aquellas que se obtuvieron de los testigos.

4.1.5.1.- Determinación de la viabilidad de las larvas procedentes del tratamiento con 200 mg./kg. de oxfendazol, expresada en número de adultos al 8º día p.i.

4.1.5.2.- Determinación de la viabilidad de las larvas procedentes de los tratamientos efectuados con 200 mg./kg., expresada en número de larvas musculares al 30º día p.i.

4.1.5.3.- Determinación de la viabilidad de las larvas tratadas con 300, 400, 500 y 700 mg./kg. de oxfendazol, expresada en número de adultos al octavo día p.i.

4.1.5.4.- Determinación de la viabilidad de las larvas tratadas con 300, 400, 500 y 700 mg./kg. de oxfendazol, expresada en número de larvas al 30º día p.i.

4.1.6.- En esta experiencia, se trató de encontrar dosis mínimas de oxfendazol, eficaces contra larvas enquistadas de Trichinella spiralis. Los tratamientos fueron efectuados los días 35, 36 y 37 p.i., realizán

dose el sacrificio de todos los ratones a los 42 días p.i. La eficacia antihelmíntica fué determinada por:

- a).- Observación directa de los quistes por compresión.
- b).- Recuento y observación de la viabilidad directa de las larvas por resistencia a una digestión estandar.
- c).- Observación de la viabilidad diferida mediante reinfestación.

4.1.6.1.- Se dispuso de cinco lotes de ocho ratones cada uno, que recibieron las dosis correspondientes a cada lote de 100, 80, 60 y 40 mg./kg. de oxfendazol, permaneciendo el quinto lote como testigo de la infestación.

4.1.6.2.- Las larvas recuperadas en 4.1.6.1., fueron inoculadas a otro lote de ratones, uno para cada dosis, con el fin de determinar la capacidad de las mismas para alcanzar el estado adulto. Para ello se realizó el sacrificio de los animales y las determinaciones necesarias basadas en el recuento de los adultos intestinales al 8° día p.i.

4.1.6.3.- Tuvo como fin, determinar la capacidad de reproducción y de enquistamiento, para las larvas procedentes de 4.1.6.1. Para ello fueron inoculados a ratones indemnes y a los 30 días p.i. se realizó el sacrificio de los animales, así como las determinaciones necesarias basadas en la observación y recuento del número de larvas aisladas por digestión.

4.1.7.- Experiencias correspondientes al tratamiento supresivo del oxfendazol contra larvas enquistadas en presencia de prednisona:

Fueron infestados 200 ratones con  $250 \pm 50$  larvas viables de I. spiralis. A los cuarenta días p.i., diariamente los tres primeros -

días y cada tres días, sucesivamente, se sacrificaron ocho animales por grupo hasta el día 58 post-infestación, incluyendo un masetero en formol neutro al 10% para su estudio histológico en microscopía óptica.

4.1.7.1.- Grupo experimental n° 1. Compuesto por 30 ratones infestados con T. spiralis y sin tratamiento alguno que actuaban como testigo de la infestación.

4.1.7.2.- Grupo experimental n° 2. Compuesto por 30 ratones infestados con T. spiralis, tratados con prednisona a 10 mg./kg., los días 35, 36 y 37 p.i. y con oxfendazol a 200 mg./kg. los días 38, 39, y 40 p.i.

4.1.7.3.- Grupo experimental n° 3. Constaba de 30 animales infestados con T. spiralis y tratados diariamente con prednisona a 10 mg./kg., -- desde el día 35 p.i. hasta el día 58 p.i. y con oxfendazol a 200 mg./kg. los días 38, 39 y 40 p.i.

4.1.7.4.- Grupo experimental n° 4. Compuesto por 30 animales infestados con T. spiralis y tratados únicamente con oxfendazol a 200 mg./kg. los días 38, 39 y 40 p.i.

#### 4.2.- CON TIOXIDAZOL

4.2.1.- Se ha determinado la eficacia antihelmíntica del tioxidazol -- frente a preadultos de T. spiralis.

4.2.1.1.- Se dispuso de un grupo de 60 ratones distribuidos en lotes de diez cada uno. Uno de los lotes lo componían animales infestados y no tratados que actuaban como testigos, mientras que los restantes recibieron 5, 10, 15, 25 y 50 mg./kg. (una dosis para cada uno), a las 24 horas p.i. Todos los animales fueron sacrificados al 8° día p.i. y la -

eficacia fué determinada mediante recuento del número de adultos recuperados del intestino en el momento del sacrificio.

4.2.1.2.- En esta experiencia, se administraron tres veces consecutivas y a intervalos de doce horas a partir de las 24 p.i., las dosis de 10, 25 y 50 mg./kg., a tres lotes correspondientes, utilizando un cuarto lote como testigo. Los animales fueron también sacrificados al 8º día p.i.

4.2.2.- Se ha determinado la eficacia antihelmíntica del tioxidazol frente a adultos de T. spiralis.

4.2.2.1.- Constó de un lote testigo intratado y cinco lotes experimentales, que recibieron las dosis de 5, 10, 20, 40 y 50 mg./kg., al 6º día p.i. Los animales fueron sacrificados al 8º día p.i.

4.2.2.2.- Se dispusieron cuatro lotes de animales de los que recibieron las dosis de 50, 100 y 200 mg./kg., dos veces consecutivas con intervalo de 24 horas a partir del 6º día p.i.

El sacrificio tuvo lugar el 8º día p.i.

4.2.3.- Se trataba de averiguar los efectos del tioxidazol sobre larvas emigrantes de T. spiralis. Los animales fueron tratados en el día 9º p.i. con Maretín y en los días 13, 14 y 15 p.i. con tioxidazol, verificando el sacrificio de los mismos a los 30 días p.i. La eficacia fué determinada a partir de las larvas recuperadas del músculo estriado mediante digestión péptica estandar.

4.2.3.1.- Consistió en un lote testigo y tres lotes experimentales que recibieron sendas dosis de 100, 200 y 300 mg./kg. de tioxidazol.



4.2.4.- Tuvo como finalidad el conocer los efectos del tioxidazol sobre las larvas enquistadas de T. spiralis. Los tratamientos fueron efectuados en los días 35, 36 y 37 p.i. y el sacrificio de los animales a los 42 días p.i.

4.2.4.1.- Se partió de tres grupos experimentales de animales a los que se les administraron sendas dosis de 50, 100 y 200 mg./kg. de tioxidazol frente a un cuarto grupo que permaneció intratado constituyendo el testigo de la infestación. La eficacia del tratamiento fue determinada por:

- a).- Observación directa de los quistes musculares por compresión.
- b).- Recuento y observación de la viabilidad directa de las larvas por resistencia a una digestión péptica estandar.
- c).- Viabilidad diferida mediante pruebas de reinfestación.

4.2.5.- Se estudió la viabilidad (poder infestante) de las larvas recuperadas al quinto día del tratamiento con tioxidazol, según los modelos anteriormente establecidos. Las larvas recuperadas y correspondientes a las distintas dosis del tratamiento efectuado, fueron inoculadas a sendos grupos de ratones indemnes, evaluándose a continuación su capacidad para alcanzar el estado adulto, poder reproductivo y de enquistamiento, respecto a las que se obtuvieron de los testigos.

4.2.5.1.- Se ha determinado la capacidad que las larvas procedentes de los tratamientos efectuados a las dosis de 50, 100 y 200 mg./kg., tenían para alcanzar el estado adulto.

Las determinaciones fueron hechas al 8° día p.i.

4.2.5.2.- Consistió en determinar la capacidad reproductiva y de en-

quistamiento respecto a las que se obtuvieron de los testigos.

4.2.5.1.- Se ha determinado la capacidad que las larvas procedentes de los tratamientos efectuados a las dosis de 50, 100 y 200 mg./kg. tenían para alcanzar el estado adulto.

Las determinaciones fueron hechas al 8° día p.i.

4.2.5.2.- Consistió en determinar la capacidad reproductiva y de enquistamiento de las larvas procedentes de los tratamientos efectuados con las dosis de 50, 100 y 200 mg./kg.

Las determinaciones fueron efectuadas al 30° día p.i.

#### 4.3.- CON MEBENDAZOL

4.3.1.- Se trataba de encontrar las dosis mínimas de mebendazol, activas contra las larvas enquistadas de Trichinella spiralis. Para ello se ha dispuesto un grupo de experiencias en las que los tratamientos eran efectuados a los 35, 36 y 37 días p.i. con sacrificio posterior de los animales a los 42 días p.i.

En todos los casos la eficacia del tratamiento fué determinada por:

- a).- Observación directa de los quistes musculares por compresión.
- b).- Recuento y observación de la viabilidad de las larvas por resistencia a una digestión péptica estandar.
- c).- Observación de la viabilidad mediante pruebas de reinfestación.

4.3.1.1.- Se administraron las dosis de 30, 20 y 10 mg./kg.



tes de 10 animales cada uno, frente a un cuarto lote que no recibió --  
tratamiento, ya que se consideró como control.

4.3.1.2.- Se trataron dos lotes de ratones con 5 y 3 mg./kg. de mebendazol respectivamente, frente a un tercer lote control.

4.3.2.- Con el fin de completar los resultados obtenidos en el apartado anterior, se trató de averiguar el poder infestante de las larvas --  
tratadas con las diferentes dosis de mebendazol.

4.3.2.1.- Las larvas procedentes de los tratamientos con mebendazol á  
30, 20 y 10 mg./kg. así como la de los testigos, fueron inoculadas a --  
otros tantos grupos de ratones indemnes (con 20 ratones por grupo), a  
fin de determinar la capacidad de las mismas para alcanzar el estado --  
adulto, (Determinación por recuento al 8° día) así como la capacidad --  
para reproducirse y enquistarse en el músculo (Determinación efectuada  
a los 30 días p.i.).

4.3.2.2.- El planteamiento seguido en esta experiencia es idéntico a --  
4.4.2.1., correspondiente aquí a las larvas tratadas con las dosis de  
5 y 3 mg./kg. de mebendazol.

4.4.- Con este grupo de experiencias se trataba de averiguar, por una  
parte la influencia de agentes inmunomodificantes sobre la marcha de --  
una infestación intestinal por T. spiralis, según nuestro modelo expe-  
rimental y por otra, las repercusiones sobre posteriores tratamientos  
supresivos con mebendazol y a nivel muscular.

4.4.1.- Consistió esta experiencia en el estudio simultáneo de la evo-  
lución cuantitativa del número de parásitos adultos de T. spiralis es-  
tablecido en el intestino de animales experimentalmente infestados y --

del número de células totales del exudado peritoneal.

4.4.1.1.- Para ello se han utilizado 100 ratones CD-1 infestados con 300 ± 50 larvas de T. spiralis. En días alternos se sacrificaban grupos de ocho animales cada día, aislándose y recontándose el número de adultos y células del exudado peritoneal, tal y como se expresó en el correspondiente capítulo de material y métodos. El ensayo finalizó una vez concluido el proceso de autocuración. Esta prueba fué utilizada como control, frente a aquellas experiencias que transcurrieron bajo los efectos de inmunomodificantes.

4.4.2.- Se llevó a cabo el estudio simultáneo de la evolución cuantitativa del número de parásitos adultos de T. spiralis, establecidos en el intestino y del número de células del exudado peritoneal en animales previamente infestados y bajo los efectos de dosis inmunomodificantes del agente alquilante ciclofosfamida.

4.4.2.1.- Un grupo de 150 ratones fueron tratados dos días antes de la infestación con 150 mg./kg. de ciclofosfamida. Dos días más tarde recibieron 300 ± <sup>50</sup> larvas/ratón y seis días p.i. se les administró una segunda dosis de 150 mg./kg. de ciclofosfamida. Bajo estas condiciones, a partir del tercer día p.i. y en días alternos, se iban sacrificando grupos de ocho animales cada día, a fin de aislar y recontar el número de adultos y células peritoneales. Esto continuó hasta el día 30 p.i., fecha límite del ensayo.

4.4.3.- Se estudió la evolución de las larvas subsiguiente a un tratamiento supresivo con mebendazol de una infestación muscular por T. spiralis en ratones CD-1.

4.4.3.1.- Para ello, un grupo de 75 ratones, infestados con T. spiralis fué tratado en los días 37, 38 y 39 p.i., con 30 mg./kg. de mebendazol. Posteriormente grupos de ocho animales fueron sacrificados los días 38, 39, 40, 41, 42, 45 y 48 p.i., a fin de poder efectuar las siguientes determinaciones cada día:

- a).- Observación directa de los quistes musculares por compresión entre placas.
- b).- Toma de muestras de maseteros para posteriores estudios histopatológicos.
- c).- Recuento y observación de la viabilidad directa de las larvas mediante la digestión péptica estandarizada.

Esta prueba fué utilizada a su vez como control frente a ciclofosfamida.

4.4.4.- Se estudió la evolución del estado de las larvas musculares subsiguientes a un tratamiento supresivo con mebendazol de una infestación muscular con T. spiralis en ratones CD-1 sometidos a los efectos inmunomodificantes de la ciclofosfamida durante la fase intestinal de la infestación.

4.4.4.1.- Se partió de un grupo de 75 ratones, los cuales tres días antes de la infestación, recibieron 150 mg./kg. de ciclofosfamida. Tres días más tarde eran infestados con  $300 \pm 50$  larvas/ratón de T. spiralis y en el 6º día p.i, recibían una segunda dosis de 150 mg/kg. de ciclofosfamida. Bajo estas condiciones, los días 37, 38 y 39 fueron tratados con mebendazol a razón de 30 mg/kg., seguidamente, grupos de ocho animales fueron sacrificados en los días 38, 39, 40, 41, 42, 45 y 48 p.i., realizando cada día las siguientes determinaciones:

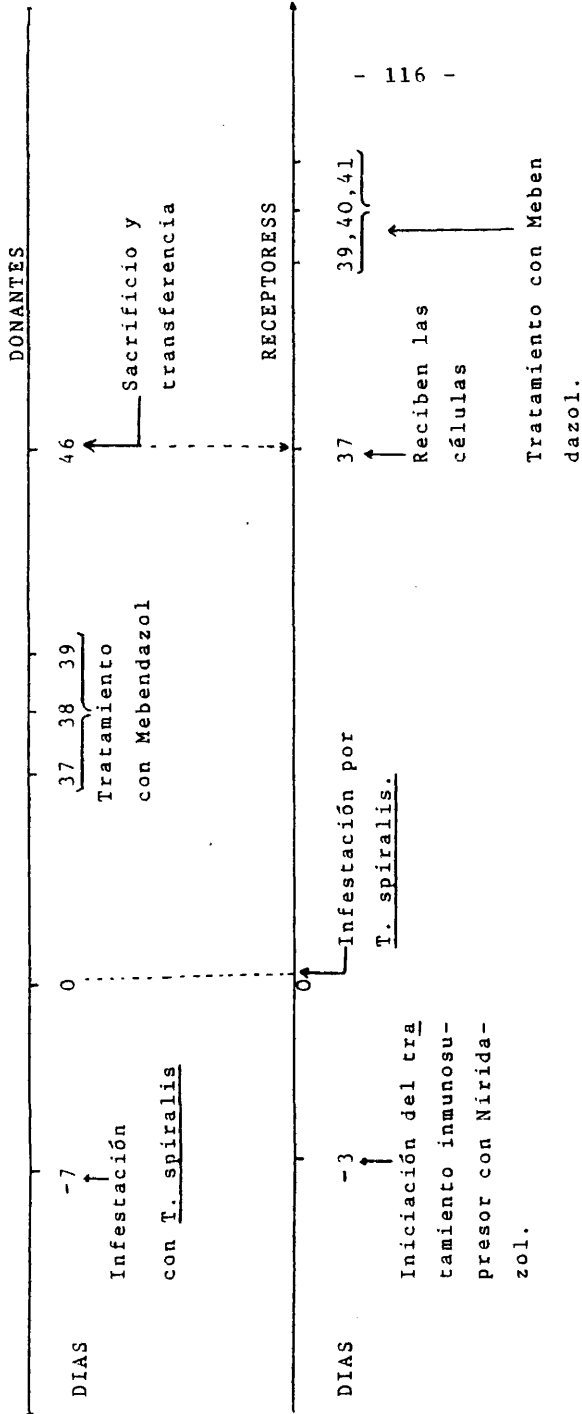
- a).- Observación directa de los quistes musculares por compresión entre placas.
- b).- Toma de muestras musculares (maseteros), para posteriores estudios histopatológicos.
- c).- Recuento y observación de la viabilidad directa de las larvas mediante una digestión péptica estandar.

4.4.5.- Se estudió la evolución del estado de las larvas musculares, subsiguiente a un tratamiento supresivo con mebendazol de una infestación muscular por T. spiralis, en ratones CD-1, los cuales, habiendo estado bajo los efectos inmunomodificantes de niridazol durante todo el ciclo, recibieron en los días previos al tratamiento supresivo, células peritoneales y esplénicas de donantes infestados y tratados también con mebendazol.

4.4.5.1.- Un grupo de 100 ratones, seleccionados para actuar como donantes de células esplénicas y peritoneales, fueron inoculados y tratados en los días 37, 38 y 39 p.i. con 300 mg./kg. de mebendazol.

Siete días más tarde, otro grupo de 200 ratones seleccionados para actuar como recipientes de células esplénicas y peritoneales, fueron asimismo infestados con  $300 \pm 50$  larvas/ratón de T. spiralis. Estos ratones fueron sometidos diariamente desde tres días antes de la infestación a un tratamiento inmunosupresor con niridazol a razón de 100 mg./kg./día, hasta dos días antes de recibir la transferencia.

En el día 46 p.i. para los donantes (día 37 p.i. para los receptores), se verificó la transferencia de células esplénicas y peritoneales de la forma que a continuación se describe.



- 116 -

El motivo por el que se eligió el día 46 p.i., es decir, siete días después del tratamiento, fué porque en el séptimo día p.t. supresivo con mebendazol, se obtiene el máximo de respuesta celular. SANMARTIN DURAN (1979). Tesis Doctoral.

La experiencia se llevó a cabo según el siguiente modelo:

Grupo experimental n° 1.- Constituido por 90 ratones, a los cuales se les extrajeron las células peritoneales y los bazo, según las técnicas descritas en el correspondiente capítulo de Material y Métodos.

Grupo experimental n° 2.- Formado por 60 ratones, que recibieron las células esplénicas procedentes de donantes estimados por vía intraperitoneal, en una cantidad aproximada de  $4 \times 10^8$  células viables/ratón.

Grupo experimental n° 3.- Constituido por 60 ratones, que recibieron del orden de  $4 \times 10^7$  células esplénicas viables/ratón, por vía intravenosa.

Grupo experimental n° 4.- Constituido por 60 ratones, que recibieron  $4 \times 10^8$  células peritoneales viables/ratón, por vía intraperitoneal.

Grupo experimental n° 5.- Constituido por 60 ratones que recibieron del orden de  $4 \times 10^7$  células peritoneales viables/ratón, por vía intravenosa.

Grupo experimental n° 6.- Formado por 35 ratones que actuaban como testigos de la infestación. No recibieron transferencia de células y no fueron tratados con mebendazol.

Grupo experimental n° 7.- Formado por 35 ratones que actuaban como testigos del mebendazol, no recibieron transferencia de células y



sí fueron tratados con mebendazol.

Cuarenta y ocho horas después de verificada la transferencia, todos los animales de los diferentes grupos experimentales, a excepción del n° 6, fueron tratados con mebendazol a razón de 30 mg./kg.

Asímismo, tampoco recibían tratamiento, 30 ratones de cada uno de los grupos números 2, 3, 4 y 5, ya que fueron considerados como controles de eficacia de las distintas transferencias efectuadas.

Las determinaciones para conocer la eficacia del ensayo tuvieron lugar en los días 3° , 6° , y 9° p.t. Estas consistían en el sacrificio de ocho animales por cada grupo, a fin de realizar las siguientes pruebas:

- Observación directa de los quistes musculares por compresión
- Toma de muestras de músculos meseteros, para posteriores estudios histopatológicos.
- Recuento y observación de la viabilidad de las larvas, mediante una digestión péptica estandar.

119

V.- RESULTADOS

### 5.1.- DE LAS EXPERIENCIAS CON OXFENDAZOL

Este primer grupo de experiencias iba destinado a conocer el - espectro de acción farmacológica del oxfendazol, a lo largo del ciclo biológico endógeno de T. spiralis, desglosado en sus cuatro fases convencionales; preadultos, adultos, larvas emigrantes y larvas enquistadas.

Los resultados aparecen resumidos en las tablas comprendidas - entre los números I y XVI, gráficas I y II e histogramas I, II, III, y IV.

Contra preadultos fueron ensayadas las dosis de 2, 3, 5, 7, 15 25 y 50 mg./kg. Todas ellas resultaron eficaces, puesto que 2 mg./kg.- produjo un 39% de reducción, 3 mg./kg. un 55%, 5 mg./kg. un 85,60%, 7 mg./kg. el 91,80% y ya a partir de 15 mg./kg. la eficacia registrada - fué de un 100% (tablas I, II e histogramas I). Pudo observarse una - cierta proporcionalidad dosis/efecto, expresada en la recta de regre-- sión  $Y=0,0652 x + 5,6676$ , con un coeficiente de correlación de -- --  $r=0,7692$ , (Tabla III, gráfica I).

Dosis similares fueron ensayadas contra las fases adultas de - T. spiralis, resultando de una eficacia sensiblemente menor a la obtenida frente a preadultos. Así, las dosis de 5 y 7 mg./kg., produjeron solamente un 12,86 y 29,41 % de reducción respectivamente, la dosis de 25 mg./kg. alcanzaba un 51,92% de eficacia, 50 mg./kg. no resultó significativamente diferente de la de 25 mg./kg. y 100 mg./kg. produjo solamente un 58,97% de reducción, siendo necesarios 200 mg./kg. para lograr un 84,50% de eficacia (Tablas IV y V e histograma n°II).

Al igual que para preadultos, existe una proporcionalidad di--

recta dosis/efecto, dada por la recta de regresión  $Y=0,0081 x + 4,4091$  con  $r=0,86$ . (Gráfica n° II).

Los estados invasivos de T. spiralis suelen ser los más refractarios a la terapia por antihelmínticos. De acuerdo con esta idea, se han seleccionado dosis superiores a las anteriormente descritas para efectuar los tratamientos contra esta fase.

Una primera experiencia consistió en la administración de 300 mg./kg. de oxfendazol, registrándose una reducción de un 45,42% en el número de larvas enquistadas. Cuando se administraron 400 y 500 mg./kg., en el curso de una nueva experiencia, se consiguieron eficacias del 69,90% y 80,08% respectivamente. (Tablas VI y VII, histograma n° III).

La información obtenida a lo largo de la fase anterior, nos orientaba hacia la elección de dosis superiores para conseguir efectos satisfactorios en el tratamiento de las larvas enquistadas. Por esta razón, se han administrado las dosis de 200, 300, 400, 500 y 700 mg./kg. Las eficacias expresadas en términos de porcentajes de reducción no resultaron estadísticamente significativas a nivel del 0,01, sin embargo, pudo observarse que un 89% de las larvas aisladas por la digestión estaban muertas ya a la dosis de 200 mg./kg. y las demás dosis presentaban desde un 90,79% hasta un 99,17% de las larvas muertas. Además se observaban claras lesiones internas en las mismas (foto n° 1) en contraste con el aspecto íntegro presentado por las larvas aisladas de los testigos. (Tablas VIII e histograma n° IV).

Con el fin de completar este estudio, se han preparado experiencias de viabilidad de las larvas vivas procedentes del tratamiento contra larvas enquistadas a las diferentes dosis ensayadas. Estas expe-

riencias consistían en determinar la capacidad de maduración y de reproducción de las larvas. Los resultados obtenidos (Tablas XI, XII, XIII y XIV), fueron ampliamente satisfactorios y confirmaban el claro efecto del oxfendazol sobre larvas enquistadas de T. spiralis, ya que ninguna de las larvas procedentes de los diversos tratamientos, e inoculadas en ratones indemnes, fué capaz de alcanzar el estado adulto.

Debido a que las dosis seleccionadas para el tratamiento de las larvas enquistadas resultaron ser altamente eficaces, se trató de determinar mediante una nueva experiencia, los umbrales de actividad de oxfendazol frente a larvas enquistadas de T. spiralis, a fin de poder seleccionar una dosis tipo, económica y cómoda para posteriores investigaciones en esta área. Para ello fueron probándose dosis sucesivamente descendentes hasta alcanzar aquella cuya actividad no fuese considerada eficaz.

Se utilizaron las dosis de 100, 80, 60 y 40 mg./kg., obteniendo respectivamente un 57,36%, 43,59%, 34,23% y 7,95% de larvas muertas de entre un total de las aisladas por digestión, frente a un porcentaje insignificante relativo a los controles. Nuestro criterio, para este diseño experimental, se basó en la consideración de dosis mínima eficaz, como la mínima dosis que resulta estadísticamente significativa a un nivel de significación del 0,01, correspondiendo en este caso a la dosis de 60 mg./kg. (basándose en este caso la eficacia en el número de larvas muertas en relación a los controles). (Tabla XI, histograma n° V).

Las experiencias de viabilidad (tablas XVI y XVII, histograma VI), llevadas a cabo como complemento de la anterior, confirmaban plenamente aquellos resultados, obteniéndose respectivamente para las dis

tintas dosis, 100, 80, 60 y 40 mg./kg. unas eficacias del 54,32%, 42,44 %, 29,20% y 5,39% en el caso de la viabilidad para adultos, y 25,40%; 20,40%, 14,68% y 6,02% para larvas. Es interesante observar la coincidencia entre los porcentajes de larvas muertas resultantes del tratamiento efectuado y los porcentajes de reducción obtenidos en la determinación de la capacidad de alcanzar el estado adulto de las larvas procedentes de dicho tratamiento.

La observación directa al microscopio óptico (foto 2,3,4), de los quistes musculares cinco días después del tratamiento con oxfendazol a las distintas dosis, nos condujo a pensar en un mecanismo de acción análogo al manifestado por el mebendazol (SANMARTIN DURAN y cols. (1978), cuando se administra a dosis eficaces contra larvas enquistadas de T. spiralis.

Por esta razón, se han montado un grupo de experiencias, destinadas a seguir la evolución de los quistes musculares después de un tratamiento supresivo con oxfendazol solo y con oxfendazol más prednisona, administrada a distintos tiempos a lo largo del ciclo, bajo la hipótesis de que si la respuesta ocasionada en torno al quiste era de carácter inmunológico, esta resultaría alterada por los inmunomodificantes.

En la primera de las experiencias (Tablas XVIII y XIX), se ha estudiado la evolución de la respuesta inflamatoria, así como las alteraciones musculares a lo largo de los 18 días siguientes al tratamiento con oxfendazol. Los análisis se efectúan diariamente durante los tres primeros días y cada tres días, a partir del tercero post-tratamiento, hasta el día 18 p.t. Pudo observarse en cuanto a la respuesta inflamatoria que esta era de intensidad media, localizada en torno al

quiste, no llegando a hacerse nunca intraquística y escasamente intersticial. Su composición era a base de leucocitos neutrófilos, eosinófilos, células plasmáticas con predominio de linfocitos que se mantenían a lo largo de toda la observación. No se observaron células gigantes de cuerpo extraño, ni fenómenos de calcificación. Los quistes en número abundante, presentaban pared fina al principio que paulatinamente iba engrosándose hasta alcanzar el máximo el día 18 p.t., fecha límite de nuestra observación. Los fenómenos de degeneración basófila y floculosa fueron aumentando hasta el día tercero p.t., a partir del cual seguían un curso irregular en los días intermedios para volver a incrementarse en los días 15 y 18 p.t.

El parásito permaneció íntegro durante todo el período, observándose alteraciones en las fibras adyacentes con degeneraciones basófilas y floculosas desde el principio, incrementándose a partir del día 12 p.t.

Estos efectos pueden ser observados en las fotos núms. (5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11).

Cuando los animales infestados con T. spiralis se trataban en los días 38, 39 y 40 p.i. con oxfendazol, (tablas XX y XXI), fué posible observar notorias diferencias en la evolución de la respuesta inflamatoria y en las modificaciones morfológicas y bioquímicas en torno a los quistes musculares con respecto al grupo tomado como control. La infiltración inflamatoria aumentó progresivamente hasta alcanzar un máximo en el día noveno p.t., esta, que al principio era de localización periquística, evolucionó a intraquística a partir del segundo día de observación y se mantuvo a lo largo de la misma. Asimismo, se observaban células inflamatorias en los intersticios. En cuanto a la composi-

ción, predominaban en los primeros días los leucocitos neutrófilos y eosinófilos, que paulatinamente fueron decreciendo en favor de los linfocitos, células plasmáticas e histiocitos, que alcanzaron su máximo en el día noveno p.t., para posteriormente disminuir. Del mismo modo, la presencia de células gigantes de cuerpo extraño, se hizo patente al sexto día de observación, manteniéndose con ligeros incrementos hasta el final. No se observaron en ninguno de los días fenómenos de calcificación. La presencia de quistes musculares fué abundante para todas las observaciones efectuadas. Existía una degeneración basófila y floculosa abundantes durante los tres primeros días de observación, para desaparecer a partir del día noveno p.t. y a partir de aquí se iban incrementando los fenómenos de degeneración y fragmentación. El número de núcleos en las fibras fué disminuyendo paulatinamente, no observándose ya en ninguno de los casos, a partir del día noveno p.t. (fotos núms. 12 al 18.)

En las siguientes experiencias, se trataba de analizar las modificaciones que podría ocasionar la administración de prednisona antes y durante el tratamiento supresivo con oxfendazol frente a larvas enquistadas de T. spiralis.

La administración de prednisona en los días 35, 36 y 37 p.i., es decir, tres días antes del tratamiento con oxfendazol (tablas XXII y XXIII), no modificó mucho el comportamiento observado en los casos del tratamiento efectuado solamente con oxfendazol (fotos 19 a 26). Se observó una reacción inflamatoria de intensidad creciente, manteniéndose en el máximo desde el día 6° al 12° p.t. En cuanto a su localización, fué periquística en su mayoría, debilmente intraquística e intersticial ya desde el día primero p.t. A partir del día noveno



la mayor parte de las células inflamatorias habían penetrado en el interior de los quistes.

Durante los tres primeros días de observación, predominaban los leucocitos neutrófilos, eosinófilos que descendían paulatinamente en los días sucesivos. Paralelamente se registraba un aumento de linfocitos, células plasmáticas que siendo muy abundantes ya en el segundo y tercer día p.t., se mantenían durante toda la observación.

Los histiocitos, patentes desde el primer día, se incrementaron a partir del día noveno p.t., coincidiendo con la aparición de las células gigantes.

Todas las fibras examinadas presentaban abundantes quistes con cápsula de grosor medio. Se observaron fenómenos de degeneración basófila, y hialina en intensidad creciente solamente a lo largo de los tres primeros días.

A partir del sexto, el parásito se veía fragmentado, hecho que progresivamente fué aumentando. La atrofia en las fibras musculares adyacentes fue patente ya desde el primer día de observación, incrementándose a partir del día quince p.t. hasta el final del estudio.

En un nuevo experimento, la administración de prednisona desde el día 35 p.i. hasta el día 58 p.i., es decir, antes, durante y después del tratamiento con oxfendazol (días 38, 39 y 40 p.i.), arrojó los siguientes resultados (tablas XXIV y XXV y fotos 27 á 33).

En primer lugar fué observada una notable reducción de la intensidad en la reacción inflamatoria. Esta se localizaba prácticamente en torno al quiste y escasamente en el intersticio, sin penetrar en el interior hasta el día 12 p.t. Desde el día 12 hasta el día 18 p.t., la cantidad de células inflamatorias intraquísticas era muy escasa. La

composición del infiltrado era a base de leucocitos neutrófilos y eosinófilos al principio, descendiendo progresivamente a lo largo de la observación para prácticamente desaparecer a partir del día 15 p.t. Los linfocitos, células plásmaticas e histiocitos, presentaban una evolución un tanto irregular a lo largo de la observación, siendo su intensidad muy inferior a la registrada en las experiencias anteriores. En cuanto al estado de los quistes, éstos, presentaban una cápsula gruesa con degeneración basófila y floculosa decreciente en la matriz quística que desaparecería al tercer día p.t. Igual evolución siguieron los núcleos de las células parasitadas.

Las larvas musculares permanecían íntegras hasta el día 12 - - p.t. en que se manifestaron fenómenos de intensa descomposición que se prolongaban a lo largo de los días siguientes hasta el final de la experiencia.

TABLA - I (Exp. 4.1.1.1)

Efectos del oxfendazol, sobre preadultos de Trichinella spiralis, resultados expresados en número de adultos/ración.

	CONTROL	TRATADOS			
	INTRATADO	2mg/kg	3mg/kg	5mg/kg	7mg/kg
	310	135	120	10	45
	292	165	50	28	35
	260	147	130	70	30
	237	130	112	30	20
	220	215	112	31	15
	195	140	182	18	20
	245	150	157	60	10
	307	145	67	15	5
	237	142	117	31	--
	275	182	107	80	--
Media(ES)	257,80 (12,67)	155,10 ( 8,62)	115,40 (12,72)	37,30 (9,14)	22,50 (9,50)
Eficacia del tratamiento	-	39,00%	55,00%	85,60%	91,80%
t de Student		7,05	8,35	15,45	18,52
Significación		p<0,01	p<0,01	p<0,01	p<0,01

Es=Error standar de la media.

TABLA - II (Exp.4.1.1.2)

Efectos del oxfendazol, sobre preadultos de Trichinella spiralis, resultados expresados en número de adultos/ración.

CONTROL INTRATADO	TRATADOS			
	15mg/kg	25mg/kg	50mg/kg	
173	00	00	00	
310	00	00	00	
183	00	00	00	
258	00	00	00	
308	00	00	00	
268	00	00	00	
303	00	00	00	
250	00	00	00	
Media(ES)	256,62(20,37)	0,00(0,00)	0,00(0,00)	0,00(0,00)
Eficacia del tratamiento	100%	100%	100%	
t de Student	--	--	--	
significación	--	--	--	

TABLA - III

ACTIVIDAD TRIQUINELICIDA, DE OXFENDAZOL A DISTINTOS NIVELES DE DOSIFICACION, CONTRA PREADULTOS Y ADULTOS DE T. SPIRALIS.

## PREADULTOS

Dosis mg./kg.	log. mg./kg.	I.E.natural	I.E. % log.	I.E. Probit
2	0.30103	39.00	1.59106	4.7202
3	0.47712	55.00	1.74036	5.1257
5	0.69897	85.60	1.93247	6.0625
7	0.84509	91.80	1.96284	6.3917
15	1.17609	100	2.00000	8.1214
25	1.39794	100	2.00000	8.1214
50	1.69897	100	2.00000	8.1214
ADULTOS				
5	0.69897	12.86	1.10924	3.8641
7	0.84509	29.41	1.46849	4.4583
15	1.17609	46.35	1.66605	4.9071
25	1.39794	51.92	1.71533	5.0476
50	1.69897	36.12	1.55775	4.6442
100	2.00000	58.97	1.77063	5.2250
200	2.30103	84.50	1.92686	6.0152

I.E. = Índice de eliminación.

TABLA - IV (Exp. 4.1.2.1.)

Efectos del oxfendazol sobre adultos de Trichinella spiralis, resultados expresados en número de adultos/ratón.

CONTROL INTRATADO	TRATADOS				
	5mg/kg	7mg/kg	15mg/kg	25mg/kg	
257	247	100	135	155	
222	250	215	73	147	
267	295	152	125	170	
227	188	132	140	22	
190	125	105	140	130	
235	243	237	90	88	
242	113	172	175	93	
220	160	200	120	89	
Media(ES)	232,50 (9,04)	202,62 (24,98)	164,12 (19,22)	124,75 (11,97)	111,75 (18,29)
Eficacia del tratamiento	--	12,86%	29,41%	46,35%	51,92%
t de Student		1,20	3,44	7,69	6,33
Significación		p>0,05	p<0,01	p<0,01	p<0,01

TABLA - V (Exp. 4.1.2.2.)

Efectos del oxfendazol, sobre adultos de Trichinella spiralis, resultados expresados en número de adultos/ratón.

CONTROL INTRATADO	TRATADOS			
	50mg/kg	100mg/kg	200mg/kg	
275	193	105	50	
283	200	112	48	
185	140	120	67	
300	162	67	58	
277	197	108	18	
285	195	148	35	
250	142	98	15	
280	135	118	40	
Media(ES)	266,87(13,59)	170,50 (10,85)	109,50 ( 8,62)	41,37 (6,16)
Eficacia del tratamiento	36,12%	58,97%	84,50%	
t de student	5,93	10,47	15,83	
Significación	p<0,01	p<0,01	p<0,01	

TABLA - VI (Exp. 4.1.3.1.)

Efectos del oxfendazol, sobre larvas emigrantes de Trichi-  
nella spiralis, resultados expresados en número de lar- -  
vas/ratón.

CONTROL	TRATADO
INTRATADO	300mg/kg.
51948	39960
51949	17316
65268	35964
73596	45188
54278	37269
69264	29209
58300	20480
54540	26310
Media(ES)	31462,00(3702,40)
Eficacia del tratamiento	45,42%
t de student	6,22
Significación	P<0,01



TABLA - VII (Exp. 4.1.3.2.)

Efectos del oxfendazol, sobre larvas emigrantes de Trichi  
nella spiralis, resultados expresados en número de larvas  
/ratón.

CONTROL INTRATADO	TRATADOS		
	400mg/kg	500mg/kg	
26937	11155	666	
33799	5494	10656	
32800	12154	4329	
45787	10323	4995	
34299	16650	1332	
29637	3163	4662	
18648	11488	1165	
18813	12487	1165	
Media(ES)	30212,00(3305,95)	10375(1616,40)	3637,00(1238,88)
Eficacia del tratamiento	- - -	69,90 %	88,08%
t de Student	- - -	5,77	7,84
Significación	- - -	p<0,01	p<0,01

TABLA - VIII - (Exp. 4.1.4.1)

Efectos del oxfendazol, sobre larvas enquistadas de Tri--  
chinella spiralis, resultados expresados en número de lar  
vas/ratón.

CONTROL	TRATADOS
INTRATADO	200mg/kg.
69743	66500
68723	64514
54222	49870
52514	41525
76030	64542
66030	49800
60500	56300
50000	67820
Media(ES)	62200,00(3545,20)
	57587,75(3680,78)+
Eficacia del tratamiento	- - - 7,60%
t de Student	- - - 0,96
Significación	- - - P>0,05

(+) :- 89% muertas

TABLA - IX (Exp. 4.1.4.2)

Efectos del oxfendazol, sobre larvas enquistadas de Trichinella spiralis, resultados expresados en número de larvas/ratón.

CONTROL INTRATADO	TRATADOS				
	300mg/kg	400mg/kg	500mg/kg	700mg/kg	
72427	55442	56475	36796	40792	
55910	51948	50236	43956	34465	
78255	45787	44787	51940	52780	
29970	24475	30246	38461	44622	
63270	41292	40436	38461	59107	
74425	50116	49323	36130	50116	
73593	58608	54143	60439	42291	
43456	34532	40325	42124	58275	
Media (ES)	61425,00 (6655,10)	(+) 54525,00 (5477,37)	(++) 45725,00 (3249,50)	(+++) 45537,00 (3226,0)	(++++) 47812,00 (3310,20)
Eficacia del tratamiento	- - -	12,00%	25,26%	29,16%	22,15%
t de Student	- - -	2,21	2,31	2,63	1,99
Significación	- - -	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

(+) .- 90,79% muertas.

(++) .- 97,25% muertas.

(+++). - 97,32% muertas.

(++++). - 99,17% muertas.

TABLA - X

ACTIVIDAD TRIQUINELICIDA DEL OXFENDAZOL A DISTINTOS NIVELES DE DOSIFICACION CONTRA LARVAS EMIGRANTES Y ENQUISTADAS DE T. SPIRALIS.

## LARVAS EMIGRANTES

Dosis mg./kg.	log. mg./kg.	I.E.natural	I.E. log.	I.E. Probit
300	2.47712	45.42	1.65725	4.8844
400	2.60206	69.90	1.84448	5.5215
500	2.69897	88.08	1.94488	6.1750

## LARVAS ENQUISTADAS

200	2.30103	7.60	0.88081	3.5657
300	2.47712	12.00	1.07918	3.8250
400	2.60206	25.56	1.40756	4.3412
500	2.69897	29.16	1.46479	4.4495
700	2.84509	22.15	1.34537	4.2278

TABLA - XI (Exp. 4.1.5.1.)

Resultados, expresados en número de adultos/ratón, del poder de infestabilidad de las larvas recuperadas al quinto día del tratamiento con oxfendazol, en el estado de larvas enquistadas.

CONTROL INTRATADO	TRATADO	
	200 mg./kg.	
290		00
275		00
300		00
310		00
242		00
320		00
295		00
290		00
Media(ES)	290,25 ( 9,00)	0,00(0,00)
Eficacia del tratamiento		100 %
t de Student	-	-
Significación	-	-

TABLA-XII (Exp. 4.1.5.2.)

Resultados, expresados en número de larvas/ratón, del poder de infestabilidad de las larvas recuperadas a los cinco días del tratamiento con oxfendazol en la fase de larvas enquistadas de Trichinella spiralis.

CONTROL	TRATADO
INTRATADO	200 mg./kg.
62320	00
68430	00
63240	00
59990	00
60440	00
65324	00
63248	00
64440	00
Media(ES)	63429,00(1029,24)      0,00(0,00)
Eficacia del tratamiento	-      100 %
t de Student	-      -
Significación	-      -

TABLA - XIII (Exp. 4.1.5.3.)

Resultados, expresados en número de adultos/ratón, del poder de infestabilidad de las larvas recuperadas al quinto día del tratamiento con oxfendazol, en el estado de larvas enquistadas de Trichinella spiralis.

CONTROL INTRATADO	TRATADOS	
	300, 400, 500 y 700mg./kg.	
198		00
178		00
185		00
210		00
200		00
190		00
175		00
200		00
Media(ES)	192,00(4,15)	0,00(0,00)
Eficacia del tratamiento	-	100 %
t de Student	-	-
Significación	-	-

TABLA - XIV (Exp. 4.1.5.4.)

Resultados, expresados en número de larvas/ratón, del poder de infestabilidad de las larvas recuperadas al quinto día del tratamiento con oxfendazol, en el estado de larvas enquistadas de Trichinella spiralis.

CONTROL	TRATADOS
INTRATADO	300, 400, 500 y 700mg./kg.
59430	00
63250	00
49140	00
55233	00
58425	00
55910	00
63250	00
59440	00
Media(ES)	
58009,75(1753,13)	0,00(0,00)
Eficacia del tratamiento.	100 %
t de Student	-
Significación	-



TABLA - XV (Exp. 4.1.6.1)

Resultados obtenidos, en número de larvas/ratón, en la de terminación de la dosis mínima eficaz del oxfendazol contra larvas enquistadas de T. spiralis.

	CONTROL	TRATADOS			
		100mg/kg	80mg./kg	60mg./kg	40mg./kg
	40293	29980	35268	32301	31968
	36630	26650	30283	26973	40951
	17649	36660	22977	39960	22644
	25641	39324	19314	28638	25974
	19980	28986	29304	41625	27639
	32301	25651	26873	22311	24309
	39294	28305	18315	19980	22311
	31968	---	---	33266	27306
					29304
Media (ES)	30469,50 (3254,00) (*)	30793,71 (2121,90)	26062,00 (2537,51)	30631,75 (2914,30)	28045,11 (2047,33)
Eficacia del tratamiento	( % de reducción. ( % de larvas muertas.	0,00	15,00	0,00	7,96
T de Student		0,09	1,11	0,03	0,68
Significación		p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

(\*) 1,04% de larvas muertas.

TABLA - XVI (Exp. 4.1.6.2.)

Resultados obtenidos, en número de adultos/ratón, de las pruebas de viabilidad (poder de infestación) efectuadas con larvas procedentes del tratamiento con oxfendazol, a fin de determinar su eficacia mínima contra la fase de larvas enquistadas de T. spiralis

	CONTROL	TRATADOS			
		100mg/kg	80mg./kg	60mg./kg	40mg./kg
	180	120	140	110	195
	240	110	160	135	165
	250	85	115	155	230
	222	116	100	155	198
	230	92	99	160	200
	210	90	120	148	188
	170	85	110	155	205
	190	75	130	190	220
Media(ES)	211,50(11,02)	96,62 (6,24)	121,75 (7,89)	151,00 (8,58)	200,12 (7,47)
Eficacia del tratamiento		54,32 %	42,44 %	29,20 %	5,39 %
T de Student		9,17	7,09	4,63	0,91
Significación		p<0,01	p<0,01	P<0,01	p>0,05

TABLA - XVII (Exp. 4.1.6.3.)

Resultados obtenidos, en número de adultos/ratón, de las pruebas de viabilidad (poder de infestación) efectuadas con larvas procedentes del tratamiento con oxfendazol, a fin de determinar su eficacia mínima contra larvas enquistadas de T. spiralis.

	CONTROL	TRATADOS			
		100mg/kg	80mg./kg	60mg./kg	40mg./kg
	45333	9999	25400	32240	37140
	29999	20430	28320	37120	37120
	38424	13540	21240	28140	32920
	31638	8990	20330	29999	29451
	43532	17320	18630	30000	40182
	43542	18440	20332	32220	35209
	28424	19440	24440	34440	33320
	36333	21300	25433	27300	28540
Media(ES)	(+)37.153,12 (2511,90)	16.182,37 (1796,74)	23.015,62 (1270,40)	31.444,87 (1236,07)	24.235,82 (1507,65)
Eficacia del tratamiento	( % de larvas ( muertas. ( ( % de reduc- ( ción.	25,40	20,40	14,68	6,02
T de Student		7,27	5,38	2,16	1,06
Significación		p<0,01	p<0,01	p<0,05	p<0,05

TABLA - XVIII (Exp. 4.1.1.7.1)

Resultados del análisis de la respuesta inflamatoria muscular, en ratones infestados de *T. spiralis* sin haber recibido tratamiento alguno a lo largo de la experiencia. Este grupo actuaba como testigo frente a aquellos tratados con oxfendazol y con oxfendazol + prednisona.

INFILTRACION INFLAMATORIA												
DIA P.T.	INTENSIDAD	LOCALIZACION			COMPOSICION							
		Periquís tica.	Intraquís tica.	Inters ticial	Neutró filós.	Eosinó filós.	Linfo citos	Plasmá ticas.	Histio citos	Células gigantes	Calci ficaciones	
1°	+++	++++	-	+	+++	++	+++	++	-	-	-	-
2°	++	++++	-	+	++	++	+++	++	-	-	-	-
3°	++	++++	-	+	+++	++	+++	++	+	-	-	-
6°	++	+++	-	+++	++	++	+++	+++	+	-	-	-
9°	++	++++	-	++	+++	++	+++	++	++	-	-	-
12°	++	++++	-	-	++	++	+++	++	+	-	-	-
15°	+			?			?			?		
18°	++	++++	-	++	+++	++	+++	+	++	-	-	-

TABLA - XIX (Exp. 4.1.1.7.1)

Alteraciones musculares observadas en animales infestados con T. spiralis que no recibieron tratamiento alguno, actuando como testigos de la experiencia.

QUISTES

DIAS P.T.	Número	Grosor de la cápsula.	Deg. basófila	Deg. floculosa	Nº de núcleos	Estado del parásito.	Alteraciones en fibras adyacentes.
1°	++++	+	+++	++	++	Integro	++
2°	+++	++	+++	++	++	"	++
3°	+++	++	+++	+++	+++	"	++
6°	++++	++	-	++	+++	"	++
9°	+++	++	+	-	-	"	++
12°	++++	+++	+	-	++	"	+++
15°	++++	+++	++	++	++	"	+++
18°	++++	+++	++++	+++	++++	"	+++

TABLA - XX (Exp. 4.1.7.4)

Resultados del análisis de la respuesta inflamatoria subsiguiente a un tratamiento supresivo con oxifendazol contra larvas enquistadas de T. spiralis, efectuado en los días 38, 39, y 40 p.i.

INFILTRACION INFLAMATORIA

DIA P.T.	INTENSIDAD	LOCALIZACION		COMPOSICION								
		Periquiás tica.	Intraquiás tica.	Inter- ticial	Neutró filos.	Eosinó filos.	Linfo citos	Células Plasmá- ticas.	Histio- citos.	Celulas gigantes	Calci- fica- ciones	
1°	+	++++	-	-	++++	+++	+	+	-	-	-	-
2°	++	++++	+	++	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-
3°	++	++++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	-	-	-
6°	+++	++++	+++	+	+++	++	++++	+++	+++	++	-	-
9°	++++	+++	+++	++	++	++	++++	+++	++++	+++	-	-
12°	+++	+++	++	+++	++	++	+++	+++	+++	++	-	-
15°	++	+++	++	++	+	+	+++	++	+++	+++	-	-
18°	+	+++	+++	+	+	+	++	+	+++	+++	+	+

TABLA - XXI (Exp. 4.1.7.4.)

Alteraciones musculares subsiguientes a un tratamiento supresivo con oxfendazol, contra larvas enquistadas de *T. spiralis* en los días 38, 39 y 40 p.i.

QUISTES

DIAS P.T.	Número cápsula.	Grosor de la cápsula.	Deg. hasófila	Deg. floculosa	Estado del parásito.	Nº de núcleos	Alteraciones en fibras adyacentes
1°	++++	+	+++	+++	I	+++	+++
2°	++++	++	++++	++++	I	+++	++
3°	+++	++	+++	+++	I	++	++
6°	+++	++	+	+	I <sup>-</sup>	+	+
9°	++++	++	-	-	F <sup>++</sup>	-	-
12°	+++	+++	-	-	F <sup>++</sup>	-	++
15°	+++	+++	-	-	F <sup>+++</sup>	-	++
18°	++	+++	-	-	F <sup>+++</sup>	-	+

TABLA - XXII (Exp. 4.1.7.2)

Resultado del análisis de la respuesta inflamatoria subsiguiente a un tratamiento supresivo con oxfen-  
dazol contra larvas enquistadas de T. spiralis en los días 38, 39 y 40 p.i., previa administración de  
prednisona en los días 35, 36 y 37 p.i.

INFILTRADO INFLAMATORIO												
DIA P.T.	INTENSIDAD	LOCALIZACION	COMPOSICION									
			Periquis_	Intraquís_	Inters_	Neutró_	Eosinó_	Linfo_	Células	Histio_	Células	Calcifi_
		tica.	tica.	ticial	filos.	filos.	filos.	fitos.	Plasmá- ticas.	fitos.	gigantes	nes.
1°	++	++++	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-
2°	+++	++++	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-
3°	+++	++++	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-
6°	++++	++++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	+	-	-
9°	++++	++++	+++	+++	++	+	+++	+++	+++	+++	++	-
12°	++++	+++	+++	++	++	+	+++	+++	+++	+++	++	-
15°	+++	+++	+++	++	++	+	+++	+++	+++	+++	++	-
18°												



TABLA - XXIII (Exp. 4.1.7.2)

Alteraciones musculares subsiguientes a un tratamiento supresivo con oxfendazol contra larvas quistadas de *T. spiralis* en los días 38, 39 y 40 p.i., en animales a los cuales se les administró prednisona en los días 35, 36 y 37 p.i.

QUISTES

DIAS P.T.	Número	Grosor de la cápsula.	Deg. basófila	Deg. floculosa	Nº de núcleos	Estado del parásito.	Alteraciones en fibras adyacentes.
1°	++++	+	+++	++++	+++	Integro	++
2°	++++	++	++	+++	++	"	++
3°	++++	++	++	++	++	"	++
6°	++++	++	-	-	-	Frag. ++	++
9°	+++	++	-	-	-	Frag. ++	++
12°	++++	++	-	-	-	"	+
15°	+++	++	-	-	-	Frag. +++	+++

TABLA - XXIV (Exp. 4.1.7.3.)

Resultado del análisis de la respuesta inflamatoria subsiguiente a un tratamiento progresivo con oxifendazol en los días 38,39 y 40 p.i., contra larvas enquistadas de T. spiralis previo tratamiento con prednisona desde el día 35 hasta el día 58 p.i.

INFILTRACION INFLAMATORIA		COMPOSICION										
DIAS P.I.	INTENSIDAD	LOCALIZACION	Periquís tica.	Intraquís tica.	Inters tical	Neutró filos.	Eosinó filos.	Linfo citos.	Células ticas.	Histio citos.	Células gigantes.	Calcifi cacio-- nes.
1°	++	++++	-	++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-
2°	+	++++	-	+	+++	+++	+++	++	+	+	-	-
3°	+++	++++	-	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-
6°	++	++++	-	+	++	++	++	++	++	+	-	-
9°	+	++++	-	-	+	+	+	++	+	+	+	-
12°	++	++++	+++	+	+	+	+	+++	+	++	++	-
15°	++	++++	++	+	+	-	+++	+++	++	+	+	-
18°	+	++++	++	+	+	-	++	++	+	+	++	-

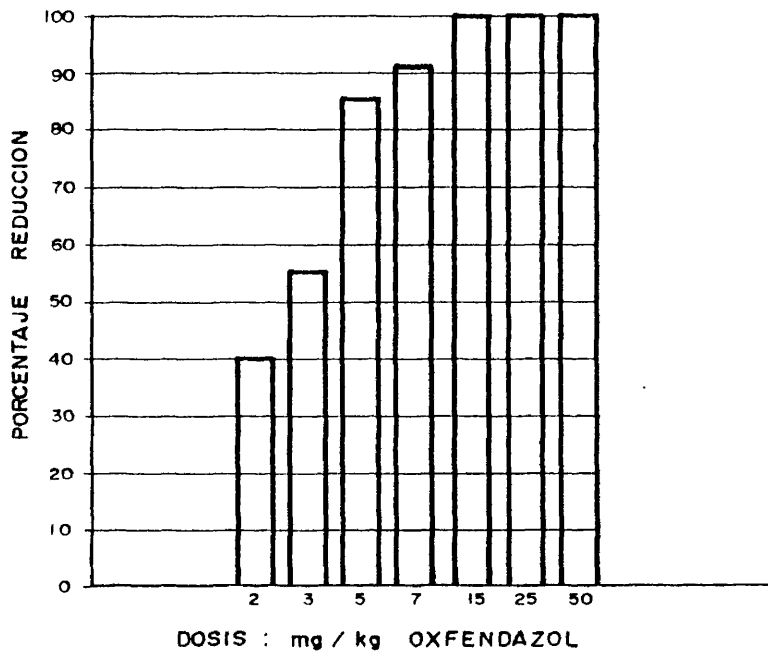
TABLA XXV (Exp. 4.1.1.7.3.)

Alteraciones musculares subsiguientes a un tratamiento supresivo con oxfendazol contra larvas en quistadas de *T. spiralis*, en animales a los que se les había administrado prednisona diariamente desde el día 35 hasta el día 58 p.i.

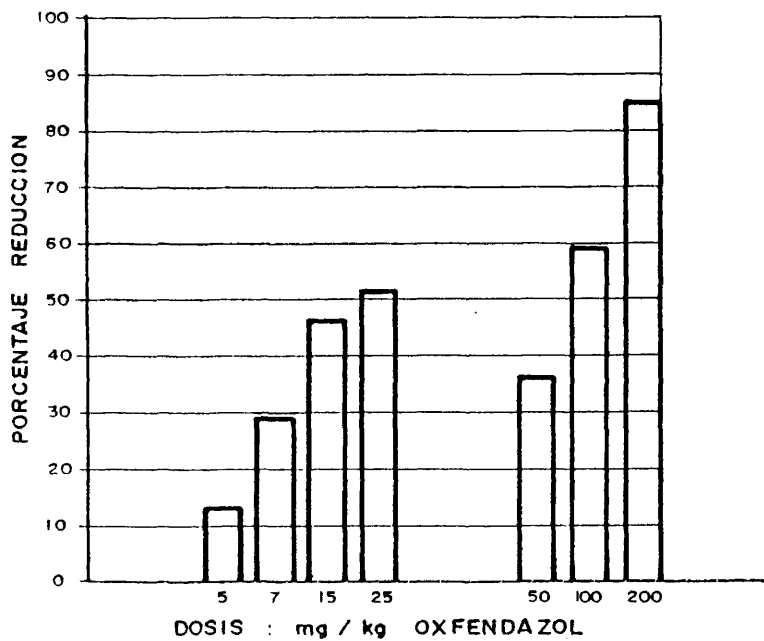
QUISTES

DIAS P. I.	Número	Grosor de la cápsula.	Deg. basófila	Deg. floculosa	Deg. parasito	Estado del N° de núcleos	Alteraciones en fibras adyacentes.
1°	++++	+	++++	+++	Integro	++++	++
2°	++++	+	+++	++	"	+++	++
3°	++++	+++	+	+	"	+	++
6°	++++	+++	-	-	"	-	++
9°	+++	+++	-	-	"	-	++
12°	+++	+++	-	-	Frag. +++	-	++
15°	++	++	-	-	Frag. +++	-	¿
18°	++	++	-	-	Frag. +++	-	¿

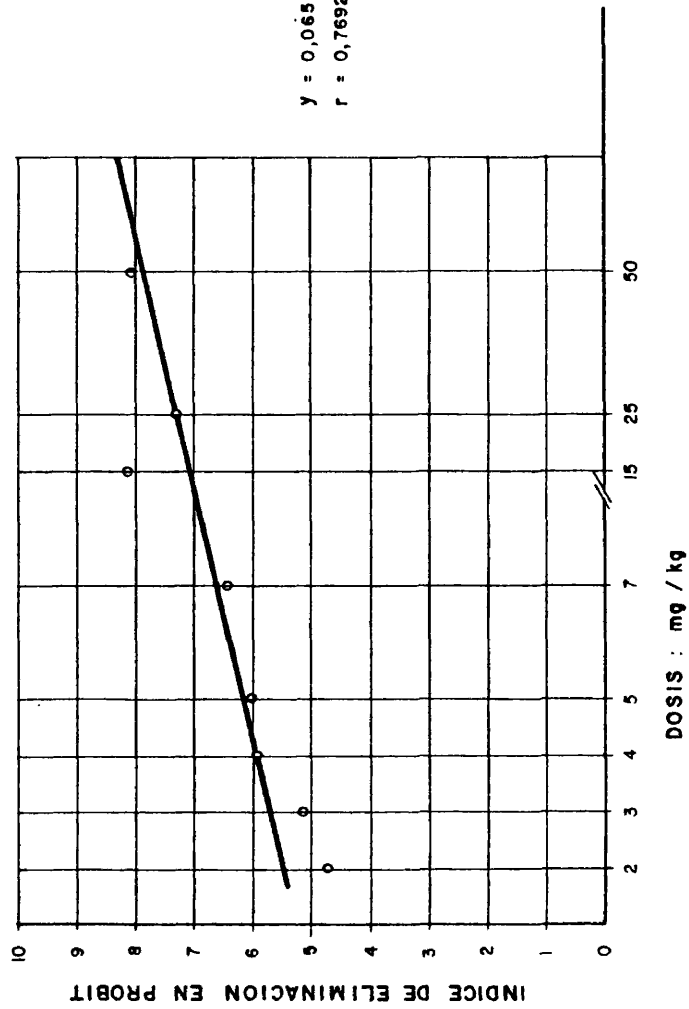
HISTOGRAMA N° I 153  
PRADULTOS



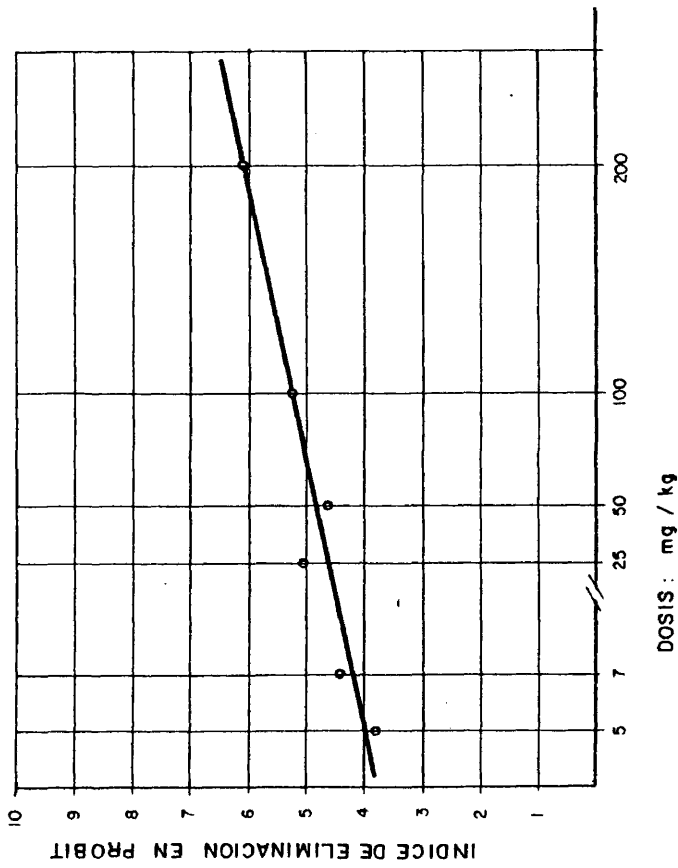
HISTOGRAMA N° II  
ADULTOS



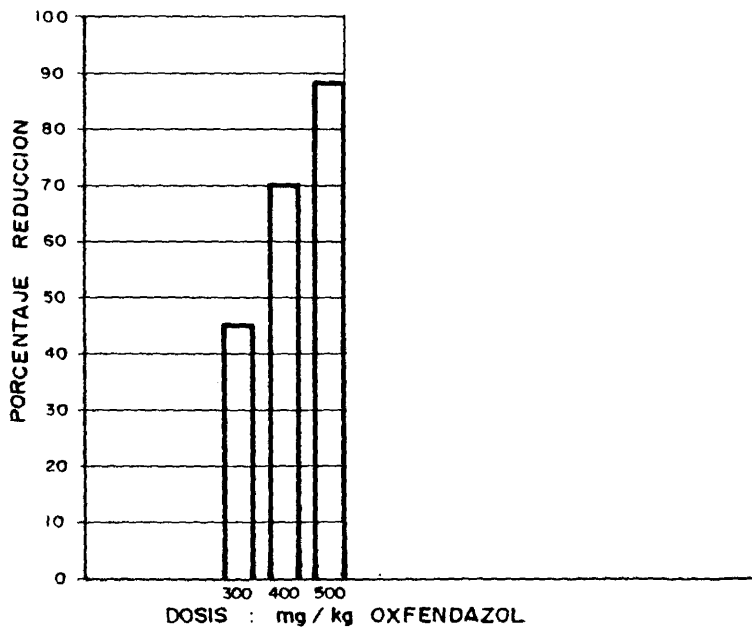
GRAFICA I  
PREADULTOS / OXFENDAZOL



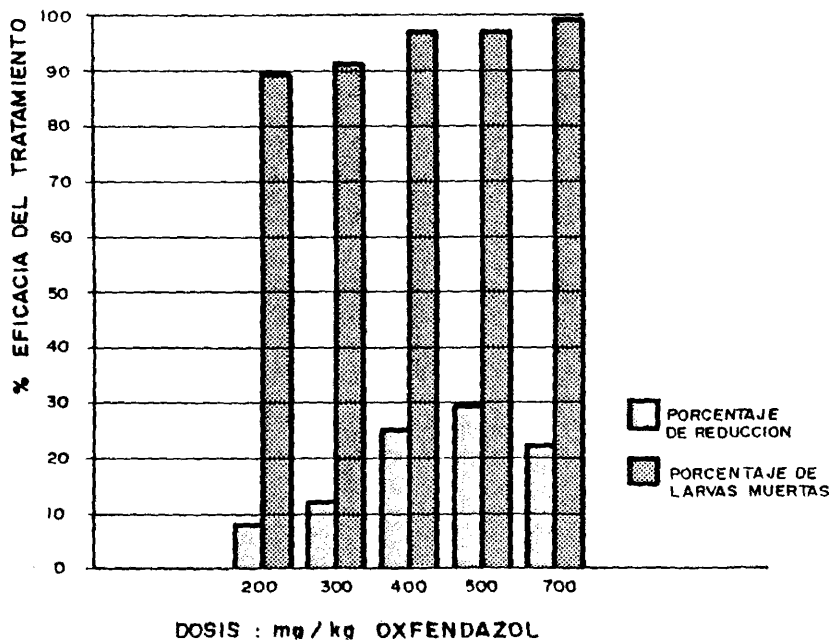
**GRAFICA II**  
**ADULTOS / OXFENDAZOL**



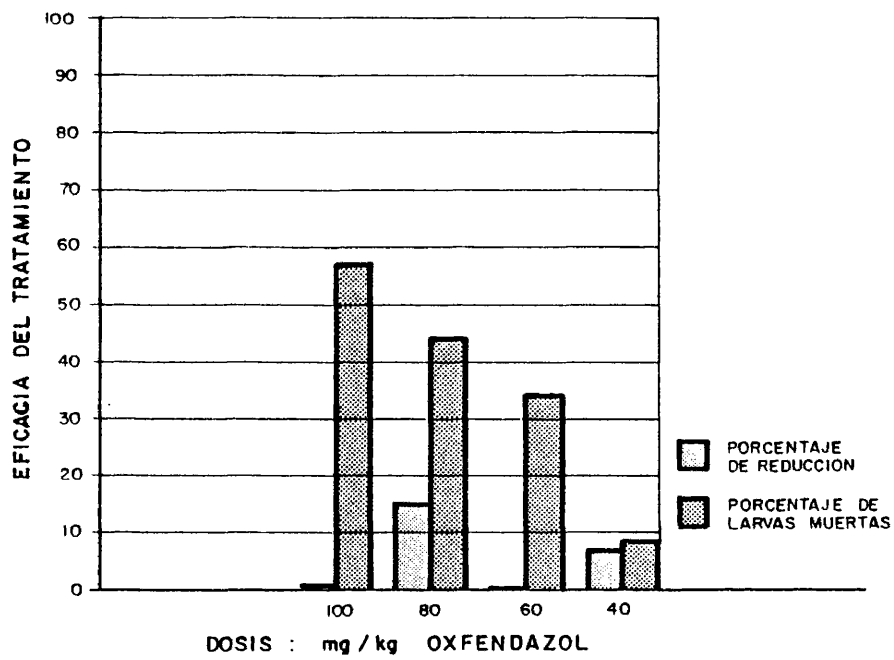
HISTOGRAMA N° III 156  
 LARVAS EMIGRANTES



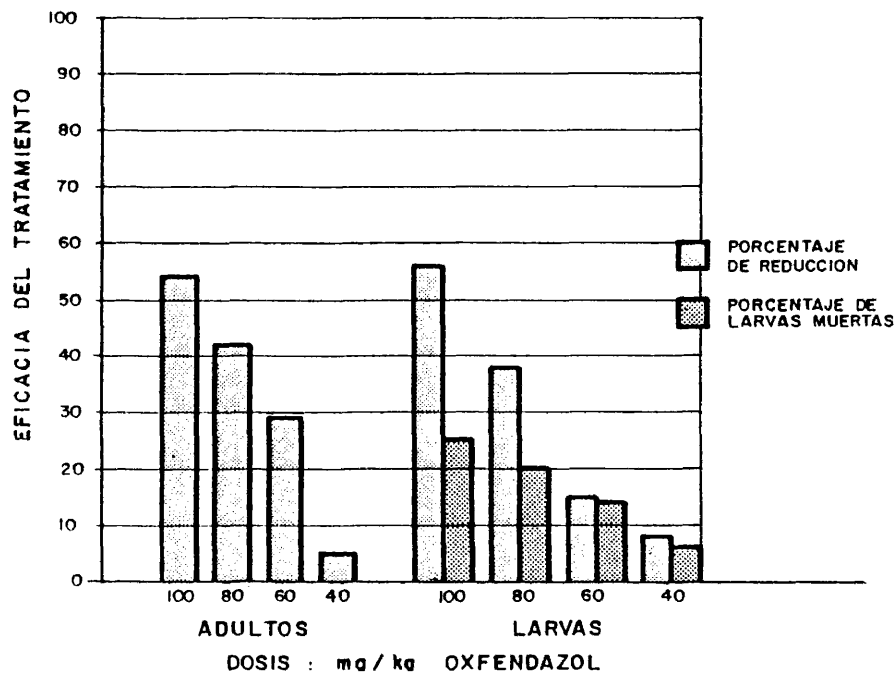
HISTOGRAMA N° IV  
 LARVAS ENQUISTADAS



**HISTOGRAMA N° V** 157  
**EFICACIA MINIMA DEL OXFENDAZOL**



**HISTOGRAMA N° VI**  
**VIABILIDAD EFICACIA MINIMA DEL OXFENDAZOL**





## 5.2.- DE LAS EXPERIENCIAS CON TIOXIDAZOL

El tioxidazol, análogo estructural de los benzimidazolcarbamatos, puesto que pertenece a los benzotiazolcarbamatos, fué el segundo fármaco objeto de "screening" con Trichinella spiralis.

La pauta terapéutica seguida fué análoga a la del oxfendazol, si bien su baja eficacia sobre fases parentales, nos condujo a establecer unas ligeras modificaciones.

Los resultados aparecen expresados y resumidos en las tablas - XXVI á XXXV y en los histogramas VII, VIII, IX, X y XI, expuestas a - continuación.

En el primer ensayo llevado a cabo sobre estados preadultos de T. spiralis (tablas XXVI y XXVII; e histograma VII), se han seleccionado las dosis de 5, 10, 15, 25 y 50 mg./kg. Todas administradas una - sola vez por vía oral.

La eficacia obtenida para todas ellas ha sido media, puesto - que ninguna fué capaz de alcanzar un 50% de reducción en el número de los vermes intestinales y 5 mg./kg. no resultó significativamente eficaz a un nivel de 0,05.

El hecho de que dosis similares fueran altamente eficaces para la mayoría de los benzimidazol-carbamatos hizo que no resultase aconsejable la utilización posterior de niveles mayores.

El segundo ensayo, (tabla XXVIII e histograma VII), se estableció utilizando tres dosis tipo: 10, 25 y 50 mg./kg., administradas - - tres veces consecutivas con intervalos de 12 horas a partir de las 24 horas p.i. El resultado ha sido una sensible mejora en relación a la - pauta terapéutica anterior, puesto que ya a la dosis de 10 mg./kg., se

obtenía un 62,90% de reducción, 25 mg./kg. produjo un 67,18% y 50 mg./kg. un 65,91%, todas ellas ampliamente significativas al nivel 0,01.

La posible acción del tioxidazol contra estados adultos intestinales de T. spiralis se evaluó administrando 5, 10, 20, 40 y 50 mg./kg. en dosis sencilla y por vía oral. Los resultados aparecen resumidos en las tablas XXIX y XXXI, e histograma número VIII.

Los efectos obtenidos han sido respectivamente, 2,50%; 34,40%; 50,00%; 56,85% y 50,48%. A excepción de la primera de las dosis de 5 mg./kg., todas resultaron estadísticamente significativas para 0,01, si bien las eficacias en ningún caso han sido elevadas, ya que fueron necesarios niveles de 40 mg./kg. para alcanzar sobre un 50% de reducción.

Cuando dosis superiores a ésta fueron aplicadas en régimen sostenido, es decir, dos veces consecutivas con intervalo de 24 horas a partir del sexto día p.i., no se obtuvieron efectos superiores a los producidos por las dosis anteriores y 200 mg./kg. arrojó solamente un 55,31% de reducción (tablas XXXI, histograma VIII).

A la vista de estos resultados se creyó conveniente incrementar los niveles de dosificación para el tratamiento de las larvas emigrantes, por ser esta fase la más difícil de tratar con benzimidazoles. A tal efecto, se han utilizado las dosis de 100, 200 y 300 mg./kg., administrados tres veces consecutivas en los días 13, 14 y 15 p.i., obteniéndose 1,75% de reducción para 100 mg./kg.; 3,15% para 200 mg./kg. y 9,47% para 300 mg./kg., efectos no significativos en ningún caso, ni siquiera para una probabilidad del 5% (tabla XXXII, histograma IX).

Contra larvas enquistadas, las dosis ensayadas fueron 50, 100 y 200 mg./kg., durante los días 35, 36 y 37 p.i., obteniéndose unas re

ducciones del 9,56%, 12,80% y 15,75%, respectivamente, que no resultaron eficaces estadísticamente para un nivel del 0,01. Las larvas muertas encontradas no diferían significativamente de los controles en ninguno de los casos (tablas XXXIII, histograma X).

Los estudios de viabilidad llevados a cabo con las larvas recuperadas del tratamiento contra la fase enquistada arrojaron resultados altamente positivos. Solamente un 48,37% de las larvas recuperadas del tratamiento con 50 mg./kg. fueron capaces de alcanzar el estado adulto, 28,65% de las tratadas con 100 mg./kg. y 32,49% de las tratadas con 200 mg./kg., resultados que fueron altamente significativos a nivel de 0,01 (tablas XXXIV, histograma XI). Asimismo, la capacidad de invasión y enquistamiento en músculo de las larvas tratadas, se vió afectada en un 63,29% para las dosis de 50 mg./kg., encontrando un 14,65% de larvas muertas frente a un 2,38% en los testigos, 75,59% para 100 mg./kg. con un 26,34% de larvas muertas y 76,94% para la dosis de 200 mg./kg., con un 34,52% de larvas muertas (tabla XXXV, histog. XI).

TABLA - XXVI - (Exp. 4.2.1.1.)

Efectos del tioxidazol sobre preadultos de Trichinella - -  
spiralis, resultados expresados en número de adultos/ratón

CONTROL INTRATADO	TRATADOS (DOSIS UNICAS)			
	5 mg/kg	10mg/kg	15mg/kg.	
263	236	130	267	
276	246	216	173	
273	223	116	133	
293	210	226	163	
290	243	133	197	
303	223	100	170	
183	236	153	193	
263	250	163	160	
256	266	156	227	
Media(ES)	259,30(13,47)	236,30 (5,32)	154,77 (15,08)	187,00 (14,20)
Eficacia del tratamiento	8,88 %	40,16 %	25,20 %	
t de Student	1,67	5,49	3,90	
Significación	p>0,05	p<0,01	p<0,01	

TABLA - XXVII (Exp. 4.2.1.1.)

Efectos del tioxidazol sobre preadultos de Trichinella --  
spiralis, resultados expresados en número de adultos/ratón.

CONTROL INTRATADO	TRATADOS (DOSIS UNICAS)		
	25mg/kg.	50mg/kg.	
263	153	63	
276	167	183	
273	160	133	
293	117	180	
290	163	127	
303	153	163	
183	153	160	
263	140	117	
256	123	157	
193	97	140	
Media(ES)	259,30(13,47)	142,60(7,66)	142,30(11,80)
Eficacia del tratamiento	44,79 %	44,79 %	
t de Student	7,93	6,88	
Significación	p<0,01	p<0,01	

TABLA - XXVIII (Exp. 4.2.1.2.)

Efectos del tioxidazol, a dosis administradas tres veces consecutivas con intervalos de 12 horas, contra preadultos de Trichinella spiralis. Resultados expresados en número de adultos/ratón.

CONTROL INTRATADO	TRATADOS			
	10mg/kg	25mg/kg	50mg/kg.	
160	50	10	17	
157	16	60	23	
167	93	60	66	
123	80	80	76	
180	125	50	80	
153	36	76	46	
210	43	80	86	
170	46	13	56	
Media(ES)	165,00(9,35)	61,12 (13,42)	53,62 (10,65)	56,25 (9,79)
Eficacia del tratamiento		62,90 %	67,28 %	65,59 %
t de Student		6,79	7,10	8,59
Significación		p<0,01	p<0,01	p<0,01

TABLA-XXIX (Exp. 4.2.2.1.)

Efectos del tioxidazol, contra adultos de Trichinella spiralis, resultados expresados en número de adultos/ratón.

CONTROL INTRATADO	TRATADOS (DOSIS UNICAS)			
	5mg/kg	10mg/kg	20mg/kg	
227	226	113	23	
153	256	77	133	
250	200	107	113	
217	203	147	213	
200	190	160	57	
153	203	97	30	
220	216	170	13	
210	170	111	177	
230	133	167	167	
223	233	250	110	
Media (ES)	208,30(10,64)	203,00 (11,42)	139,90 (16,72)	104,00 (21,96)
Eficacia del tratamiento		2,50 %	34,40 %	50,00 %
t de Student		0,35	3,63	4,78
Significación		p>0,05	p<0,01	p<0,01

TABLA - XXX (Exp. 4.2.2.1.)

Efectos del tioxidazol contra adultos de Trichinella spiralis, resultados expresados en número de adultos/ratón.

CONTROL INTRATADO	TRATADOS (DOSIS UNICAS)		
	40mg/kg.	50mg/kg.	
227	17	117	
153	113	120	
250	133	140	
217	43	93	
200	30	160	
153	17	77	
220	173	97	
210	103	80	
230	153	37	
223	117	-	
Media(ES)	208,30(10,64)	89,90 (19,43)	102,33 (13,02)
Eficacia del tratamiento		56,85 %	50,48 %
t de Student		5,63	6,72
Significación		p<0,01	p<0,01



TABLA - XXXI (Exp. 4.2.2.2.)

Efectos del tioxidazol, a dosis repetidas con un intervalo de 24 horas, contra adultos de Trichinella spiralis. - Resultados expresados en número de adultos/ratón.

CONTROL INTRATADO	TRATADOS (DOSIS REPETIDAS)			
	50mg/kg	100mg/kg	200mg/kg.	
190	106	53	113	
180	123	90	156	
246	150	126	96	
250	116	106	96	
210	120	70	60	
253	93	70	80	
150	130	123	60	
153	166	110	70	
Media (ES)	204,00(16,07)	125,50 (8,85)	93,50 (10,23)	91,37 (12,18)
Eficacia del tratamiento		38,48 %	54,17 %	55,31 %
t de Student		4,58	6,21	5,98
Significación		p<0,01	p<0,01	p<0,01

TABLA - XXXII (Exp. 4.2.3.1.)

Efectos del tioxidazol sobre larvas emigrantes de T. spiralis, resultados expresados en número de larvas/ratón.

CONTROL INTRATADO	TRATADOS			
	100mg/kg	200mg/kg	300mg/kg.	
33634	21312	12654	15651	
34632	20645	24642	10989	
25308	14319	30962	21312	
31635	23310	18215	9990	
13986	31968	16650	19647	
7992	23643	19980	33633	
9990	22644	20644	23310	
12654	9324	21644	---	
Media(ES)	21228,87 (4267,33)	20895,62 (2551,11)	20561,37 (2061,96)	19218,85 (3065,01)
Eficacia del tratamiento		1,75 %	3,15 %	9,47 %
T de Student		0,06	0,14	0,38
Significación		p>0,05	p>0,05	p>0,05

TABLA - XXXIII (Exp. 4.2.4.1.)

Efectos del tioxidazol sobre larvas enquistadas de T. spiralis, resultados expresados en números de larvas/ratón.

CONTROL INTRATADO	TRATADOS			
	50mg/kg	100mg/kg	200mg/kg.	
14918	29037	18381	57009	
57275	15185	64734	23709	
49283	67666	48750	25574	
58075	30369	35698	68400	
37562	50083	55944	27172	
37295	37029	28771	37562	
61805	45288	7193	47153	
37828	45554	49283	11722	
Media(ES)	44255,18 (5887,67)	400262,50 (6016,30)	38594,25 (7441,66)	37287,62 (7207,71)
Eficacia del tratamiento	9,56	12,80	15,75	
T de student	0,53	0,64	0,80	
Significación	p>0,05	p>0,05	p>0,05	

TABLA - XXXIV (Exp. 4.2.5.1.)

Resultados, expresados en número de adultos/ratón del poder de infestabilidad de las larvas recuperadas a los cinco días del tratamiento con tioxidazol en la fase de larvas enquistadas de T. spiralis.

CONTRQL	TRATADOS			
	50mg/kg	100mg/kg	200mg/kg	
195	35	25	70	
230	135	43	60	
150	120	50	110	
125	60	55	25	
125	60	50	40	
210	85	30	70	
195	105	50	35	
155	70	80	40	
Media(ES)	173,12 (15,04)	83,75 (12,87)	47,87 (6,33)	56,25 (10,36)
Eficacia del tratamiento	51,63	72,35	67,51	
T de student	4,83	8,21	6,85	
Significación	p<0,01	p<0,01	p<0,01	

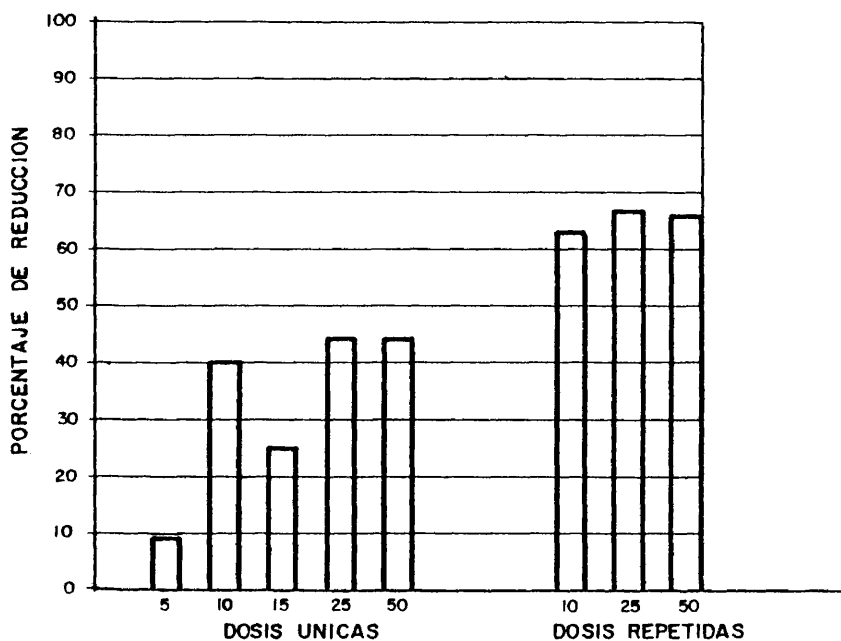
TABLA - XXXV (Exp. 4.2.5.2.)

Resultados expresados en número de larvas/ratón, del poder de infestabilidad de las larvas recuperadas a los cinco días del tratamiento con tioxidazol en la fase de larvas enquistadas de T. spiralis.

CONTROL	TRATADOS			
	50 mg/kg	100mg/kg	200mg/kg	
53631	16650	24642	13320	
40293	18658	2658	20914	
74592	29970	32604	14632	
75591	23976	666	18961	
51984	25974	22311	18971	
64269	18991	666	666	
57609	15994	19617	9843	
49617	---	10989	10493	
Media (ES)	58441,50 (+) (4670,10)	21459,00 (++) (1998,90)	14269,12 (+++) (4652,88)	13478,87 (++++) (2502,76)
Eficacia del tratamiento	63,29	75,59	76,94	
T de Student	7,34	7,18	9,09	
Significación	p<0,01	p<0,01	p<0,01	

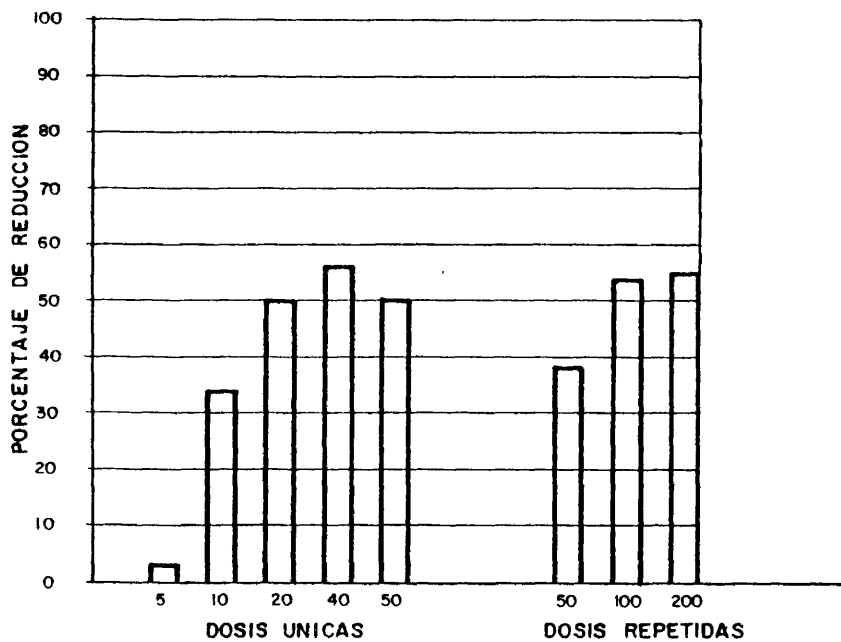
(+)2,83% muertas; (++)14,65% muertas; (+++)26,24% muertas; (++++)  
34,52% muertas.

**HISTOGRAMA N° VII** - 171  
**PREADULTOS**



DOSIS : mg/kg TIOXIDAZOL

**HISTOGRAMA N° VIII**  
**ADULTOS**

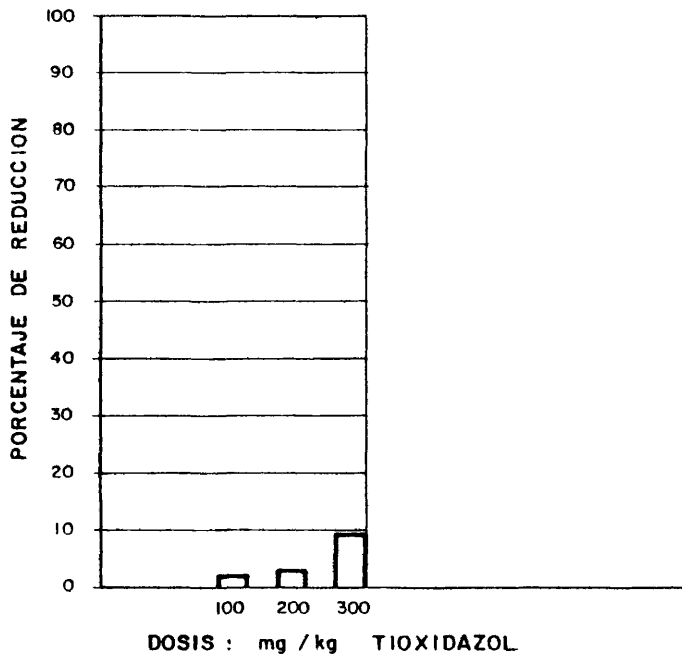


DOSIS : mg/kg TIOXIDAZOL

176

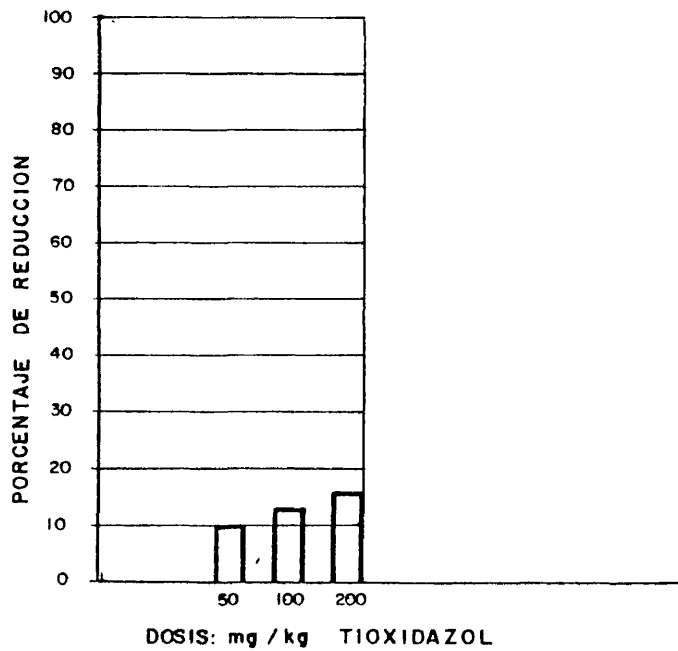
### HISTOGRAMA N° IX

LARVAS EMIGRANTES

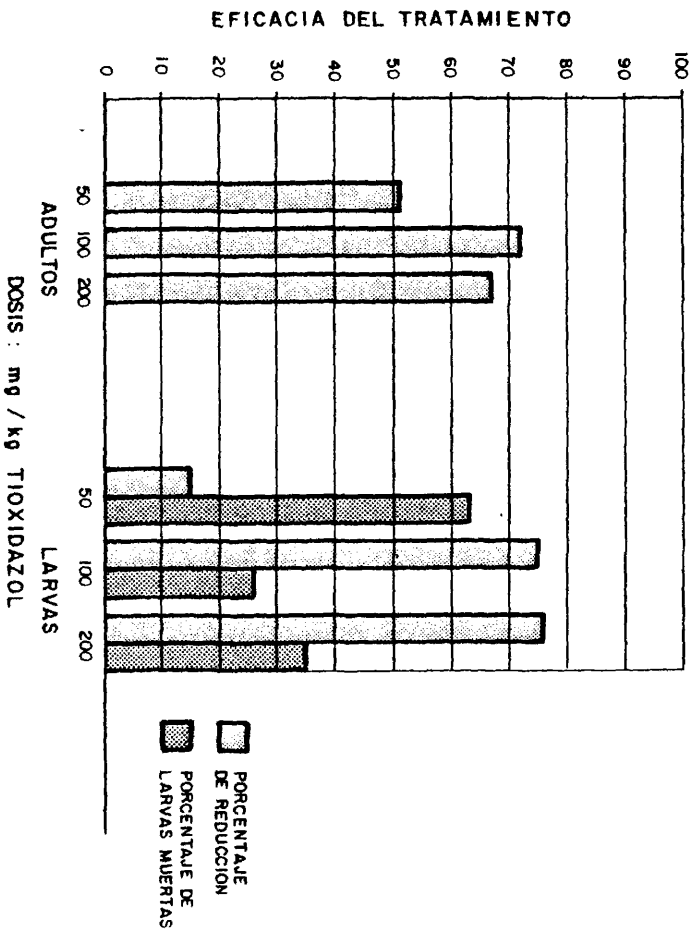


### HISTOGRAMA N° X

LARVAS ENQUISTADAS



HISTOGRAMA N.º XI  
VIABILIDAD DE LARVAS ENQUISTADAS





### 5.3.- DE LAS EXPERIENCIAS CON MEBENDAZOL

El primer grupo de experiencias con mebendazol, fué dedicado al conocer sus umbrales de actividad frente a larvas enquistadas de *T. spiralis*. Las dos primeras experiencias (tablas XXXVI y XXXVII, hig. XII), consistieron en la administración de dosis decrecientes de mebendazol a partir de 30 mg./kg. (dosis altamente eficaz según los resultados de R. CAABEIRO (1978), a ratones infestados en los días 35, 36 y 37 p.i. Estas dosis fueron de 30, 20, 10, 5 y 3 mg./kg. (fotos 34 y 35).

Los resultados obtenidos fueron 65,07% de reducción para la dosis de 30 mg./kg.; 69,04% para la de 20 mg./kg.; 71,70% para la de 10 mg./kg.; 48,84 para la de 5 mg./kg. y 26,55% para la dosis de 3 mg./kg.

En el caso de las tres primeras dosis, 30, 20 y 10 mg./kg., la totalidad de las larvas recuperadas por digestión estandar estaban muertas, frente a 1,24% de las larvas muertas obtenidas en los testigos. El resto arrojó un 5,92% de muertas para 5 mg./kg. y un 6,47% para 3 mg./kg.

Los estudios estadísticos basados en la prueba de la "t" de Student, dieron como significativas las dosis de 30, 20, 10 y 5 mg./kg al nivel de 0,01 y 3 mg./kg. rayó la significación al nivel de 0,05.

Las otras dos experiencias de este grupo (tablas XXXVIII y -- XXXIX, histog. XIII), consistieron en la determinación de la capacidad de alcanzar el estado adulto y del poder de enquistamiento de las larvas tratadas con mebendazol en las experiencias anteriores. Dado que las dosis de 30, 20 y 10 mg./kg. habían ocasionado la muerte de todas las larvas, solamente se llevaron a cabo estudios de viabilidad con las larvas procedentes de los tratamientos con 5 y 3 mg./kg.

De las larvas correspondientes al tratamiento con 5 mg./kg., solamente un 60,31% fueron capaces de alcanzar el estado adulto, de las larvas procedente de éstas, un 21% no llegó a enquistarse con un 18% de las larvas recuperadas, muertas frente a un 7,42% de muertes en contrado en los testigos correspondientes.

Para la dosis de 3 mg./kg., el 100,00% de las larvas tratadas fueron capaces de alcanzar los estados adultos y el 14% de las larvas procedente de éstas, no llegaron a enquistarse, estando un 3,84% de las larvas recuperadas muertas.

El resto de las experiencias descritas en esta tesis, tuvieron como fin el estudiar los efectos producidos por el mebendazol cuando se administraba a dosis supresivas contra larvas enquistadas de T. spiralis bajo la acción de diversos inmunomodificantes. Para todos estos estudios, la dosis de mebendazol seleccionada fué la de 30 mg./kg., en base a su total eficacia demostrada por los resultados de las experiencias anteriormente descritas, al igual que 20 y 10 mg./kg., si bien, la utilización de 30 mg./kg. nos permitía efectuar unas dosificaciones más exactas.

Primeramente, se intentó ver el efecto que una inmunosupresión con ciclofosfamida durante todo el ciclo, podría tener sobre un trata-

miento supresor con mebendazol durante la fase muscular.

Para ello se han montado dos experiencias paralelas, una consistente en una infestación normal por T. spiralis, que era tratada con mebendazol a nivel muscular y que se utilizaba como testigo de la acción inmunomodificante de la ciclofosfamida, y la otra consistía en mantener inmunosuprimidos a los animales desde tres días antes de la infestación hasta treinta días después de la misma con ciclofosfamida y luego se efectuaba el tratamiento supresivo con mebendazol a nivel muscular. En ambos casos se analizó la marcha de la infestación intestinal mediante recuento del número de adultos y células del exudado peritoneal en días alternos, hasta producirse el fenómeno de la autocuración. Los resultados obtenidos en la experiencia control (infestación normal por T. spiralis) (tablas XI y XII y gráfica n° III), ponían de manifiesto, en cuanto a la marcha de los adultos, que después de un asentamiento del 65,20%, se instauraba una meseta intestinal que venía dada por la recta de regresión  $y = -2,5500 x + 183,5500$ , de ligerísima pendiente negativa y con un coeficiente de correlación  $r = 0,2572$  que se prolongaba hasta el día séptimo p.i. en que comenzaba el fenómeno de la autocuración, manifestado por una caída brusca en el número de adultos y dada por la recta de regresión  $y = -12,7571 x + 246,1851$ , esta de fuerte pendiente negativa y con coeficiente de correlación  $r = 0,83$ . La autocuración se culminó en el día 13 p.i., caracterizada por inversión del cociente sexual (0,91) anulándose en el día 21 p.i. fecha límite de nuestras observaciones. En cuanto a la evolución de las células del exudado peritoneal (tabla XLII, gráfica n° IV), se observó un aumento progresivo a lo largo de los días que culminó en el día 15 p.i., a partir de aquí el descenso fué brusco hasta el día 19 p.i., continuándose

en una caída lenta hasta el día 28 p.i., fecha límite del ensayo. El porcentaje de linfocitos peritoneales se mantuvo entre un 30-40% a lo largo de todos los días de la observación (Gráfica VII).

Siguiendo la marcha normal de la infestación, se efectuó el tratamiento con mebendazol en los días 37, 38 y 39 p.i., a razón de 30 mg./kg. y paralelamente, de los ratones sacrificados en los días 38, 39, 40, 41, 42, 45 y 48 se obtuvieron las larvas previa digestión péptica estandar (tablas XLVIII, XLIX y L, histograma XIV y XV).

El grado de infestación muscular fué bueno a juzgar por la media de las larvas aisladas de cada grupo de ratones. La eficacia del tratamiento se determinó en los días 38, 39, 40 y 41 a partir del porcentaje de larvas muertas mejor que con el porcentaje de reducción, parámetro, que en este caso nunca resultaría significativo habida cuenta de que los fenómenos de degeneración y destrucción larvarios no se manifiestan en los primeros días del tratamiento cuando la infiltración inflamatoria es todavía periquística. Así, de las larvas recuperadas el día 38 p.i. solamente el 8,95% estaban muertas, en el día 39 p.i., se recuperó un 7,13% de muertas y ya en el día 40 (primero p.t.), se obtuvo un 98,63% de larvas muertas que se extendió al 100% a partir del 41 día p.i., con unos porcentajes de reducción del 20,55% para el día 42; 49,76% para el día 45 p.i. y 68,30% para el día 48 p.i., con relación a las larvas obtenidas en el día 38 p.i.

El estudio se completó mediante un análisis histo-patológico de cortes de masetero de animales infestados y tratados con mebendazol (tablas LI, y LII, fotos 36 á 39 ). Mediante ello, pudo evidenciarse una infiltración inflamatoria de intensidad creciente patente al tercer día p.t., alcanzándose su máximo al día noveno p.t. Su localiza-

ción en principio periquística evolucionó progresivamente a intraquística en los días sexto y noveno, en que alcanzaba su intensidad máxima

Fundamentalmente estaba compuesta por polimorfonucleares neutrófilos y eosinófilos presentes en cantidad abundante en todas las observaciones y por linfocitos, células plasmáticas e histiocitos con tendencia a un aumento progresivo en cuanto a su número.

Asimismo, estaban presentes células gigantes de cuerpo extraño en el día sexto p.t., que se incrementaban considerablemente en el día noveno p.t.

No se observaron fenómenos de calcificación.

Los quistes musculares eran abundantes con pared de grosor medio, fenómenos degenerativos en la matriz, solamente patentes en el día tercero p.t., los parásitos se mantenían íntegros en el día tercero p.t., ligeramente fragmentados en el día sexto p.t. y muy fragmentados en el día noveno p.t. Se observaron alteraciones en fibras adyacentes ya desde el primer día de observaciones.

Cuando este mismo diseño experimental fué realizado sobre animales inmunosuprimidos con ciclofosfamida, los resultados obtenidos fueron los siguientes:

En relación a la evolución de los adultos intestinales se produjo un asentamiento del 56,66% que se prolongaba en una larga meseta intestinal hasta el día 19 p.i., dada por la recta de regresión  $y = 1,5250x + 169,78$ , de pendiente ligeramente positiva y con un coeficiente de correlación de 0,54 (tablas XLIII, XLIV y XLVI, gráfica n° 5). A partir del día 19 comenzó una caída brusca definida por la recta de regresión  $y = -14,7150x + 473,1841$ , de pendiente fuertemente negativa y un coeficiente de correlación del 0,9906, empezando por tanto el período

de autocuración que se completó hacia el día 23 p.i., con inversión -- del cociente sexual (0,93), si bien pudo detectarse la presencia de - adultos en el intestino, 39,88% de los cuales un 33,85% eran machos, to- davía en el día 30 p.i., fecha en que finalizaban nuestras observacio- nes. Paralelamente, se producía una fuerte supresión de linfocitos pe- ritoneales que alcanzó sus máximos niveles entre los días 7 y 21 p.i., siendo todos ellos pequeños linfocitos, para iniciar una lenta recupe- ración que tras culminar en el día 23 p.i., descendía posteriormente. estabilizándose hacia el día 30 p.i. (tabla XLVII, gráfica n°VII). Ba- jo estas condiciones, el resto de los animales recibió 30 mg./kg. de - mebendazol en los días 37, 38 y 39 p.i.; y en los 38, 39, 40, 41, 42, - 45 y 47 p.i. se determinaba la eficacia del tratamiento mediante re- - cuento de las larvas aisladas en las sucesivas digestiones.

Pudo constatarse en primer lugar, un alto grado de infestación (del orden de las 80.000 larvas/ratón), muy superior al existente en - los animales de la experiencia control. La eficacia, cifrada en el nú- mero de larvas muertas y recuperadas no se hizo manifiesta hasta el - día 40 p.i. en que se obtuvo un 96% del total, muertas, alcanzándose - la totalidad a partir del día 41 p.i.

Asímismo, las reducciones en el número total de larvas recupe- radas durante los días 39,40 y 41 p.i. con respecto a las obtenidas en el día 38 p.i., no fueron significativas. El día 42 p.i., se obtenía - un 34,42% de reducción, 71,91% en el día 45 p.i. y 76,43% en el día 48 p.i. (tablas XLIII, XLIX, L, histogr. XIV y XV).

El examen de los cortes histológicos obtenidos a partir de los maseteros de animales tratados (tablas LI, LII, fotos 40 á 43. ) - mostraban intensa infiltración inflamatoria periquística constante, -

una ligera infiltración intraquística, patente ya en el tercer día -- p.t., de intensidad creciente en los días sucesivos sexto y noveno -- p.t. Su composición era a base de leucocitos neutrófilos y eosinófilos en cantidad discreta, con predominio de linfocitos y escasez de células plasmáticas ya desde el tercer día p.t. y con aumento progresivo de histiocitos. Las células gigantes de cuerpo extraño, aparecían en cantidad abundante ya en el sexto día p.t. con incremento posterior en el noveno día p.t. No se observaban fenómenos de calcificación en ninguno de los casos.

En cuanto al estado de los quistes musculares, pudieron observarse abundantes quistes musculares en los días tercero y sexto, que remitieron el día noveno p.t. La cápsula era de grosor medio que se mantuvo a lo largo de las tres observaciones efectuadas. Solamente aparecían fenómenos de degeneración basófila y floculosa en el día tercero p.t. El parásito permanecía íntegro el día tercero p.t., en el día sexto se observaba fragmentado y en el día noveno estaba ya muy fragmentado.

Las alteraciones observadas en fibras musculares adyacentes, eran intensas en el día tercero p.t. y menos intensas en los días sexto y noveno p.t.

Mediante el último grupo de experiencias se pretendía conocer la eficacia de la transferencia de células esplénicas y peritoneales procedentes de ratones infestados y tratados con mebendazol, sobre animales infestados inmunosuprimidos con niridazol y tratados después de la transferencia con una dosis antihelmíntica de mebendazol. La posible eficacia de dicha transferencia por las distintas vías fué evaluada en los días tercero, sexto y noveno p.t.

Los resultados obtenidos en el día tercero p.t. fueron los siguientes:

Los animales pertenecientes al grupo I, que no recibieron - - transferencia ni tratamiento con mebendazol (testigo I), presentaban - una infestación media de 39.434,00 larvas/ratón, con un 5,40% de muertas. Los animales del grupo II, testigos de la acción del mebendazol, presentaban una media de 15.387,75 larvas, con un 67,23% de muertas y 60,98% de reducción en relación al grupo I. Estas reducciones eran ampliamente significativas al nivel de 0,01.

De los ratones que constituían el grupo experimental III (receptores de células peritoneales por vía intraperitoneal y tratados - con mebendazol), se aislaron 9.468,37 larvas, el 98,24% de las mismas estaban muertas y el porcentaje de reducción con respecto al grupo I era del 75,99%, también ampliamente significativo a nivel de 0,01. El análisis de la varianza de los resultados correspondientes a los grupos II y III, arrojó una T de Student de 2,90, haciendo las diferencias significativas para una probabilidad de 0,01.

Los animales del grupo IV (receptores de células peritoneales por vía intravenosa y tratados con mebendazol), presentaban una infestación muscular de 17.996,25 larvas con un 95,00% de muertas), los del grupo V (receptores de células esplénicas por vía intraperitoneal), - 16.483,75 larvas/ratón con un 86,30% de muertas, los del grupo VI, (receptores de células esplénicas por vía intravenosa) 17.504,75 larvas, con un 80,40% de muertas. Todos estos resultados, referidos a porcentajes de reducción, eran estadísticamente diferentes del testigo I, en cambio no lo eran en relación al testigo II.

Los resultados referidos a número medio de larvas muertas, fue



ron sometidos a un nuevo ensayo de la "t" de Student para aquellos casos en que las diferencias en cuanto a número de larvas totales, no eran estadísticamente significativas.

Así, en la comparación del grupo IV, con el grupo II, se obtuvo para el estadístico, un valor de 12,02, para el grupo V en relación al grupo II, se obtuvo un valor de 6,83 y para el grupo VI en relación al grupo II, 6,75, todos ellos ampliamente significativos a un nivel 0,01.

Entre el grupo V y III, las diferencias encontradas también resultaron estadísticamente significativas ( $t=3,76$ , 0,01). La comparación entre los grupos V y VI, así como entre los grupos IV y VI, basadas en los números totales de larvas encontradas, arrojó una "t" de 0,64 y 0,15, no significativas. Cuando la comparación fué referida a número de larvas muertas se obtuvieron unas "t" de 6,15 y 2,70, respectivamente, significativas a un nivel de 0,01.

Todos estos resultados aparecen resumidos en las tablas LIII, LVI y LVIII, así como en el histograma XVI.

En el día sexto p.t., la infestación muscular media para el grupo I, testigo de la infestación, era de 41.294,37 larvas/ratón, con un 4,50% de las mismas muertas.

El grupo II, testigo de la acción del mebendazol, presentaba una infestación muscular de 11.847,75, es decir, 3.540,00 larvas menos que en el día tercero p.t., aunque la infestación en los testigos era mayor (41.294,37, frente a 39.434,00 en el día tercero p.t.), con un 77% de larvas muertas y 60,98% de reducción respecto al grupo experimental I. Estos resultados diferían estadísticamente ( $t=20,00$ ), de los obtenidos para el grupo I al nivel de 0,01.

Del grupo III, se aislaron 13.383,75 larvas/ratón (3.915 larvas más que en el día tercero p.t.), de las cuales, el 97,30% estaban muertas con una reducción en el número total de larvas del 67,59%.

La comparación de estos resultados con los obtenidos del grupo experimental II, por medio de la "t" de Student, estableció unas diferencias ampliamente significativas entre ambos con un margen de confianza del 99%.

El grupo experimental IV, presentaba una infestación media de 14.493,50 larvas/ratón, 100 muertas y 64,91% de reducción, la cual no resultó estadísticamente diferente ( $t=2,13$ ) al nivel de 0,01 del grupo II.

El grupo V presentaba una infestación media de 7.321,00 larvas ratón (9.162 menos que el día tercero) 100% muertas y 82,28% de reducción, lo cual resultó estadísticamente diferente del grupo II, con un margen de confianza del 99%.

Del grupo VI se aislaron 12.578,37 larvas (5.000 menos que en el día tercero p.t.), con un 100% de muertas y 69,54% de reducción, que no resultó estadísticamente diferente del grupo II ( $t=0,45$   $p>0,05$ ).

Las comparaciones efectuadas mediante la "t" de Student, aplicada al número medio de larvas muertas para aquellos grupos que no resultaban estadísticamente diferentes del grupo II, en cuanto al número total de larvas encontradas en los mismos, establecían diferencia significativas entre los grupos II y III; II y IV; II y VI, con una "F" de 3,92, 4,51 y 3,87 respectivamente, a un nivel de 0,01.

En cuanto a las vías de administración, la comparación no resultó diferente desde el punto de vista estadístico, tanto en lo que se refería a larvas totales como a larvas muertas.

El grupo V resultó estadísticamente diferente del grupo III (t=4,74), así como del grupo VI (t=3,21), ambos para  $p < 0,01$ .

Los grupos VI y IV no resultaron diferentes desde el punto de vista estadístico en ninguna de las comparaciones efectuadas.

Estos resultados descritos aparecen resumidos en las tablas LIV, LVI, LIX, e histograma n°XVII.

En el día noveno p.t., los animales pertenecientes al grupo experimental I, presentaban una infestación media muscular de 40.397,25 larvas/ratón, con un 6,25% de las mismas, muertas. De los ratones que constituían el grupo II, se aislaron 8.137,71 larvas, con un 98,00% de muertas y 79,86% de reducción, resultados estadísticamente diferentes de los del grupo I. (t.=22,91  $p < 0,01$ ).

Del resto de los grupos que constituían esta experiencia, solamente el tercero resultó diferente del grupo II (testigo de la acción del mebendazol) en relación al porcentaje de reducción 87,18%, aunque no en cuanto al % de larvas muertas (100% frente al 98,00%, en el caso del grupo II. (tablas LV, LVI y LIX, e histograma n°XVIII).

En cuanto a los dos tipos de células transferidas, solamente resultó estadísticamente diferente la administración de peritoneo por vía intraperitoneal, frente a bazo por la misma vía (t=2,66  $p < 0,01$ ), resultando más eficaz la primera y en cuanto a las vías de administración utilizadas, las células peritoneales por vía i.p., resultaron más eficaces que por vía i.v., siendo esta eficacia estadísticamente significativa (t=3,56  $p < 0,01$ ) (tabla LX).

A lo largo de los tres días de observación, las comparaciones efectuadas mediante el análisis de la varianza entre los diferentes grupos experimentales y el grupo I (control de la infestación), arroja

ban diferencias ampliamente significativas (tablas LVIII, LIX y LX). -  
Por el contrario, las comparaciones efectuadas entre los controles de  
los diversos grupos experimentales y el grupo I no establecieron dife--  
rencias significativas en ninguno de los casos (tabla LVII).

Los estudios histo- patológicos efectuados sobre cortes histo  
lógicos de los maseteros procedentes de los ratones que constituían -  
los distintos grupos experimentales, arrojaron los resultados siguien-  
tes:

Los animales del grupo I (testigos de la infestación inmunosu-  
presión durante todo el ciclo) (foto. núm. 42 ), presentaban un in--  
filtrado inflamatorio muy escaso, de localización periquística y com--  
puesto fundamentalmente por neutrófilos, con escasos eosinófilos y ba-  
sófilos. Los quistes musculares presentaban una cápsula fina, no apa-  
recían fenómenos de degeneración en la matriz quística y el parásito -  
permanecía íntegro, ausencia de nucleos en las fibras parasitadas y no  
existían alteraciones manifiestas en las fibras musculares adyacentes.

Los animales pertenecientes al grupo experimental II (testigos  
de la acción del mebendazol) (fotos 45, 46 y 47), presentaban en el -  
tercer día p.t., una escasa infiltración inflamatoria periquística, -  
que no evolucionó en los siguientes días (sexto y noveno p.t.). Su com  
posición era a base de neutrófilos en mayor proporción, seguido de los  
eosinófilos que aparecían en menor cantidad a partir del sexto día - -  
p.t., escasa cantidad de linfocitos y células plasmáticas.

El resto de los componentes de un infiltrado normal estaban -  
aquí ausentes y solamente aparecían esporádicas células gigantes en el  
día noveno p.t., en algunas de las muestras examinadas.

Los quistes musculares abundantes, de pared fina, presentaban

fenómenos de degeneración basófila y floculosa en el interior de la matriz quística, ya en el tercer día p.t. que se intensificaban en el día sexto para disminuir bruscamente, siendo escasa su presencia en el día noveno p.t. en que se observaba clara fragmentación larvaria.

En cuanto al número de núcleos en las fibras musculares parasitadas, estos eran escasos en el día tercero p.t., se incrementaban en el día sexto p.t. y descendían otra vez en el día noveno p.t.

No se observaban alteraciones manifiestas en las fibras musculares adyacentes a las parasitadas.

Por dificultades de tipo técnico, solamente se pudieron analizar los cortes procedentes de los grupos III y V, es decir, aquellos que recibieron células esplénicas y peritoneales por vía intraperitoneal.

Los resultados obtenidos en cuanto a la localización y composición del infiltrado inflamatorio, no diferían significativamente de los que procedían del grupo experimental III y en este sentido solamente cabe señalar un discreto aumento de linfocitos y células plasmáticas en ambos grupos a partir del día sexto p.t. (fotos núms. 48 á 51) e inflamación intraquística al día noveno p.t. En cuanto al estado de los quistes musculares, solamente se observaba, en el tercer día p.t. mayor degeneración basófila y floculosa en el grupo IV y menor en el grupo V que en el grupo III.

Todos estos resultados aparecen resumidos en las tablas LXI y LXII.

TABLA - XXXVI (Exp. 4.3.1.1.)

Resultados obtenidos en número de larvas/ratón, en la determinación de la dosis mínima eficaz de mebendazol frente a larvas enquistadas de T. spiralis.

	CONTROL	TRATADOS		
		30mg/kg.	20mg/kg.	10mg/kg.
	24642	8325	12850	9990
	63819	14995	9880	8991
	25308	13334	8580	6930
	30636	15984	7992	7920
	36660	8914	9324	9324
	26973	11665	15992	9570
	44642	15328	10984	9570
	22311	6666	10655	12437
	34482	14432	12650	14820
	42324	13234	10000	10000
Media(ES)	35170(+) (4193,81)	12287,70 (1085,60)	10890,70 ( 790,50)	9955,20 (742,00)
Eficacia del tratamiento	( % de reduc-- ( ción. ( ( % de larvas ( muertas.	65,07  100	69,04  100	71,70  100
T de Student		5,56	5,99	6,24
Significación		p<0,01	p<0,01	p<0,01

(+)1,24% muertas.

TABLA - XXXVII (Exp. 4.3.1.2.)

Resultados obtenidos, en número de larvas/ratón, en la de terminación de la dosis mínima eficaz de mebendazol frente a larvas enquistadas de T. spiralis

	CONTROL	TRATADOS	
		5 mg/kg.	3 mg/kg.
	63936	15661	20152
	21312	22644	51615
	71262	16761	24651
	75924	34632	51282
	41292	43956	37600
	51615	45954	20650
	65268	17538	65420
	67932	21978	56444
	50949	24642	50951
	61938	48628	40964
Media(ES)	57142,80 (5452,60) (+)	29234,40 (4297,96)	41972,90 (5042,33)
Eficacia del tratamiento	( % de larvas muertas ( % reducción.	5,92 48,84	6,47 26,55
t de student		4,23	1,68
Significación		p < 0,01	p < 0,05

(+)5,37 % muertas.

TABLA - XXXVIII (Exp. 4.3.2.1.)

Resultados obtenidos, en número de adultos/ratón, del poder de infestabilidad de las larvas recuperadas a los cinco días del tratamiento efectuado con mebendazol a fin de determinar su eficacia mínima contra larvas enquistadas de T. spiralis.

	CONTROL	TRATADOS	
		5 mg/kg.	3 mg/kg.
	106	94	176
	180	80	186
	164	77	113
	174	73	193
	192	140	134
	188	103	230
	157	140	177
	156	80	150
	150	127	200
	235	119	167
Media(ES)	170,20 (11,13)	103,80 (8,80)	172,60 (12,78)
Eficacia del tratamiento		39,31	00,00
T de Student		9,87	
Significación		p<0,01	



TABLA - XXXIX (Exp. 4.3.2.2.)

Resultados obtenidos, en número de larvas/ratón, del poder de infestabilidad de las larvas recuperadas a los cinco días del tratamiento efectuado con mebendazol, a fin de determinar su eficacia mínima contra larvas enquistadas de *T. spiralis*.

CONTROL	TRATADOS		
	5 mg/kg.	3 mg/kg.	
53583	11488	21645	
24485	23809	19480	
38148	4662	22644	
35298	20979	22644	
43486	28638	20479	
49823	83799	23976	
35298	14985	14985	
22560	23476	16650	
22184	18814	19480	
22453	16650	19470	
Media(ES)	(+)34711,80(3897,50)	19729,40 (2801,41)	20145,30 (925,99)
Eficacia del tratamiento	(% de reducción (% de larvas muertas)	21 18,00	19 14,00
T de Student	3,29	3,84	
Significación	p < 0,01	p < 0,01	

(+): 7,42 % muertas.

TABLA - XL (Exp. 4.4.1.1.)

Evolución del número total de adultos/ratón, asentados en el intestino de ratones previamente infectados con 300 larvas de *T. spiralis*, testigo de la experiencia inmunosupresora con ciclofosfá mida.

Días p.i.	3°	5°	7°	9°	11°	13°	15°	17°	21°
ANIMALES									
1	270	115	85	150	130	0	65	70	0
2	200	180	135	180	40	135	15	0	0
3	140	215	115	240	20	70	5	0	0
4	185	180	110	185	50	160	15	80	35
5	140	175	255	155	115	5	20	0	0
6	255	205	150	170	55	30	0	45	10
7	140	100	90	200	35	100	0	0	10
8	235	255	-	185	110	165	0	0	4
Media±(ES)	195,62 + 20,25	178,12 + 19,25	130,00 + 19,50	182,50 + 10,71	69,37 + 15,98	83,12 + 25,44	15,00 + 8,22	24,37 + 13,25	7,37 + 4,54

t entre los días 3° y 9° p.i., no estadísticamente significativa para  $p < 0,05$

TABLA - XLI (Exp. 4.4.1.1.)

Evolución del número total de adultos machos/ratón, asentados en el intestino de ratones previamente infestados con 300 larvas de T. spiralis. Testigo de la experiencia inmunosupresora con clorofosfamida.

Días p. i.	3°	5°	7°	9°	11°	13°	15°	17°	21°
ANIMALES									
1	75	35	25	65	35	0	55	65	0
2	80	75	50	55	25	50	15	0	0
3	65	90	60	90	20	50	5	0	0
4	65	55	55	65	25	70	10	75	35
5	50	60	90	40	25	5	20	0	0
6	70	90	85	45	15	20	0	45	10
7	55	40	35	90	20	80	0	0	10
8	100	70	-	65	45	60	0	0	4
Media±(ES)	70,00 ±	64,37 ±	57,14 ±	64,37 ±	26,25 ±	41,87 ±	13,12 ±	23,12 ±	7,37 ±
n° hembras	5,90	7,87	9,81	6,97	3,61	11,33	7,00	12,47	4,54
R. sexual = $\frac{n° \text{ hembras}}{n° \text{ machos}}$	1,79	1,76	1,27	1,83	1,64	0,98	0,14	0,05	0

142

TABLA-XLII (exp. 4.4.1.1.)

Evolución del número total de células peritoneales/ratón, en animales infestados con *T. spiralis* testigo de la experiencia inmunosupresora con ciclofosfamida.

Días p.i. ANIMALES	3°	5°	7°	9°	11°	13°	15°	17°	19°	21°	23°	28°
1	9	11	24	101	96	74	191	104	120	130	60	52
2	35	31	70	63	62	-	180	158	110	140	75	60
3	35	14	36	94	136	184	268	246	100	100	160	137
4	23	20	60	52	85	130	327	214	98	98	100	97
5	26	20	74	79	124	73	302	80	200	200	164	62
6	27	13	36	62	85	43	231	125	86	86	100	160
7	14	25	36	84	94	163	72	186	104	110	145	140
8	-	29	70	39	91	123	60	154	112	115	-	-
Media± (ES)	24.14 ±	20.37 ±	50.57 ±	72.37 ±	96.92 ±	112.85 ±	203.87 ±	158.37 ±	116.25 ±	123.37 ±	114.85 ±	101.14 ±
	4.03	2.83	7.48	4.55	8.83	21.13	37.45	21.12	13.39	13.59	4.93	18.26
ZLINFOCITOS	44,28	36,66	33,70	48,42	38,40	33,02	24,13	30,00	36,04	35,20	42,70	40,50

TABLA - XLIII (Exp. 4.4.2.1.1.)

Evolución del número total de adultos/ratón, asentados en el intestino de ratones infestados con T. spiralis y sometidos a la acción inmunosupresora de la ciclofosfamida.

Días p.i.	3°	5°	7°	9°	11°	13°	15°
ANIMALES							
1	205	285	190	125	135	125	205
2	210	155	150	210	165	185	215
3	160	180	115	180	150	195	280
4	160	145	163	170	145	230	115
5	120	215	130	150	260	165	225
6	200	170	190	220	185	200	225
7	165	190	125	250	170	225	195
8	225	215	220	165	152	220	197
Media	180.62	194.37	160.37	183.75	170.25	193.12	207.12
±	±	±	±	±	±	±	±
(ES)	13.25	16.85	14.06	15.37	13.16	13.31	17.38

T entre los días 3° y 19° p.i., no estadísticamente significativa para  $p < 0,05$

TABLA - XLIV (Exp. 4.4.2.1.)

Evolución del número total de adultos/ratón, asentados en el intestino de ratones infestados con T. spiralis y sometidos a la acción inmunosupresora de la ciclofosfamida (2a. parte).

Días p. i.	17°	19°	21°	23°	26°	28°	30°
ANIMALES							
1	130	250	210	95	50	60	60
2	200	260	110	60	75	60	30
3	235	200	180	195	55	65	25
4	190	145	115	205	170	60	40
5	145	180	130	125	110	-	45
6	145	230	160	80	120	55	48
7	235	170	160	180	60	50	27
8	182	-	-	-	-	40	-
Media	182.75	205.00	152.14	134.28	91.42	55.71	39.28
±	±	±	±	±	±	±	±
(ES)	15.31	17.66	14.86	24.17	18.04	3.43	5.32

195

TABLA - XLV (Exp. 4.4.2.1.)

Evolución del número total de adultos machos/ratón, asentados en el intestino de ratones infestados con T. spiralis y sometidos a la acción inmunosupresora de la ciclofosfamida.

Días P.T.	3°	5°	7°	9°	11°	13°	15°
ANIMALES							
1	85	95	85	55	65	50	60
2	75	65	40	80	60	60	80
3	85	50	65	70	65	60	125
4	55	70	80	50	55	90	45
5	55	65	55	105	105	55	100
6	70	55	85	60	85	60	70
7	60	25	60	60	85	90	60
8	45	60	90	50	70	95	70
Media	66.25	60.62	70.00	66.25	73.75	70.00	76.26
±		±	±	±	±	±	±
(ES)	5.61	7.46	6.71	7.00	5.54	6.94	9.64
R. sexual	1.72	2.20	1.29	1.77	1.30	1.75	1.71

TABLA - XLVI (Exp. 4.4.2.1.1.)

Evolución del número total de adultos machos/ratón, asentados en el intestino de ratones infestados con *T. spiralis* y sometidos a la acción inmunosupresora de la ciclofosfamida.

Días p.i.	17°	19°	21°	23°	26°	28°	30°
ANIMALES							
1	45	95	70	45	50	50	60
2	75	120	20	55	60	55	25
3	100	90	35	70	40	55	20
4	85	55	45	100	70	60	40
5	65	80	50	70	70	40	35
6	35	85	60	75	70	50	35
7	125	70	60	70	60	35	25
8	75	-	-	-	-	-	-
Media	75.62	85.00	48.57	69.28	60.00	49.28	33.85
+ (ES)	10.92	8.36	6.97	7.04	4.73	3.63	5.63
R. sexual	1.41	1.41	2.13	0.93	0.52	0.13	0.16

197



TABLA - XLVII (Exp. 4.4.2.1.)

Evolución del número de células totales del exudado peritoneal/ratón, en animales infestados con *T. spiralis* e inmunosuprimidos con ciclofosfamida a razón de 150 mg./kg.

Días p.i.	3°	5°	7°	9°	11°	13°	15°	17°	19°	21°	23°	26°	28°	30°
N° DE CELULAS X 10														
ANIMALES														
1	14	10	4	3	3	4	2	7	7	26	19	34	7	41
2	14	18	7	2	4	4	11	20	3	8	12	39	40	25
3	22	7	3	3	5	4	10	27	38	15	53	32	14	12
4	21	7	7	2	6	3	13	20	24	12	48	16	13	10
5	20	6	6	7	7	25	8	6	57	39	48	19	25	23
6	16	9	3	6	10	18	25	10	13	24	66	26	24	37
7	12	12	7	5	9	4	13	14	30	12	52	45	27	25
8	21	5	4	6	4	2	9	18	20	30	-	-	-	-
Media	17.50	9.25	5.12	4.25	6.00	8.00	11.37	15.25	24.00	20.75	42.57	30.14	21.42	24.71
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
(ES)	1.48	1.59	0.68	0.74	0.94	3.24	2.47	2.76	6.69	4.06	7.40	3.96	4.17	4.36
% LINFOCITOS	10.40	15.13	6.04	5.02	5.06	4.83	6.40	6.50	3.25	9.32	19.50	15.30	20.13	14.00

TABLA - XLVIII (Exp. 4.4.3.1 y 4.4.4.1.)

Efectos del mebendazol contra larvas enquistadas de T. spiralis, en animales sometidos a la -- acción de la ciclofosfamida durante la fase intestinal de la infestación. Resultados expresados en número de larvas/ratón correspondientes a los días 38, 39 y 40 p.i.

Días p.i.	38 p.i.		39 p.i.	
	Mebendazol (Testigo)	Mebendazol + Ciclofosfamida	Mebendazol (Testigo)	Mebendazol + Ciclofosfamida
	68598	105934	62937	54279
	68598	93906	56610	66933
	39427	77872	54279	69930
	55944	73160	55278	79920
	36630	89164	51282	93240
	52614	63190	53280	87246
	53964	99204	49284	88245
	43679	75402	48302	89432
Media ± ES	52.431,75 ±	84.716,50 ±	53.906 ±	78.653,12 ±
% de larvas muertas.	4603,80	5523,84	1753,76	5163,33
T de Student	8,90	10,20	7,13	12,30
Significación	p<0,01	4,81	p<0,01	4,85

TABLA - XLIX (Exp. 44.3.1 y 4.4.4.1)

Efectos del mebendazol contra larvas enquistadas de T. spiralis, en animales sometidos a la acción de la ciclofosfamida durante la fase intestinal de la infestación. Resultados expresados en números de larvas/ratón correspondientes a los días 38, 39 y 40 p.i.

Días p.i.	40. p.i.		41 p.i.	
Tratamiento	Mebendazol (Testigo)	Mebendazol y Ciclofosfamida	Mebendazol (Testigo)	Ciclofosfamida + Ciclofosfamida
	43956	83250	54945	79920
	45288	69930	43956	81200
	54279	66600	56610	86580
	40293	79920	51615	83250
	48618	93240	39960	91242
	45288	86580	43290	66600
	49950	85240	47286	83250
	51320	80681	48410	78588
Media $\pm$ ES	47.374,00 $\pm$	80.681,12 $\pm$	48.259,00 $\pm$	81.347,14 $\pm$
% de larvas muertas	1704,80	3307,25	2202,75	3031,70
t de Student	96,95	98,63	100	100
Significación	9.58	p < 0,01	9.09	p < 0,01

TABLA - L (Exp. 4.4.3.1. y 4.4.4.1)

Efectos del mebendazol contra larvas enquistadas de *T. spiralis*, en animales sometidos a la acción de la ciclofosfamida durante la fase intestinal de la infestación. Resultados expresados en número de larvas/ratón correspondientes a los días 42, 45 y 48 p.i.

Días p.i.	Día 42 p.i.	Día 45 p.i.	Día 48 p.i.
Tratamiento	Mebendazol + (Testigo) Ciclofosfamida	Mebendazol + (Testigo) Ciclofosfamida	Mebendazol + (Testigo) Ciclofosfamida
	41520	32964	24642
	27639	55243	25308
	36297	37296	27306
	39294	65934	12654
	36630	78921	32634
	64269	59607	12987
	53280	61272	41292
	34632	53280	24975
Media ± ES	41659,00 + 4415,00	55565,00 + 3713,90	26344,75 + 5633,90
		23800,75	2370,88
		16623,87	1067,08
% de larvas muertas	99,54	100	100
% reducción respecto al día 38 p.i.	20,55 %	34,42 %	49,76 %
t de Student	5,50	71,91 %	68,30 %
Significación	p<0,01	p<0,01	p<0,01

2,72

p<0,05

p<0,01

p<0,01

p<0,01

TABLA - LI (Exp. 4.4.3.1. y 4.4.4.1.)

Estudio de la respuesta inflamatoria subsiguiente a un tratamiento supresivo con mebendazol solo y con mebendazol bajo los efectos de la ciclofosfamida contra larvas enquistadas de T. spiralis en ratón.

		INFILTRACION INFLAMATORIA									
DIAS P.I.	MEBENDA	INTEN-	LOCALIZACION	COMPOSICION							
		SIDAD	Peri - Intra- quisti_ quisti_ cas.	Inters- ticial.	Neutro filos.	Eosino filos.	Linfo citos maticas.	Cel.Plas citos.	Histio gantes	Cel.Gi caciones	
3°	MEBENDA	++	++++	0	+	+++	+++	+++	+	0	0
6°	ZOL SO-	+++	++++	++	+	+++	+++	+++	++	+	0
9°	LO.	++++	+++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
3°	MEBENDA	+++	++++	+	+	+++	+	+++	+	0	0
6°	ZOL Y -	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
9°	CICLO-	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
	FOSFAMIDA.										

Alteraciones musculares subsiguientes a un tratamiento supresivo con mebendazol solo y con mebendazol en presencia de ciclofosfamida contra larvas enquistadas de T. spiralis en ratón

QUISTES

	DIA	P.T.	Número	Grosor	Degenera	Degenera	N°Núcleos	Estado	Alteraciones en
				Cápsu-	ción Ba-	ción Flo		Parási	fibras adyacen-
				la.	sófila	culosa.		to.	tes.
MEBENDAZOL SOLO	3°	++++	++	++	++	++	+++	Integro	+++
	6°	+++	++	-	-	-	-	Frag. +	++
	9°	+++	++	-	-	-	-	Frag. +++	+++
MEBENDAZOL Y CICLOFOS FAMIDA.	3°	++++	++	++	++	++	++	Integro	+++
	6°	++++	++	-	-	-	-	Frag. +	++
	9°	++	++	-	-	-	-	Frag. +++	++

TABLA - LIII (exp. 4.4.5.1.)

Resultados, expresados en número de larvas/ratón, del tratamiento efectuado con mebendazol frente a larvas enquistadas de *T. spiralis*, en animales que habiendo sido inmunosuprimidos con niridazol, recibieron dos días después del tratamiento, células esplénicas y peritoneales de donantes sensibilizados. Día tercero p.t.

	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	GRUPO IV	GRUPO V	GRUPO VI
	43290	10656	16983	20313	15318	16444
	46620	14319	7326	13653	13653	13721
	39960	21978	4995	27306	15651	18316
	49617	10656	8991	20313	17316	15980
	33300	14319	14985	6993	13653	23310
	32634	18648	9323	16317	15984	17440
	35621	15984	5661	11655	23310	20385
	34420	16542	7482	17420	16985	14442
Media	39434,00	15387,75	9468,37	17996,25	16483,75	17504,75
+		+	+	+	+	+
ES		2456,20	1445,57	1634,33	2330,80	1199,62
% de l. muertas	5,48	67,23	98,24	95,00	86,30	80,40
% de reducción frente al grupo I		60,98	75,99	54,37	58,20	55,62
Grupo I .-	Animales que no recibieron células ni tratamiento alguno.					
Grupo II .-	Animales que no recibieron células, pero sí tratamiento supresivo con mebendazol.					
Grupo III .-	Animales receptores de células peritoneales por vía i.p. y tratados con mebendazol.					
Grupo IV .-	" " " " " " " " " " " "					
Grupo V .-	" " " " " " " " " " " "					
Grupo VI .-	" " " " " " " " " " " "					

TABLA - LIV (Exp. 4.4.5.1.)

Resultados, expresados en número de larvas/ratón, al sexto día después del tratamiento efectuado con mebendazol frente a larvas enquistadas de *T. spiralis*, en animales inmunosuprimidos con niritazol y estimulados, dos días antes del tratamiento, con células esplénicas y peritoneales de donantes sensibilizados.

	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	GRUPO IV	GRUPO V	GRUPO VI
	40290	10248	12540	20250	6342	10435
	42340	12324	12650	15450	10820	12364
	49520	11732	18750	13330	5340	15420
	39243	10742	10345	16330	7334	7840
	41734	15990	10755	14240	9990	7638
	37234	9990	13650	13450	5661	12240
	39439	11324	16930	10350	5661	14750
	40200	12432	11450	12540	7420	19940
Media±ES	41249,37	11847,75	13383,75	14493,50	7321,00	12578,37
	±	±	±	±	±	±
	1398,30	1909,10	1128,90	1109,60	779,82	1559,10
% de l. muertas.	4,50	97,30	97,90	100,00	100,00	100,00
% de reducción frente a grupo I.		71,31	67,59	64,91	82,28	69,54

Grupo I.- Animales que no recibieron células ni tratamiento.  
 Grupo II.- " " " pero si tratamiento supresivo con mebendazol  
 Grupo III.- " receptores de células peritoneales por vía i.p. y tratados con mebendazol.  
 Grupo IV.- " " " por vía i.v.  
 Grupo V.- " " " esplénicas por vía i.p.  
 Grupo VI.- " " " " " por vía i.v.





TABLA LVI (Exp. 4.4.5.1.)

Cuadro resumen relativo a la eficacia del mebendazol, expresada en número de larvas/ratón, en animales infestados con *T. spiralis*, inmunosuprimidos con niridazol y estimulados posteriormente con células esplénicas y peritoneales procedentes de animales sensibilizados.

Días p.c.	Media ± ES	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V	Grupo VI
3°	Media ± ES	39434,00	15387,75±	9468,37±	17996,25±	16483,75±	17504,75±
	% l. muertas	2456,00	1445,57	1634,33	2330,80	1155,55	1199,62
	% reducción	5,48	67,23	98,24	95,00	86,30	80,40
		-	60,98	75,99	54,37	58,20	55,62
6°	Media ± ES	41294,37±	11847,75±	13383,75±	14493,50±	7321,00±	12578,37±
	% l. muertas	1398,30	1909,10	1128,90	1109,60	779,82	1559,10
	% reducción	4,50	77,00	97,30	97,90	100	100
		-	71,37	67,59	64,91	82,28	69,54
9°	Media ± ES	40397,25±	8137,71±	5182,12±	8865,50±	8175,75±	7317,50±
	% l. muertas	1257,50	830,50	554,10	961,00	1069,00	978,50
	% reducción	6,25	98,00	100	100	98,90	99,10
		-	79,86	87,18	78,06	79,77	81,89

Grupo I .- Animales sin tratamiento y sin estimulación.  
 Grupo II .- " con tratamiento " "  
 Grupo III .- " estimulados (receptores de células peritoneales por vía i.p. y -  
 tratados con mebendazol.  
 Grupo IV .- Receptores de células peritoneales por vía i.v. y tratados con mebendazol  
 Grupo V .- " " " " " "  
 Grupo VI .- " " " " " "

TABLA LVII (Exp. 4.4.5.1.)

Resumen del estudio estadístico efectuado sobre los grupos controles utilizados en la experiencia 4.4.5.1., en relación al Grupo Experimental I.

Días p.t.	Grupo I	Control Grupo III	Control Grupo IV	Control Grupo V	Control Grupo VI
3°	Mediat <sub>ES</sub> 39434,00 + 2456,20 5,48	38853,62 + 1383,38 5,00 1,48 0,42 NS	41733,33 + 1869,40 4,75 0,00 1,55 NS	39604,20 + 2378,40 5,50 0,00 0,10 NS	41642,78 + 2894,30 4,65 0,00 1,24 NS
6°	Mediat <sub>ES</sub> 41249,37 + 1398,30 4,50	40172,12 + 2978,40 4,20 2,60 0,68 NS	41642,20 + 1634,20 4,62 0,00 0,37 NS	39904,12 + 1342,12 4,80 3,72 1,45 NS	40604,20 + 832,40 4,04 1,57 0,81 NS
9°	Mediat <sub>ES</sub> 40397,25 + 1257,50 6,25	40323,37 + 2032,13 6,00 0,19 0,06 NS	40313,12 + 1842,30 5,80 0,00 0,09 NS	41742,00 + 2840,37 5,00 0,00 0,26 NS	40713,23 + 998,23 6,14 0,00 0,40 NS

NS.- No significativo.

TABLA - LVIII (Exp. 4.4.5.1.)

Estudio comparativo, mediante la t de Student de los diferentes lotes de animales utilizados en la experiencia 4.4.5.1. Datos correspondientes al tercer día p.t.

	I	III	IV	V	VI
I		10,87 p<0,01	7,16 p<0,01	9,04 p<0,01	8,59 p < 0,01
II	9,03 p < 0,01	2,90 p<0,01	0,35 p>0,05 *12,02 p<0,01	0,64 p>0,05 *6,38 p<0,01	1,19 P > 0,05 *6,75 p < 0,01
III			*2,72 p<0,01		
V		3,76 p<0,01			0,64 p > 0,05 *6,15 p < 0,01
VI			0,15 p>0,05 *2,70 p<0,01		

\* Valores de T aplicados al número medio de larvas muertas para - - aquellos casos en que los porcentajes de reducción no resultaron estadísticamente significativos.

TABLA - LIX (Exp. 4.4.5.1.)

Estudio comparativo, mediante la T de Student, de los diferentes lotes de animales utilizados en la experiencia 4.4.5.1. Datos correspondientes al sexto día p.t.

	I	III	IV	V	VI
I		16,61 p<0,01	16,06 p<0,01	22,69 p<0,01	14,65 p<0,01
II	20,00 p<0,01	1,21 p>0,05	2,13 p<0,05	4,50 p<0,01	0,45 p>0,05
		*3,92 p<0,01	*4,51 p<0,01		*3,87 p<0,01
III			0,75 p>0,05 *0,41 p>0,05		
V		4,74 p<0,01			3,21 p<0,01
VI			1,40 p>0,05 *1,33 p>0,05		

\* Valores de T aplicados al número medio de larvas muertas para - aquellos casos en que los porcentajes de reducción no resultaron estadísticamente significativos.

TABLA - LX (Exp. 4.4.5.1.)

Estudio comparativo, basado en la T de Student, de los diferentes lotes de animales utilizados en la experiencia 4.4.5.1. Datos correspondientes al noveno día p.t.

	I	III	IV	V	VI
I		25,65 p < 0,01	21,33 p < 0,01	20,90 p < 0,01	22,22 p < 0,01
II	22,91 p < 0,01	3,19 p < 0,01	0,60 p > 0,05 *1,05 p > 0,05	0,01 p > 0,05 *0,12 p > 0,05	0,68 p > 0,05 *0,89 p > 0,05
III			3,56 p < 0,01		
V		2,66 p > 0,01			0,72 p > 0,05 *0,37 p > 0,05
VI			1,20 p > 0,05 *2,35 p < 0,05		

\*Valores de T aplicados al número medio de larvas muertas para - aquellos casos en que los porcentajes de reducción no resultaron estadísticamente significativos.

TABLA - LXI (Exp. 4.4.5.1)

Análisis de la respuesta inflamatoria subsiguiente a un tratamiento supresivo con mebendazol, en ratones infestados con *T. spiralis*, inmunosuprimidos con niridazol y estimulados posteriormente con las células esplénicas y peritoneales procedentes de ratones sensibilizados.

INFILTRACION INFLAMATORIA

	DIAS P.T.	INTENSIDAD	LOCALIZACION		COMPOSICION							
			Peri-quisti ca.	Intra-quisti ca.	Inters-ticial.	Neutro fil.	Eosino fil.	Plas. citos.	Histo. gantes.	Calcifi. caciones.		
TESTIGO I	3°	+	++++	-	-	++	+	-	-	-	-	-
TESTIGO II.	3°	++	++++	-	+++	++++	++	+	-	-	-	-
	6°	++	++++	-	-	+++	+	-	-	-	-	-
	9°	++	++++	-	+	+++	+	+	-	-	+	-
GRUPO III TRANSFERENCIA PEÑITONEO VIA I.P.	3°	++	++++	-	+	+++	++	+	-	-	-	-
	6°	++	++++	-	-	+++	+	+++	+	-	-	-
	9°	++	++++	++	+	+++	++	++	+	+	+	-
GRUPO V TRANSFERENCIA BAZO VIA I.P.	3°	++	++++	-	+	+++	++	+	-	-	-	-
	6°	++	++++	-	++	++	+	++	+	-	-	-
	9°	+	++++	++	+	++	+	++	++	++	++	-

212

Alteraciones musculares subsiguientes a un tratamiento supresivo con mebendazol, en ratones - infestados con *T. spiralis*, inmunosuprimidos con niridazol y estimulados posteriormente con las células esplénicas y peritoneales procedentes de ratones estimulados.

QUISTES

	DIA P.T.	Número	Grosor Cápsula.	Degeneración Bafila.	Degeneración Bafiloculosa	Nº Núcleos	Estado Parasitario.	Alteraciones en fibras adyacentes.
TESTIGO I	3°	+	+	-	-	-	Integro	-
TESTIGO II	3°	+++	+	++	++	+	Integro	-
	6°	+++	+	+++	+++	++	Integro	-
	9°	++	+	++	++	++	Frag+	-
TRANSFERENCIA DE PERITONEO VIA I.P. GRUPO III.	3°	++	++	+++	+++	+	Integro	-
	6°	++	++	-	-	-	Integro	-
	9°	+++	++	-	-	-	Frag.+	-
TRANSFERENCIA DE BAZO VIA I.P. GRUPO V.	3°	+++	++	+	+	-	Integro	-
	6°	++	+	-	-	-	Integro	-
	9°	+++	++	-	-	-	Frag.+	-

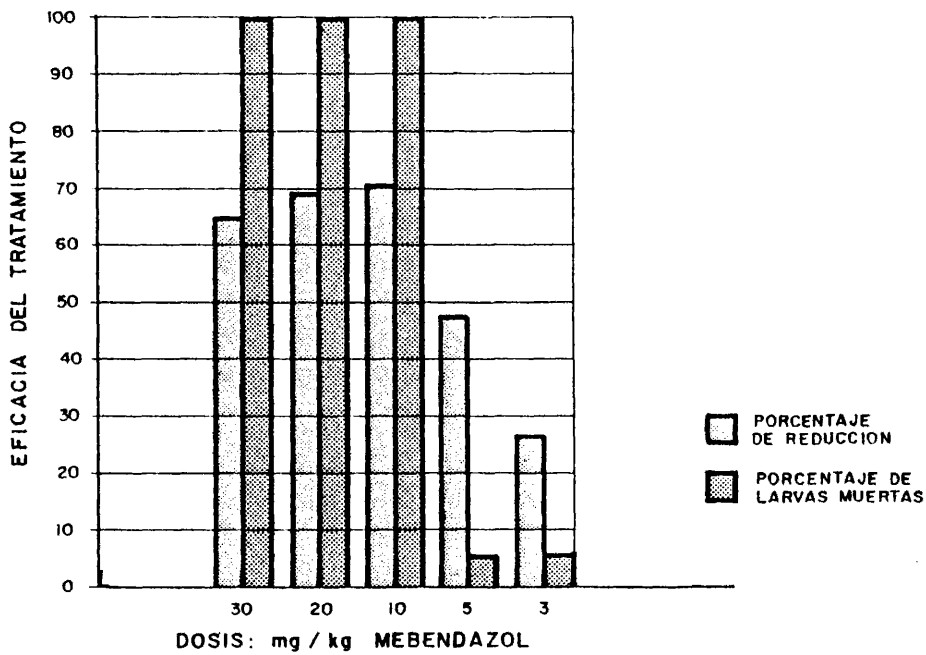
213

TESTIGO I .- Animales inmunosuprimidos con niridazol y sin tratamiento con mebendazol.

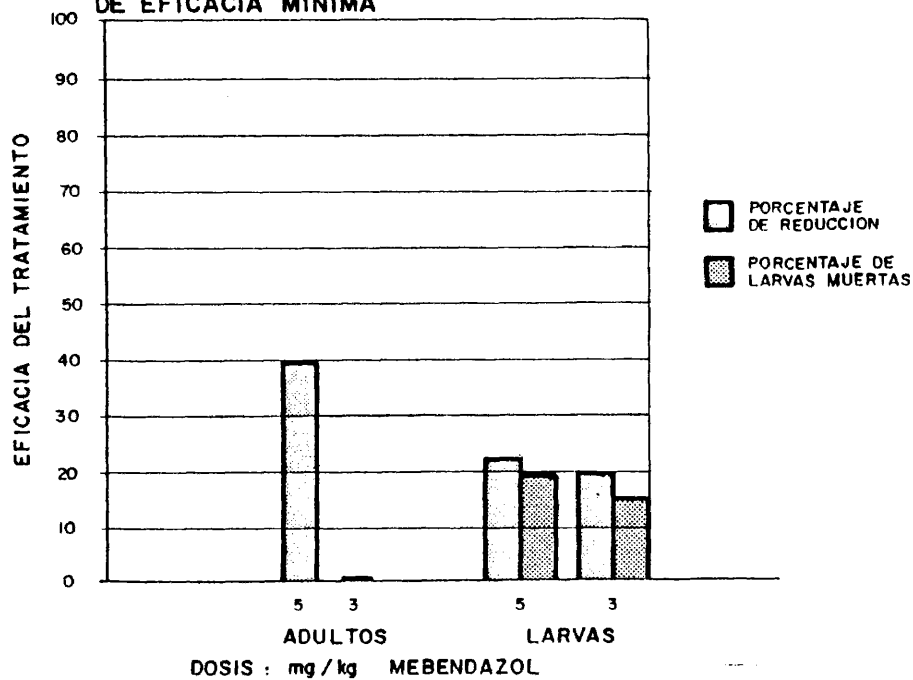
TESTIGO II .- Animales inmunosuprimidos con niridazol y tratados con mebendazol.



HISTOGRAMA N° XII 214

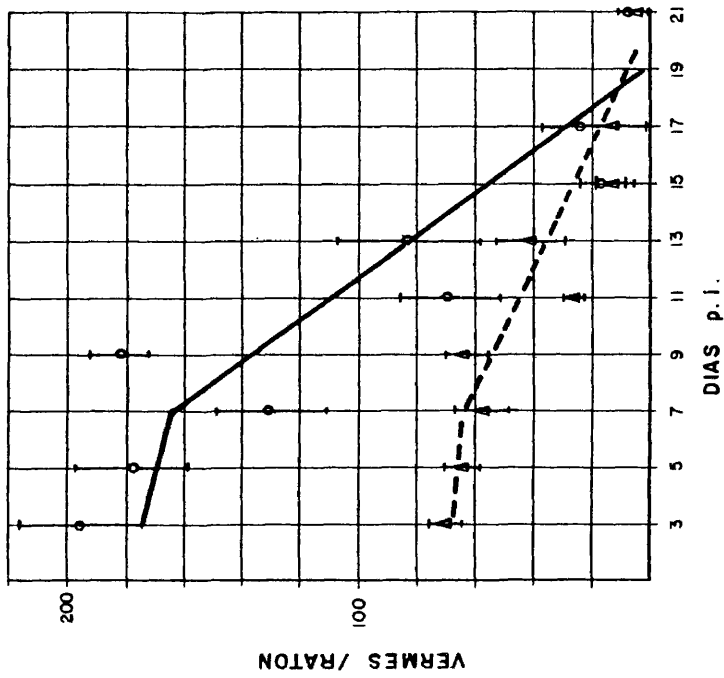


HISTOGRAMA N° XIII  
VIABILIDAD DE LAS LARVAS EN LA DETERMINACION DE EFICACIA MINIMA



### GRAFICA III

EVOLUCION DE ADULTOS INTESINALES EN ANIMALES INFESTADOS CON T. SPIRALIS, Y SIN TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR. TESTIGO DE LA EXPERIENCIA



TOTALES

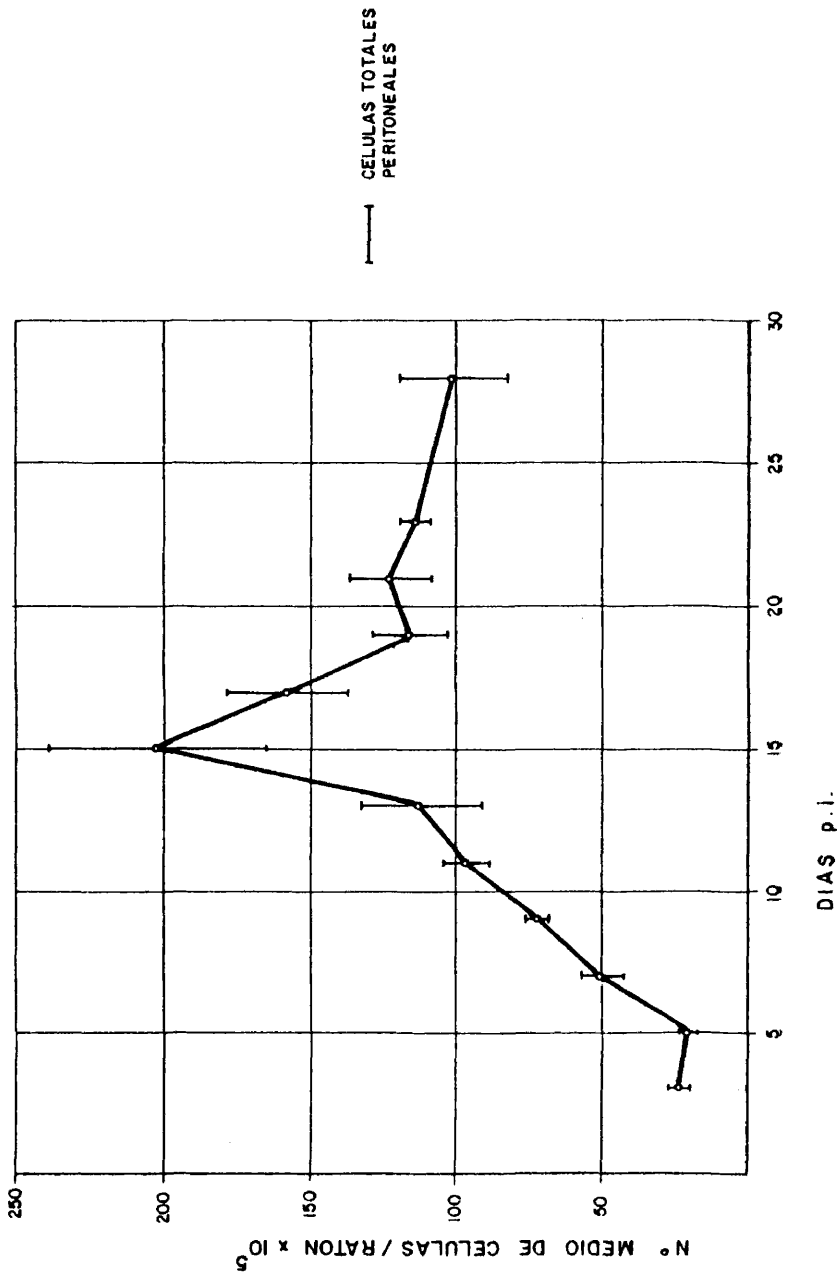
$$\left\{ \begin{array}{l} Y = -2,5500x + 183,5500, \quad r = -0,2572 \\ Y' = -12,7571x + 246,1851, \quad r^2 = -0,83 \end{array} \right.$$

MACHOS

$$\left\{ \begin{array}{l} Y = -1,2500x + 71,2500, \quad r = -0,6072 \\ Y' = -3,9114x + 85,2067, \quad r^2 = -0,8162 \end{array} \right.$$

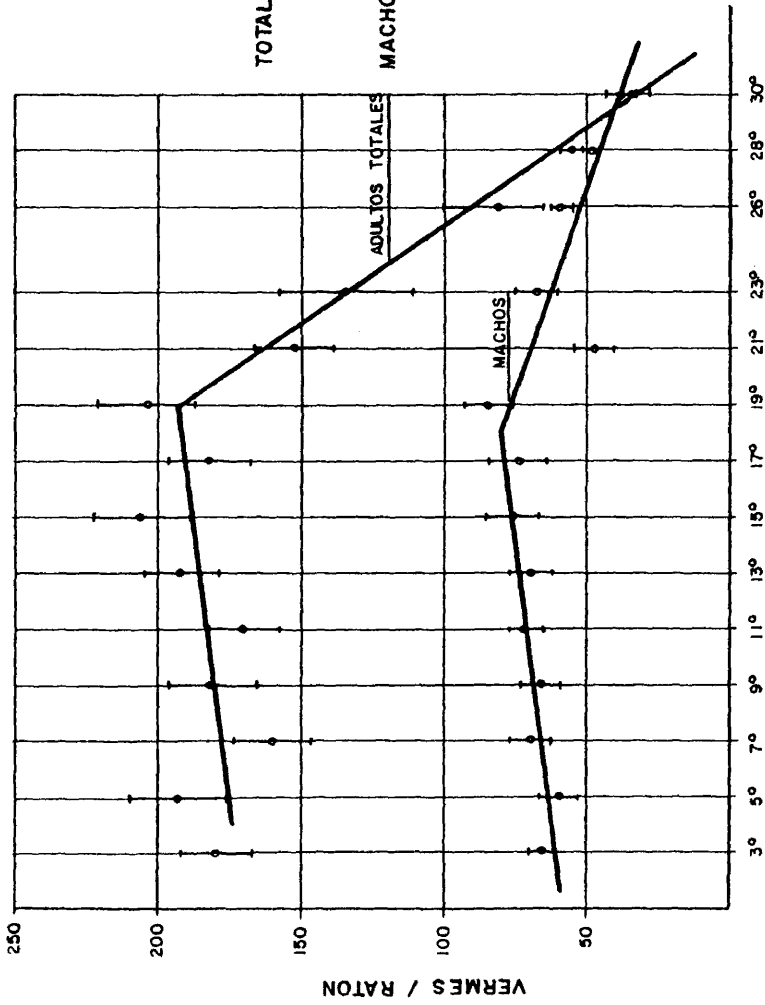
# GRAFICA IV

EVOLUCION DEL NUMERO DE CELULAS PERITONEALES / RATON , EN ANIMALES INFESTADOS CON T. SPIRALIS , Y SIN TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR TESTIGO DE LA EXPERIENCIA



# GRAFICA V

EVOLUCION DEL N° DE ADULTOS INTESTINALES EN ANIMALES INFESTADOS CON T. SPIRALIS Y TRATADOS CON CICLOFOSFAMIDA A RAZON DE 150 mg/kg LOS DIAS 3° y 6° p.i. ( POST. INFESTACION )



**TOTALES**

$$y = 1,5250x + 169,78, r^2 = 0,54$$

$$y' = 14,7150x + 475,1841, r'^2 = 0,9906$$

**MACHOS**

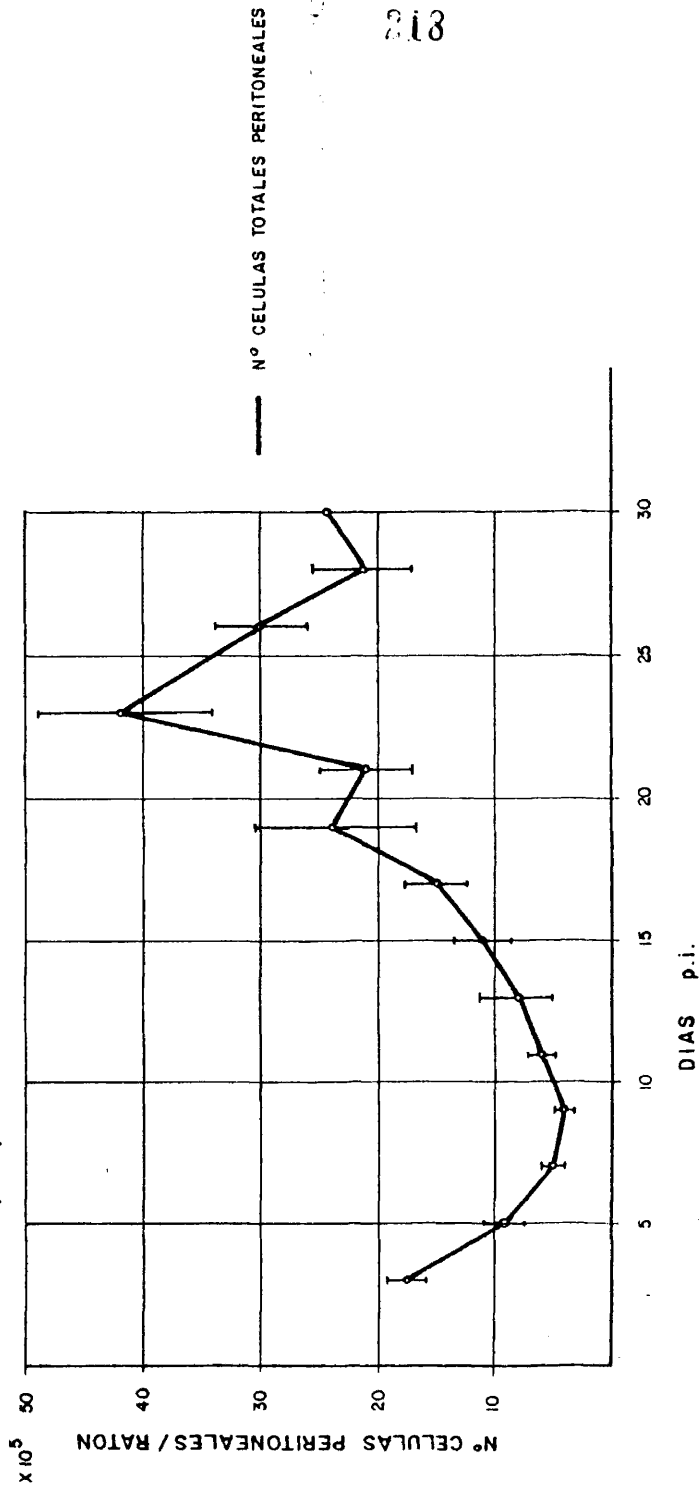
$$y = 1,2083x + 58,1531, r^2 = 0,86$$

$$y' = -3,4301x + 141,7041, r'^2 = 0,7710$$

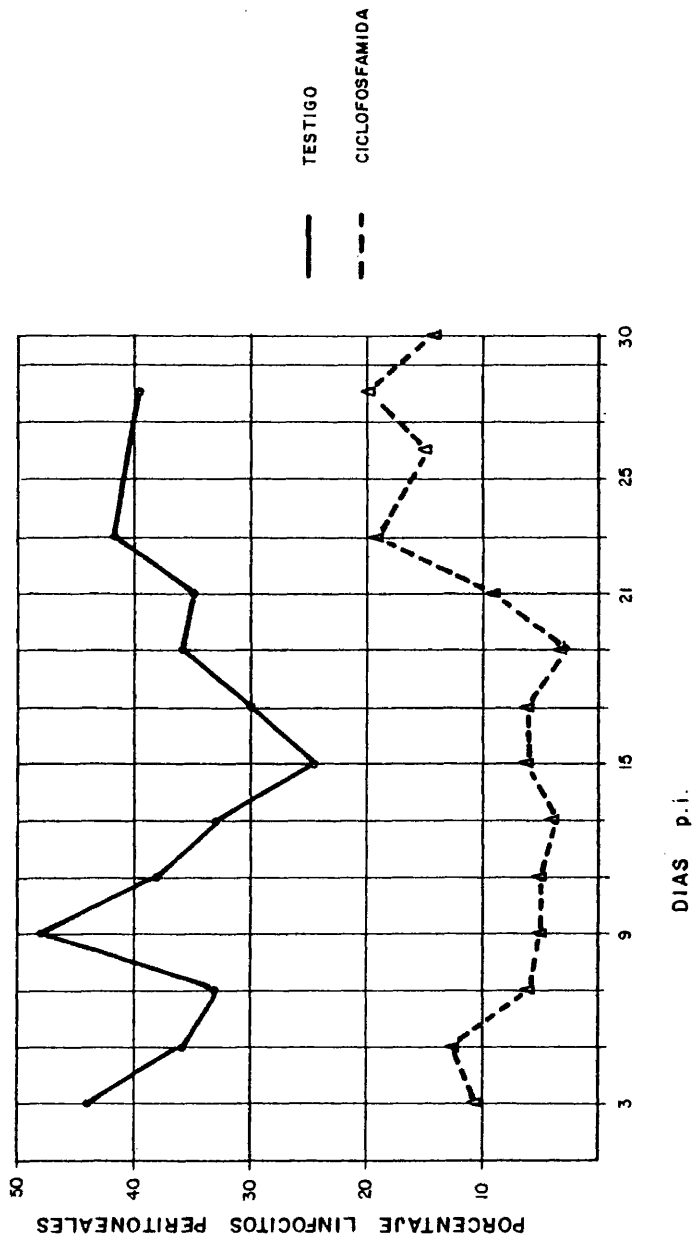
217

# GRAFICA VI

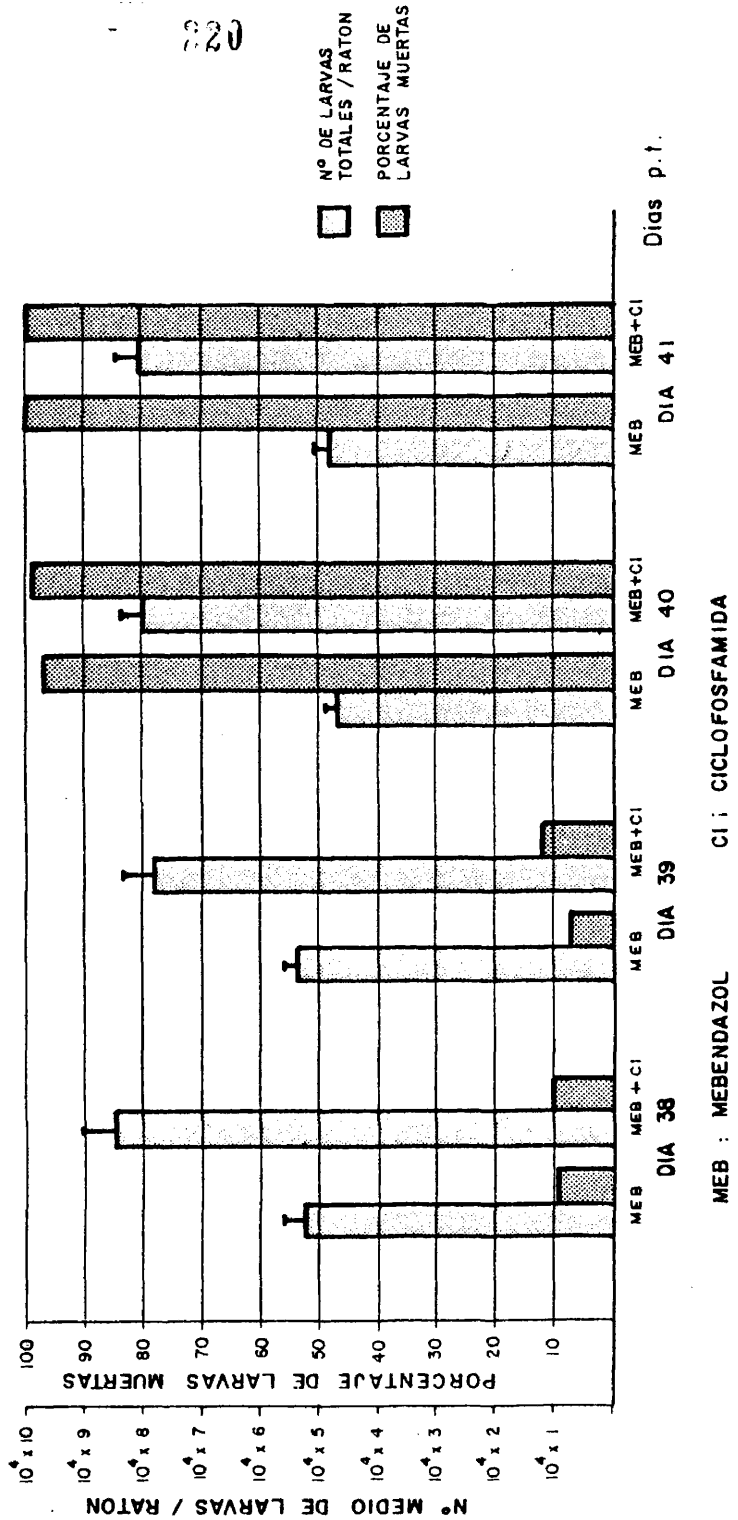
EVOLUCION DEL N° DE CELULAS TOTALES DEL EXUDADO PERITONEAL EN ANIMALES INFECTADOS CON T. SPIRALIS E INMUNOSUPRIMIDOS CON CICLOFOSFAMIDAS A RAZON DE 150 mg/kg LOS DIAS 3° Y 6° p.i.



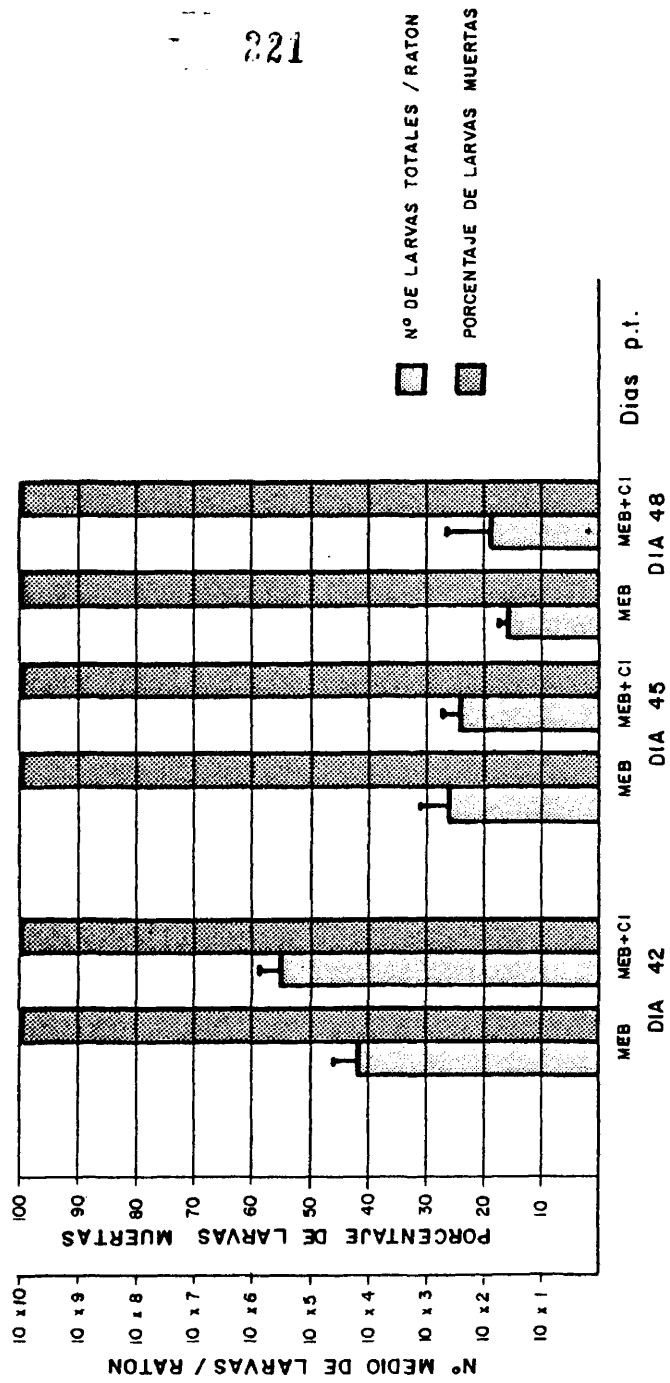
GRAFICA VII



HISTOGRAMA N° XIV



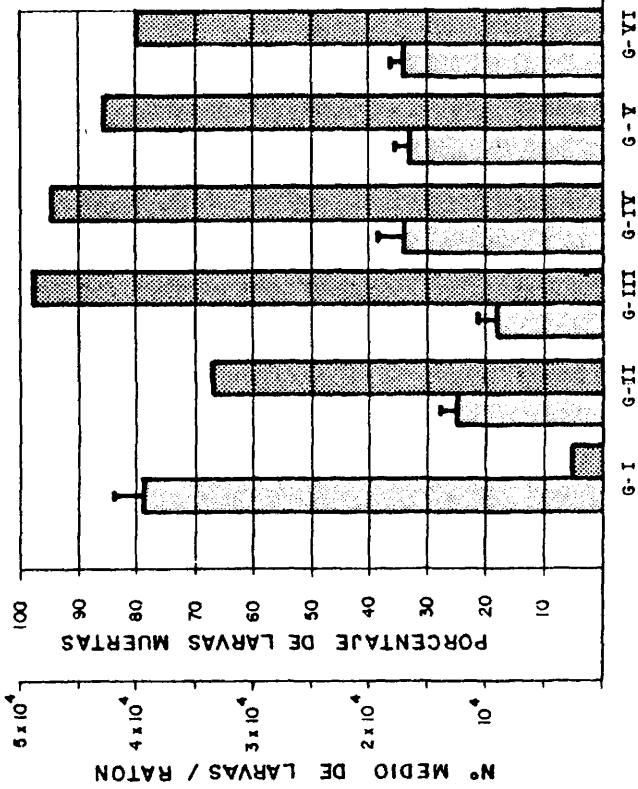
# HISTOGRAMA N° XV



MEB : MEBENDAZOL  
 MEB + CI : MEBENDAZOL + CICLOFOSFAMIDA



HISTOGRAMA N° XVI  
DIA 3° P.T.

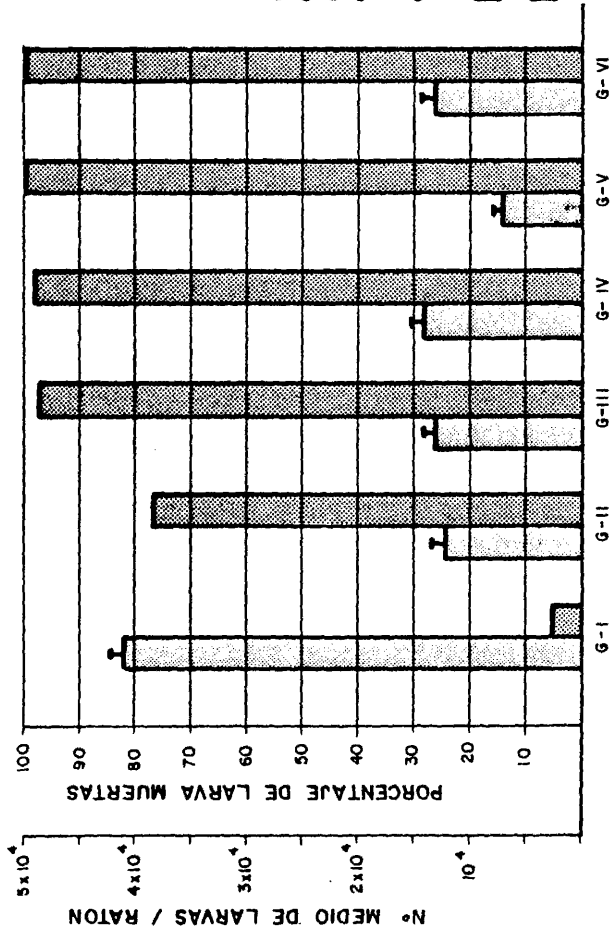


- G-I: ANIMALES SIN TRANSFERENCIA Y SIN TRATAMIENTO
- G-II: ANIMALES SIN TRANSFERENCIA Y CON TRATAMIENTO
- G-III: ANIMALES RECEPTORES DE CELULAS PERITONEALES VIA i.p
- G-IV: ANIMALES RECEPTORES DE CELULAS PERITONEALES VIA i.v
- G-V: ANIMALES RECEPTORES DE CELULAS ESPLENICAS VIA i.p.
- G-VI: ANIMALES RECEPTORES DE CELULAS ESPLENICAS VIA i.v.

□ N° MEDIO DE LARVAS

■ PORCENTAJE DE LARVAS MUERTAS

HISTOGRAMA N° XVII  
DIA 6° P. T.

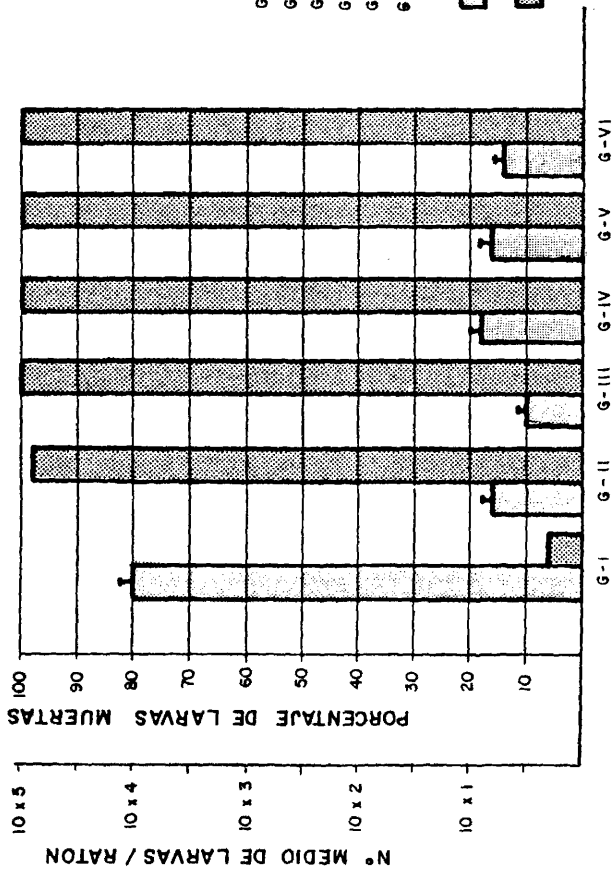


G-I: ANIMALES SIN TRANSFERENCIA Y SIN TRATAMIENTO  
 G-II: " " " CON "  
 G-III: ANIMALES RECEPTORES DE CELULAS PERITONEALES V  
 G-IV: " " " "  
 G-V: ANIMALES RECEPTORES DE CELULAS ESPLENICAS VIA  
 G-VI: " " " "

□ Nº MEDIO DE LARVAS

▨ PORCENTAJE DE LARVAS MUERTAS

HISTOGRAMA N° XVIII  
DIA 9° P.T.



- 224
- G-I : ANIMALES SIN CELULAS NI TRATAMIENTO
  - G-II : " " " CON "
  - G-III: ANIMALES RECEPTORES DE CELULAS PERTONEALES VIA I.
  - G-IV: " " " " "
  - G-V : ANIMALES RECEPTORES DE CELULAS ESPLENICAS VIA I.
  - G-VI: " " " " "

□ N° MEDIO DE LARVAS

■ PORCENTAJE DE LARVAS MUERTAS

225

VI.- DISCUSSION

#### 6.1.- DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON OXFENDAZOL

Los ensayos efectuados en el presente trabajo ponen de manifiesto que el oxfendazol es también un fármaco eficaz contra Trichinella spiralis, pasando a engrosar de esta forma el arsenal terapéutico desarrollado masivamente a lo largo de los veinte últimos años y en el cual la familia de los benzimidazoles, contretamente, los benzimidazol carbamatos parecen ser los más indicados para la terapia de la triquinosis.

Numerosos trabajos proponen al oxfendazol y al mebendazol como los antielmínticos de elección en la quimioprifilaxis de las nematodosis gastrointestinales, si bien generalmente los test efectuados, no incluyen a Trichinella spiralis, debido a la no utilización de sus hospedadores adecuados o también a que, desde el punto de vista profiláctico es difícil captarle entre una infestación natural por helmintos gastrointestinales.

Nosotros, a la vista de los resultados obtenidos, podemos concluir que el oxfendazol constituye un buen profiláctico en la protección de infestaciones por T. spiralis puesto que reúne las condiciones básicas para ello:

- 1º.- posee unas toxicidades aguda y crónica muy bajas, así como una teratogenidad no confirmada.
- 2º.- Eficaz a dosis muy bajas frente a fases juveniles, puesto que basta con 7 mg./kg. de peso vivo, para producir un 91,80% de eficacia y 15 mg./kg., producen una total erradicación de los vermes con lo que se puede anular una infestación descubierta durante los tres primeros días.

3°.- Tratándose de un polvo inodoro e insípido de absorción -- lenta, resulta fácil su formulación en alimentos de ganado, con lo que se podría establecer una administración -- prolongada del mismo protectora ante una eventual infestación.

Todo esto nos lleva a intuir una posible aplicación con éxito de oxfendazol en clínica humana, similar a la que se está consiguiendo con mebendazol, ya comercializado desde hace algunos años.

Las fases adultas intestinales y los estados emigrantes de T. spiralis, resultan más resistentes al tratamiento con oxfendazol. -- Así, contra adultos, fueron necesarias dosis de 100 y 200 mg./kg. para lograr reducción del 58,97 y 84,50% respectivamente.

Contra larvas emigrantes, la eficacia obtenida fué todavía menor, solamente cuando se administraron dosis de 500 mg./kg. se alcanzó un 80% de reducción.

Este mismo comportamiento, bajo pautas terapéuticas similares, fué observado para otros benzimidazol-carbamatos, tales como el mebendazol, R. GAABEIRO y cols. (1978) á fenbendazol, SUJATHA, S.E. y DENHAM (1976), R. CAABEIRO y cols. (1978 b), oxibendazol, R. CAABEIRO y cols. (1978 c).

A pesar de esto pensamos que los tratamientos en estas fases -- del ciclo, son interesantes ya que en alguna medida contribuyen a disminuir el grado de infestación muscular subsiguiente. Esta misma opinión es compartida por PEREVERZEVA, E.V. y cols. (1979), en relación a la terapia con mebendazol.

El tratamiento de las larvas enquistadas de T. spiralis es -- otro aspecto muy importante a considerar en cuanto a la quimioterapia

de la triquinosis.

Los resultados que se obtienen con los distintos benzimidazol-carbamatos son dispares, hay algunos extraordinariamente eficaces, - - mientras que otros manifiestan efectos considerablemente menores. Esto lleva a establecer una relación estructura-actividad de los mismos, basada fundamentalmente en la naturaleza de los sustituyentes en posición 5 del anillo imidazólico. SPALDONOVA, R. y CORBA, J. (1979).

En el caso del oxfendazol, esta sustitución resulta afortunada y hace que sea altamente eficaz contra larvas enquistadas en relación a los efectos producidos por los otros fármacos del grupo que describen los anteriormente citados. No obstante, fueron necesarios 200 mg./kg. para producir un 89% de larvas muertas entre las que se obtenían por digestión péptica, además dosis inferiores de 100, 80 y 60 mg./kg. eran capaces de estimular la reacción inflamatoria típica observada después de la administración del mebendazol DE NOLLIN y cols. (1974), R. CAABEIRO y cols. (1978 a).

Por lo tanto, nuestros resultados son mejores que los atribuidos por SPALDONOVA, R y CORBA J. (1978) en que afirman que el oxfendazol a dosis inferiores a 200 mg./kg. no resulta eficaz, mientras que nosotros con 60 mg./kg. obtuvimos todavía un 34,23% de larvas muertas frente a un 1,04% obtenido en los testigos, eficacia reflejada en las pruebas de viabilidad llevadas a cabo posteriormente en donde todavía un 30% de las larvas tratadas no fué capaz de alcanzar el estado adulto y éstas vieron disminuido su poder de infestación muscular en un 15,37%.

Todas las observaciones efectuadas por nosotros durante estas experiencias (aspecto de los quistes musculares en fresco por compresión de diafragma entre placas, cortes histológicos obtenidos a partir

de los maséteros de los animales tratados, presencia de lesiones típicas en las larvas muertas aisladas por digestión, así como un estado de "shock" generalizado en los animales de tipo anafiláctico, desencadenado después de la administración de la segunda dosis de oxfendazol) nos condujeron a pensar que el oxfendazol podría tener un mecanismo de acción análogo al del mebendazol ampliamente estudiado por varios autores y en particular por SANMARTIN DURAN en su Tesis Doctoral, alguno de cuyos capítulos aparecen ya publicados (1980 a), (1980 b).

La administración conjunta de corticosteroides + benzimidazoles durante la terapia de la triquinosis muscular, ha sido un aspecto ampliamente considerado y discutido, CAMPBELL y CUCKLER (1966), HALL y MCGABE (1967), KOZIEKA (1971), MARTINEZ FERNANDEZ (1978), SANMARTIN DURAN y cols. (1980b).

Si la respuesta originada por el tratamiento con benzimidazol-carbamatos, especialmente con mebendazol, es de tipo inmunitario celular la administración de corticosteroides, agentes depresores fundamentalmente de inmunidad celular a dosis convenientes ejercerá un control del proceso, en el sentido de evitar las reacciones de anafilaxia por la brusca liberación de los antígenos a circulación al romperse la barrera aislante entre parásito y hospedador a causa del tratamiento antihelmíntico. Por otra parte, si la dosificación no es adecuada o en individuos de baja capacidad inmunógena, su administración resultará obviamente perjudicial. Sin duda debe existir una íntima relación entre la eficacia del tratamiento conjunto corticosteroides + antihelmíntico y el grado de infestación muscular, así como el estado inmunitario del hospedador.

De nuestros tratamientos con oxfendazol + prednisona (uno de -



los corticosteroides más activos), deducimos que la administración de prednisona en ningún caso anuló la eficacia del tratamiento. Cuando se administro antes del tratamiento, los efectos manifestados por el oxfendazol fueron los mismos que cuando se administró solo. Cuando se administró durante y después del tratamiento, lo único que se observó - fué un notable descenso en la intensidad de la reacción inflamatoria - con presencia irregular de los componentes habituales del infiltrado lo cual se tradujo en un retraso de la aparición de los fenómenos de fragmentación y destrucción larvarias al día 12 p.t., cuando en las otras experiencias aparecieron en el día noveno p.t.

La conclusión a la que llegamos, es la misma que la encontrada por MARTINEZ FERNANDEZ y cols. (1980), mediante una experiencia similar llevada a cabo con mebendazol y es que la inmunosupresión producida por la prednisona no impide la eficacia del tratamiento con oxfendazol, solamente retrasa la secuencia evolutiva del mismo y por lo tanto consideramos que en hospedadores normales desde el punto de vista inmunológico, la administración de corticosteroides junto con oxfendazol - en los tratamientos contra larvas enquistadas de T. spiralis resulta - beneficiosa.

En resumen, nos encontramos en condiciones de afirmar que el comportamiento del oxfendazol frente a la triquinosis experimental en sus diversos estadios, es muy parecido al del mebendazol, si bien los rendimientos en todos los casos resultan inferiores, hechos que convierten al oxfendazol en el segundo fármaco a abordar en el tratamiento de la triquinosis experimental por benzimidazoles.

No obstante, es preciso tener en cuenta que el oxfendazol es mucho menos tóxico que el mebendazol ( $DI_{50}$  del oxfendazol = 6.400 mg./

kg. en ratón y 1.600 mg./kg. en perro vía oral,  $DL_{50}$  del mebendazol = 1.280 mg./kg. en ratón y 640 mg./kg. en perro), lo cual permite la uti-lización de dosis mayores del primero para igualar los efectos del se-gundo, sobre todo a nivel de preadultos y adultos en donde hemos apre-ciado y valorado una cierta proporcionalidad dosis/efecto. Además estu-dios recientes de WEBB y cols. (1979), han descubierto una importante aplicación del oxfendazol en los tratamientos de formas parasitarias -quen han adquirido resistencia frente a otros benzimidazoles, concreta-mente, en el caso de ciertas razas de H. contortus resistentes a par--bendazol y thiabendazol.

#### 6.2.- DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON TIOXIDAZOL

El ánimo de encontrar nuevas moléculas activas contra infesta-ciones gastrointestinales por helmintos, hizo que las modificaciones -estructurales efectuadas sobre las moléculas primitivas se fuesen com-plicando. De esta manera sustituyendo el núcleo imidazol por el tiazol se origina una estructura que dará lugar, por diversas sustituciones -en posición cinco del núcleo tiazol, a una nueva familia de antihelmín-ticos, los benzotiazolcarbamatos.

Su analogía estructural con los bezimidazolcarbamatos hace pen-sar en una similitud en cuanto a sus mecanismos de acción que a su vez se traduciría en eficacias similares o mejores que aquellos. En efec--to, esta hipótesis fue probada por PANITZ, E. y cols. (1978), encon--trando que uno de sus representantes, el tioxidazol, era altamente efi-caz contra gusanos redondos gastrointestinales. Asimismo, la escasa bi-

bibliografía existente al respecto, dado que se trata de fármacos de reciente síntesis, pone de manifiesto efectos favorables del tioxidazol sobre infestaciones naturales producidas por diversas especies de nematodos. No obstante, es justo destacar que en principio las dosis eficaces son considerablemente superiores a las requeridas para oxfendazol, mebendazol y otros benzimidazoles y a menudo se requería la administración repetida de las mismas.

En nuestro primer ensayo con tioxidazol utilizando dosis únicas orales comprendidas entre 5 y 50 mg./kg., hemos obtenido una baja eficacia, ya que ninguna de ellas fué capaz de producir un 50% de reducción.

Mediante una pequeña modificación en la pauta terapéutica que consistía en administrar dosis de 10,25 y 50 mg./kg., tres veces consecutivas cada 12 horas a partir de las 24 horas p.i., hemos conseguido una amplia mejora en los resultados y ya a 10 mg./kg., se obtenía una eficacia de 62,90 % que ya no fué mejorada sensiblemente por las otras dos dosis ensayadas (67,18% para 25 mg./kg. y 65,91 % para 50 mg./kg.) Estos resultados no concuerdan con los obtenidos por PANITZ y cols. (1978) (loc.cit.), que afirma haber obtenido un 99% de eficacia con una sola dosis oral de 75 mg./kg. Aunque en el resumen consultado (comunicación personal, ya que el trabajo íntegro todavía no fue publicado), no se especifica el estado sobre el que dicho tratamiento fué efectuado, suponemos que por el título del mismo (Anthelmintic activity of tioxidazole (Sch-21480 against gastrointestinal roundworms), se trata de estados intestinales de T. spiralis, aunque tampoco conocemos el momento exacto en que se efectuó el tratamiento, ya que pudiera ser posible que estados muy jóvenes fueran sensibles al tioxidazol, mien-

tras que nosotros empezamos los tratamientos a partir de las 24 horas p.i. y por ello del IV estado larvario.

Los adultos, como es ya habitual en los tratamientos efectuados con esta clase de fármacos, resultaron más resistentes todavía y así se necesitaron dosis de 50 mg./kg. para lograr un 50% de reducción. Estos efectos no fueron mejorados cuando se aplicó una terapia sostenida a dosis mayores, obteniéndose con 200 mg./kg. solamente un 55,31% de reducción.

Este comportamiento manifestado por el tioxidazol nos conduce a pensar que la nueva configuración estructural no resulta afortunada en el tratamiento de fases intestinales de T. spiralis. Desconocemos por el momento, los motivos de esta baja eficacia puesto que no tenemos información acerca de la farmacocinética del mismo. Hipotéticamente, podría pensarse en una rápida absorción del fármaco por lo que su corta estancia en intestino le impide actuar sobre el parásito. Esto apoya el hecho de que determinadas pautas terapéuticas establecidas con tioxidazol, así como un análogo estructural suyo, el Sch-18099 (etil-6etoxi-benzotiazol-2-carbamato) contra ciertos nematodos basadas en la administración sostenida del medicamento mediante dosis repetidas o inclusión en el alimento, resulten altamente efectivas cuando do sis sencillas del mismo no lo fueron, PANITZ (1977) y PANITZ (1978). Tampoco podemos descartar una inactividad de la molécula frente a T. spiralis en el intestino.

Tioxidazol resultó prácticamente ineficaz sobre los estados in vasivos de T. spiralis, así como sobre las larvas enquistadas (200 mg./kg. produjo solamente un 15,75% de reducción), no observándose sobre los quistes ni sobre las larvas aisladas en digestión, ninguno de los

efectos anteriormente citados para mebendazol y oxfendazol. Sin embargo, los estudios de viabilidad efectuados con estas larvas nos mostraron la existencia de una afectación de las mismas, por la cual un número considerable no alcanzaban el estado adulto, que se continuaba por una dificultad en la capacidad de invasión muscular, reduciéndose notablemente el grado de infestación muscular para todas las dosis empleadas.

Con los datos disponibles resulta difícil interpretar estos resultados, pues la ausencia en todo momento de la reacción inflamatoria típica provocada por los benzimidazoles, nos hace pensar que este fármaco actúa por un mecanismo distinto del de aquellos, no rompiendo la barrera aislante entre parásito y hospedador. También puede ser posible que la acción del fármaco se centre sobre las larvas en emigración produciendo efectos tales que si bien no son capaces de impedir su asentamiento en músculo, si disminuye su poder de reinfestar, lo cual desde el punto de vista de control de la parasitosis posee gran interés.

En este sentido, sería interesante efectuar estudios de viabilidad con las larvas recuperadas después de un tratamiento contra larvas emigrantes.

Este mismo efecto sería el que explica el comportamiento de las larvas enquistadas, observado por nosotros en relación a la viabilidad adulto-larva de las mismas.

A pesar de nuestro objetivo primario basado en el estudio comparativo de este nuevo fármaco y los benzimidazolcarbamatos, ha sido cumplido, y por este motivo hemos seguido las mismas pautas terapéuticas que las estandarizadas para ellos, pensamos que nuevas experien-

cias junto con el conocimiento de la farmacocinética del tioxidazol y sus análogos, resultarán muy interesantes en la explicación del comportamiento de los mismos en la quimioterapia experimental de la triquinosis.

### 6.3.- DE LAS EXPERIENCIAS CON MEBENDAZOL

A partir de los resultados obtenidos por R. CAABEIRO, (1978), con mebendazol sobre T. spiralis en que obtiene efectos muy satisfactorios con 30 mg./kg. sobre larvas enquistadas, hemos tratado de averiguar los umbrales de actividad del mebendazol sobre larvas enquistadas de T. spiralis. Los efectos producidos por las dosis ensayadas (30, 20, 10, 5 y 3 mg./kg.) fueron ampliamente satisfactorios encontrando efectividad incluso a 3 mg./kg., puesto que, a pesar de que las reducciones obtenidas en las larvas recuperadas con respecto a los controles no resultaron estadísticamente significativas ( $t=1,86$  0,05), hecho que se traduce en que el 100% de las larvas tratadas fueron capaces de alcanzar el estado adulto, estos adultos en alguna manera fueron afectados en su capacidad reproductiva, puesto que se observó un 14% de falta de larvas musculares con respecto a los controles, hecho sin duda debido a que o bien dichas larvas no fueron producidas, o éstas eran lo suficientemente débiles como para no afrontar las barreras inmunitarias existentes en su ruta migratoria hacia los músculos.

Realmente consideramos que los umbrales de eficacia del mebendazol contra larvas enquistadas se encuentra alrededor de los 5 mg./kg., o sea, estos niveles son todavía suficientes para estimular el de

desarrollo de todo el proceso inflamatorio ya clásico inherente a la acción de estos fármacos, y los efectos observados en cuanto a la reducción en número de larvas, porcentajes de larvas muertas y pruebas de viabilidad resultaron estadísticamente significativas con una probabilidad del 99%.

El hecho de que dosis tan bajas del antihelmíntico resulten todavía eficaces, constituye una prueba más a favor de su utilización en el tratamiento de la triquinosis muscular humana. Dosis inferiores a estas arrojan resultados sorprendentes y en este sentido, datos recientes, obtenidos por nuestro equipo de investigación llevan a considerar que dosis subantihelmínticas de mebendazol, resultan inmunosupresoras o por lo menos no estimulantes, favoreciendo el establecimiento de una infestación intestinal por especies de Trichinella, del mismo modo que lo favorecen otros agentes inmunosupresores tales como ciclofosfamida y niridazol.

A partir de una serie de experiencias recogidas en la Tesis Doctoral de SANMARTIN DURAN (1979), consistentes en la administración de inmunodepresores selectivos de inmunidad de células en diversos estadios a lo largo del ciclo biológico de T. spiralis, se plantea la hipótesis de que la respuesta desencadenada en los músculos infestados con T. spiralis, después de un tratamiento con mebendazol a dosis antihelmínticas, es de inmunidad celular y concretamente de hipersensibilidad tipo retardado, si bien no se ha comprobado la influencia que los anticuerpos (células B), pueden tener en dicho proceso.

Tomando esta hipótesis como base y con el ánimo de completarla nos hemos propuesto la realización de experimentos paralelos a aquellos, pero que en vez de actuar sobre células T actuaran sobre células

B. En otras palabras, si la acción inmunitaria post tratamiento supresivo con mebendazol era de naturaleza celular, una supresión más o menos intensa de los anticuerpos humorales dejaría intacta dicha reacción. Si por el contrario era de carácter humoral o incluso mixta, resultaría afectada por esta supresión.

Dicha supresión se llevó a cabo con la ciclofosfamida, fármaco considerado por la mayoría de los autores como inmunosupresor si no selectivo, si preferente de células B cuando se administra a dosis altas. Hemos recurrido a esta sustancia porque era la que más se aproximaba a nuestros requerimientos ante la dificultad de encontrar un medio que deplectase selectivamente células B.

Por otra parte, la administración del fármaco se efectuó de de tal forma que mantuviera a los animales fuertemente inmunosuprimidos durante toda la infestación intestinal, período de sensibilización de los mismos, en el que los anticuerpos juegan un papel importantísimo, ya que actúan directamente sobre el parásito constituyendo un complejo que estimula el proceso inflamatorio subsiguiente en el que toman parte los mastocitos, citados por autores como MILLER y JARRET (1971), KELLY y OGILVIE (1972), BRUCE (1980), los eosinófilos y mononucleares RUITENBERG y ELGERSMA (1976), RUITENBERG y cols. (1977), KAY (1977), PERRUDET y cols. (1978), TRONCHIN y cols. (1979), BUYS y cols. (1980), KARMANSKA (1980), desembocando en el complejo fenómeno de la autocuración regulado en definitiva por una íntima colaboración entre inmunidad celular y humoral.

En nuestro caso la inmunosupresión con ciclofosfamida, refleja da en un notable descenso de las células del exudado peritoneal que se recuperó en parte a partir del día 11 p.i., fenómeno por tanto reversi-



ble de acuerdo con los hallazgos de KOLB y cols. (1977), produjo un notable alargamiento de la estancia de los vermes adultos en el intestino con retraso del inicio de la curación hasta el día 19 p.i. detectándose todavía 39,88 adultos en el día 30 p.i., lo cual se asemeja a los resultados obtenidos por LANCASTRE y cols. (1971), POIROT y cols. (1976), PRZYJALKOWSKI y cols. (1979). Sin embargo, AZILADEH y WAKELIN, en una comunicación presentada en la 5a. Conferencia Internacional de Triquinellosis (1980), afirman que la ciclofosfamida administrada dos días antes de la infestación por T. spiralis, no previno la expulsión de los vermes adultos, si bien no especifica la dosis utilizada, posiblemente la causa de nuestra discrepancia.

Sin embargo, la administración de ciclofosfamida no afectó al grado de asentamiento de los parásitos en el intestino en relación a los controles.

Este hallazgo, que en principio se contrapone a la teoría indiscutible de que el grado de asentamiento de T. spiralis en el intestino del hospedador dependen en gran medida del estado inmunitario del mismo, podría deberse a los efectos antiproliferativos de la ciclofosfamida sobre las células de la mucosa intestinal del hospedador, haciéndole poco favorable al asentamiento de los parásitos tres días más tarde.

A consecuencia de la prolongación del ciclo intestinal, la infestación muscular subsiguiente resultó muy intensa duplicando casi a la observada para los controles, hecho que nos demuestra que la segunda dosis de ciclofosfamida administrada al sexto día, no tuvo efectos embriotóxicos apreciables.

Los efectos observados tras tratamiento supresivo con mebenda-

zol nos reafirman en la hipótesis contemplada por SANMARTIN DURAN - - (loc. cit.), pues no se observaron diferencias apreciables entre los - grupos inmunosuprimidos con ciclofosfamida y los que actuaban como con-- troles, esto tanto en relación a la evolución de las larvas musculares como a la composición del infiltrado inflamatorio con excepción de las células plasmáticas ampliamente disminuídas en los animales inmunosu-- primidos, lo cual presupone una deficiencia de células B, pues, a pe-- sar de que la supresión provocada es un fenómeno reversible, la recupe-- ración de órganos linfoides no es total, hecho también constatado me-- diante el estudio de la evolución numérica de las células del exudado peritoneal en que pudimos apreciar que el número total de células y - linfocitos en el día 30 p.i., era muy inferior al encontrado para los controles ya en el día 28 p.i. Asimismo, el tamaño del bazo en los ani-- males inmunosuprimidos presentó una evolución paralela a la de las cé-- lulas, se observó una disminución progresiva del tamaño del bazo desde el día 3 hasta el 11 p.i. con recuperación en días sucesivos hasta al-- canzar un tamaño máximo en el día 25 p.i. muy inferior al de los con-- troles en los que lógicamente se observaba una clara esplenomegalia. - Por estos motivos no consideramos oportuno la administración de una - tercera dosis de ciclofosfamida que podría poner en peligro la vida de los ratones, así como afectar a la viabilidad de las larvas en período de emigración y enquistamiento.

Por otra parte, los animales inmunosuprimidos presentaban los mismos signos de "shock" que los controles después de la administra-- ción de la segunda dosis de mebendazol, consecuencia de reacciones con-- sideradas como dependientes de células T y concretamente de los linfo-- citos de hipersensibilidad retardada (LT<sub>DTH</sub>).

El hecho de que la muerte de la mayoría de las larvas tenga lugar en ambos grupos en el día 40 p.t., es decir, el primer día p.t., - en que la reacción inflamatoria es todavía incipiente y periquística en su mayor parte SANMARTIN DURAN (1980b), nos hace pensar en una acción directa del fármaco sobre las larvas que originaría la muerte de las mismas y seguidamente estas serían totalmente destruídas por los componentes del infiltrado inflamatorio ya intraquistico a partir del tercer día p.t., hecho que concuerda con los hallazgos de SONJA DE NOLLIN y VAN DEN BOSSCHE (1974), BOCZON (1976), mediante diversos estudios para poner en evidencia los cambios estructurales y metabólicos en las larvas previamente tratadas y con LACLETTE y cols. (1978), que detecta cambios estructurales en la cutícula de cisticercos aislados, 20 horas después del tratamiento con mebendazol.

Por todo ello concluimos una vez más que los efectos del mebendazol sobre larvas enquistadas de T. spiralis, son debidos a una colaboración entre el antihelmíntico y la respuesta inmunitaria.

Si se transfiere el componente inmunitario del proceso desde animales infestados, en su momento máximo de estimulación p.t. antihelmíntico, a otros también infestados y sometidos a inmunosupresión durante todo el ciclo, será posible apreciar los efectos de este componente inmunitario por comparación con otros que habiendo sido también inmunosuprimidos, no recibieron dicha transferencia. Este supuesto pudo confirmarse mediante la realización de la oportuna experiencia en que hemos transferido células esplénicas y de exudado peritoneal desde donantes estimulados en el séptimo día p.t. en que se registra la máxima estimulación macrofágica, según resultados obtenidos por SANMARTIN DURAN (1979), hasta receptores inmunosuprimidos con niridazol durante

todo el ciclo. Debido al gran número de animales utilizados en esta experiencia, no nos fué posible la irradiación de los animales, lo que nos permitiría obtener resultados más concluyentes, pues carecíamos de un lugar aséptico para su mantenimiento posterior. En su lugar, la utilización del niridazol nos pareció muy adecuada, ya que tratándose de un agente fundamentalmente supresor de la inmunidad celular, nos permitiría ver el efecto deseado habida cuenta de que la respuesta inmunológica p.t. con mebendazol es considerada como un fenómeno básicamente celular y básicamente de hipersensibilidad retardada, SANMARTIN DURAN - (loc. cit.).

Los resultados obtenidos dieron la transferencia como positiva manifestando su efecto sobre el número de larvas viables y muertas recuperadas por digestión estandar de los canales procedentes de los diversos grupos de animales en los días 3°, 6° y 9° p.t.

El hecho de que los resultados encontrados para todos los grupos experimentales resultaran diferentes estadísticamente de los encontrados para el grupo I, control absoluto de la infestación, nos indica la clara eficacia del tratamiento efectuado. Esta eficacia crece a lo largo de la observación cuando se comparan los resultados obtenidos -- del grupo II, control de la acción del mebendazol, con el grupo I, lo cual nos indica una clara acción del medicamento sobre las larvas, si bien no podemos evaluar hasta que punto la inmunidad residual está implicada en el proceso y en este sentido se requerirá la utilización de ratones irradiados en posteriores experiencias.

Los efectos del mebendazol sobre animales que no recibieron estimulación alguna, fueron superados significativamente por los observados en aquellos animales receptores, tanto de células esplénicas como

peritoneales por las dos vías utilizadas (peritoneal y venosa), previamente al tratamiento con mebendazol, lo cual prueba la eficacia de la transferencia efectuada.

En cuanto a los dos tipos de transferencia se observa en términos generales que las células del exudado peritoneal resultaron ser más efectivas que las procedentes del bazo en el día tercero p.t., menos en el día sexto p.t. y no diferentes estadísticamente en el día noveno p.t. Las limitaciones dadas por el tipo de diseño experimental planteado, no nos permiten efectuar interpretación coherente de estos resultados obtenidos, no obstante, la mayor y más temprana eficacia de las células del contenido peritoneal en donde la estimulación macrofágica es mayor que en el bazo, sobre animales muy disminuídos en su capacidad de respuesta celular, nos lleva de nuevo a la hipótesis en todo momento contemplada de que la respuesta inmunógena desencadenada por el mebendazol sobre larvas enquistadas, es de naturaleza celular. En este sentido, nuevas experiencias transfiriendo poblaciones celulares puras de linfocitos T, linfocitos B y macrófagos sensibilizados de diversos órganos linfoides sobre animales irradiados o tratados con niridazol + ciclofosfamida, nos permitirán obtener conclusiones definitivas.

No resultó clara la influencia de las vías de administración sobre la eficacia de la transferencia, de un modo general puede observarse que las células del exudado peritoneal resultan más activas administradas por la vía intraperitoneal, que por la intravenosa a lo largo de los tres días de observación. En cuanto a las células esplénicas no se observa ninguna relación, ya que, mientras en el día 3° p.t. resultaba más eficaz la vía intravenosa, en el día 6° sucedía lo contra-

rio y en el día 9° p.t., las diferencias no fueron significativas.

Los resultados del estudio de la evolución histopatológica de los quistes musculares después del tratamiento con mebendazol, nos permiten efectuar algunas observaciones.

En primer lugar y en cuanto a la intensidad de la respuesta inflamatoria no se aprecian diferencias entre aquellos ratones que recibieron solamente mebendazol y los que recibieron la transferencia de células esplénicas y peritoneales por vía intraperitoneal. Además esta infiltración permaneció prácticamente en situación periquística a lo largo de los tres días de observación (3°, 6° y 9° p.t.), encontrándose algunas células intraquísticas solamente el día 9° p.t. en los grupos que recibieron las transferencias.

En cuanto a la composición de dicho infiltrado, tampoco nos es posible establecer diferencias significativas, si cabe, podemos apreciar un discreto predominio de células plasmáticas y linfocitos en los grupos estimulados, frente al que solamente recibió mebendazol. Sin embargo, se pueden observar claras diferencias en cuanto al estado de la matriz quística, mientras que la degeneración basófila y floculosa decrece paulatinamente en el grupo tratado con mebendazol solo, desaparece totalmente en el día 6° p.t. en aquellos que previamente recibieron las células estimuladas.

Nuestros resultados en lo que respecta al grupo tratado con mebendazol, recuerdan a los obtenidos por SANMARTIN DURAN y cols. (1979) mediante una experiencia similar, no obstante, la intensidad de la respuesta ha resultado sensiblemente mayor en su caso, llegando a apreciarse una discreta infiltración intraquística, aquí ausente, posiblemente debido a una inmunodepresión más fuerte provocada por la adminis

tracción continua del niridazol en nuestro caso.

Por otra parte, la evolución de las larvas, anteriormente comentada, no parece verse afectada por la dinámica del proceso celular seguido en el análisis histopatológico, puesto que a pesar de que la infiltración no llegó a penetrar prácticamente en el quiste, se observaban altos porcentajes de larvas muertas ya en el tercer día de observación en los diferentes grupos tratados con afectación de su viabilidad, frente a una digestión péptica estandar, incluso en el grupo II que no había recibido transferencia alguna y que por lo tanto se le suponía en condiciones de inmunosupresión celular.

Esta independencia apreciada entre el estado inmunológico del hospedador (sucedió lo mismo cuando se inmunosuprimió a los ratones con ciclofosfamida) y el porvenir de las larvas una vez efectuado el tratamiento con mebendazol a dosis antihelmínticas, nos hace pensar en una acción directa del mebendazol sobre las mismas responsable de la muerte de un alto porcentaje ya en el primer día después de ser tratadas con una dosis eficaz de mebendazol administrado durante tres días consecutivos, que es seguida de una rápida desorganización larvaria que las hace no resistentes a una digestión péptica.

No obstante, esta eficacia es menor que cuando se efectúa el tratamiento sobre ratones normales, lo cual puede presuponer un papel activo de determinados anticuerpos que penetran en el interior del quiste, precisamente debido a la alteración de la estructura de la cápsula y colaboran con el antihelmíntico en la muerte de las larvas.

El paso siguiente sería la reacción inflamatoria de hipersensibilidad inmediata o retardada como resultado de la puesta en contacto de los metabolitos y fragmentos larvarios con los tejidos del hospeda-

dor, precisamente a consecuencia de la desorganización capsular y de la matriz quística ocasionada previamente por el mebendazol. En este sentido nuestros resultados están de acuerdo una vez más con la hipótesis establecida por DE NOLLIN y cols. ya en el año 1974 en que atribuye al antihelmíntico el papel fundamental en la muerte y desorganización de las larvas enquistadas.

Deseamos hacer constar que estos estudios efectuados "in vivo" poseen una complejidad intrínseca que muchas veces no nos permite formular conclusiones definitivas. Sin embargo, los juzgamos de gran interés, ya que por una parte nos informan sobre la eficacia global de un determinado fenómeno estudiado y por otra nos orientan sobre los caminos a seguir en planteamientos experimentales posteriores "in vitro", en los que será posible controlar las distintas variables que puedan afectar a un parámetro determinado objeto de investigación, una vez comprobada su posible eficacia "in vivo".

De este modo, los resultados obtenidos en el presente trabajo, en base a los planteamientos efectuados y a los objetivos buscados, nos sugieren la realización inmediata posterior de los siguientes estudios:

- 1.- A fin de esclarecer el curioso fenómeno de la baja eficacia de los benzimidazol-carbamatos sobre larvas emigrantes siendo altamente activos sobre larvas enquistadas, se pondrán en marcha experiencias "in vitro" consistentes en el estudio de la evolución de los embriones obtenidos a partir de hembras grávidas en medios adecuados y suplementados con diversas concentraciones de los fármacos seleccionados.



nados.

Paralelamente, se inocularán embriones por vía intravenosa en animales de experimentación, los cuales serán tratados con dosis de antihelmínticos correlativas a las utilizadas en la experiencia "in ~~vitro~~".

Vivo

- 2.- La cuantificación de los efectos per se de estos antihelmínticos sobre larvas enquistadas se llevará a cabo mediante tratamiento "in vitro" de larvas musculares aisladas por digestión péptica siguiendo un planteamiento experimental análogo al que se describe en el apartado I. Este capítulo incluirá el estudio de la viabilidad junto con la evaluación de las modificaciones estructurales y ultraestructurales que el antihelmíntico ensayado ocasione sobre las mismas.
- 3.- La influencia que los anticuerpos humorales puedan tener sobre las larvas una vez tratadas con el antihelmíntico se pondrán en evidencia utilizando como hospedadores animales timentomizados o tratados con sueros antitímocíticos. Dado que un resultado negativo no es descartador, se seguirá el resultado "in vitro", sometiendo a las larvas a la acción de sueros inmunes obtenidos a partir de ratones infectados.
- 4.- En cuanto al componente celular, será necesario concretar que poblaciones celulares están más o menos implicadas en

el proceso resolutivo de los quistes musculares, una vez - que han sido tratados con mebendazol. Para ello utilizando como receptores animales atímicos e irradiados hasta un ni vel que permita soportar una pequeña infestación por T. - spiralis, se les transferirán los siguientes componentes - celulares procedentes de diversos órganos linfoides de ani males hiperestimulados:

- . linfocitos totales.
- . linfocitos B.
- . linfocitos T.
- . Subpoblaciones de linfocitos T: T auxiliares, T - responsables de la hipersensibilidad retardada - - (T<sub>DHT</sub>), etc.
- . Eosinófilos.
- . Macrófagos.

En este sentido se efectuarán asociaciones entre las dis-- tintas poblaciones celulares citadas a fin de determinar efectos sinér gicos o antagonistas.

Paralelamente se seguirán experiencias "in vitro", en las que larvas de T. spiralis serán sometidas a la acción de dichas célu-- las para valorar su citotoxicidad, así como el mecanismo intrínseco de la misma.

345

VII.- R E S U M E N  
=====

Se ha evaluado el espectro de acción farmacológica de oxfendazol y tioxidazol en los diversos estadios del ciclo biológico endógeno de T. spiralis desglosado en las cuatro fases convencionales de preadultos, adultos, embriones en emigración y larvas enquistadas.

Oxfendazol resultó ser altamente eficaz contra todos los estadios del ciclo biológico de T. spiralis.

Contra preadultos se han ensayado dosis sencillas orales comprendidas entre 2 y 50 mg/Kg, resultando todas ellas activas con efectos del 100% ya a partir de 15 mg/Kg. Asimismo, pudo observarse una cierta proporcionalidad dosis/efecto evaluada mediante estudios de correlación estadística.

Dosis similares fueron ensayadas contra fases adultas de T. spiralis, resultando de una eficacia sensiblemente menor a la obtenida frente a preadultos. Administrando 100 mg/Kg, se obtuvo solamente un 58,97% de reducción, requiriéndose 200 mg/Kg para lograr un 84,50% de eficacia.

Los estados invasivos de T. spiralis resultaron bastante resistentes a la terapia de oxfendazol. Dosis de 300, 400 y 500 mg/Kg/día, administradas oralmente durante tres días consecutivos produjeron efectos estadísticamente significativos con reducciones del 45,42, 69,90 y 0,08 % respectivamente.

Los tratamientos efectuados contra larvas enquistadas de T. spiralis con oxfendazol a las dosis de 200, 300, 400, 500 y 700 mg/Kg/día, administrados oralmente durante tres días consecutivos resultaron altamente eficaces, pues un 89 % de las larvas recuperadas por digestión péptica standar 5 días después del tratamiento con oxfendazol, estaban ya muertas. Asimismo, las experiencias de viabilidad efectuadas con las larvas vivas recuperadas después de los tratamientos a las diversas dosis ensayadas pusieron de manifiesto que ninguna de ellas fué capaz de alcanzar el estado adulto, careciendo por lo tanto de capacidad infestante, hecho que confiere a oxfendazol un marcado interés desde el punto de vista profiláctico.

Se ha tratado de determinar aquellas dosis mínimas de oxfendazol que todavía resultaran activas frente a larvas musculares enquistadas de T. spiralis, encontrándose que 60 mg/Kg, puede considerarse como la dosis mas pequeña todavía activa frente a larvas musculares enquistadas,

en base a su acción triquinellicida observada en las larvas recuperadas a los cinco días del tratamiento así como sobre su viabilidad posterior.

Se han efectuado estudios sobre la evolución de quistes musculares después de un tratamiento con oxfendazol a dosis eficaces ( 250 mg/Kg ) . Asimismo, se ha valorado la influencia de los corticosteroides, concretamente de prednisona, sobre la acción antihelmíntica de oxfendazol a nivel de larvas musculares.

Las observaciones efectuadas en los 18 días posteriores al tratamiento sobre cortes histológicos de maséters de ratón, han puesto de manifiesto que oxfendazol, cuando se aplicó contra larvas enquistadas de T. spiralis , estimuló una reacción inflamatoria de intensidad creciente hasta el día 9° p.t., que penetraba en el interior del quiste a partir del día 2° p.t. . Su composición se caracterizaba por un predominio de leucocitos polinucleares neutrófilos y eosinófilos, que paulatinamente decrecían en favor de un incremento en la proporción de linfocitos, células plasmáticas e histiocitos hasta alcanzar un máximo el día 9° p.t. para posteriormente decrecer.

La presencia de células gigantes de cuerpo extraño se hizo patente en el sexto día de observación, manteniéndose con ligeros incrementos hasta el final. Los fenómenos de degeneración basófila e hialina patentes en la matriz quística en los primeros días de observación, fueron decreciendo paulatinamente para desaparecer a partir del día 9° p.t. con incremento posterior de la degeneración y destrucción larvaria.

La administración de prednisona en los días 35, 36 y 37 p.i., es decir, desde tres días antes del tratamiento, con oxfendazol, no modificó notablemente el comportamiento observado en los casos de tratamiento con oxfendazol solo.

Cuando se administró prednisona antes, durante y después del tratamiento supresivo con oxfendazol, se produjo un notable descenso en la intensidad de la reacción inflamatoria con presencia irregular de los componentes habituales del infiltrado inflamatorio que se tradujo en un retraso de la aparición de los fenómenos de fragmentación y destrucción larvaria al día 12 p.t. .

La prednisona, por lo tanto, frena el proceso inflamatorio desencadenado por la acción de oxfendazol. Su aplicación puede considerarse beneficiosa en la prevención de choques anafilácticos producidos durante estos tratamientos.

Tioxidazol, análogo estructural de benzimidazolcarbamatos, fué el segundo fármaco objeto de " screening" con T. spiralis mediante un diseño experimental-análogo al utilizado para oxfendazol.

Sus efectos frente a las cuatro fases del ciclo biológico del arásito fueron sensiblemente inferiores a los de oxfendazol.

Contra preadultos, se han empleado dosis sencillas orales comprendidas entre 5-50 mg/Kg , no alcanzándose para ninguna de ellas el 0 % de reducción . La administración de 10, 25 y 50 mg/Kg , tres veces consecutivas con intervalos de 12 horas a partir de las 24 horas p.i., produjo sensible incremento de los efectos, consiguiéndose con 10 mg/Kg el 62,90 % de reducción si bien los efectos de las restantes dosis ensayadas no resultaron estadísticamente diferentes de la mencionada dosis de 10 mg/Kg .

Contra estados adultos intestinales de T. spiralis , se han utilizado también dosis orales sencillas comprendidas entre 5 y 50 mg/Kg. La máxima eficacia conseguida fué del 56,85 % a la dosis de 40 mg/Kg , que no fué mejorada cuando se utilizaron dosis orales los días 6 y 7 p.i.

Los efectos de tioxidazol frente a larvas emigrantes de T. spiralis, fueron considerablemente bajos, pues ninguna de las dosis ensayadas de 100, 200 y 300 mg/Kg/día , durante tres días por vía oral, resultó estadísticamente significativa ni siquiera para una probabilidad del 5 % .

Asimismo, el tratamiento contra larvas musculares enquistadas con tioxidazol a las dosis de 50, 100 y 200 mg/Kg/día , por vía oral, produjo efectos que tampoco resultaron estadísticamente significativos a nivel de 5% . Sin embargo, los estudios de viabilidad efectuados con las larvas recuperadas del tratamiento arrojaron resultados altamente positivos . Solamente un 48,37 % de las larvas recuperadas del tratamiento con 50 mg/Kg , fueron capaces de alcanzar el estado adulto, 28,65 % de las tratadas con 100 mg/Kg y 32,49 % de las tratadas con 200 mg/Kg, re-

sultados altamente significativos a nivel de 99% . Del mismo modo, la capacidad de infestación muscular de las larvas tratadas se vió afectada en un 63,29 % para las dosis de 50 mg/kg , 75,59 % para 100 mg/Kg y 76,94 % para 200 mg/Kg .

Las experiencias destinadas a conocer los umbrales de actividad de mebendazol frente a larvas enquistadas de T. spiralis, han puesto de manifiesto que dicho antihelmíntico es eficaz a dosis muy bajas ya que 5 mg/Kg producen efectos triquinelícidas considerables, observados tanto en base a la viabilidad directa como al poder infestante de las larvas tratadas. Además, dicha dosis es capaz de estimular el proceso inmunitario inherente a la acción triquinelícida de mebendazol a nivel muscular.

Finalmente se realizaron varias experiencias destinadas a conocer el efecto que la administración de inmunomodificantes selectivos de inmunidad celular o humoral, podría tener sobre la acción antihelmíntica de mebendazol sobre larvas musculares enquistadas.

Cuando se administró ciclofosfamida a dosis altas, en los días -3 y 6 p.i. , se produjo en primer lugar un alargamiento considerable en el tiempo de permanencia de los vermes adultos en el intestino del hospedador, iniciándose la autocuración hacia el día 19° p.i., fenómeno que en los controles ocurría ya en el día 7° p.i. . Paralelamente se observó una fuerte caída en el número de células del exudado peritoneal, concretamente de linfocitos, que posteriormente se recuperó en parte a partir del día 21 p.i., si bien el estado posterior de los animales fué de franca inmunosupresión hasta el día 30 p.i., fecha límite de la observación. Como consecuencia de estos hechos se alcanzó un elevado grado de infestación muscular ( del orden de las 80.000 larvas/ratón ), que prácticamente duplicó al que presentaban los controles.

Siguiendo la marcha de la experiencia se hizo un estudio de la evolución de larvas y quistes musculares, mediante técnicas de digestión péptica para larvas y de cortes histológicos para quistes, después de un tratamiento supresivo con mebendazol.

Los resultados obtenidos nos indican que la inmunosupresión por ciclofosfamida no afectó a la secuencia evolutiva de los sucesos acaeci-

dos tras el tratamiento con mebendazol contra larvas musculares enquistadas, pues los tests estadísticos de comparación aplicados a los grupos control y experimental en ningún caso arrojan diferencias significativas.

Siendo la ciclofosfamida un agente fundamentalmente depresor de la inmunidad humoral, podemos deducir, a la vista de estos resultados, que los anticuerpos tienen un papel secundario en la acción resolutoria de los quistes musculares por parte de mebendazol.

Las últimas experiencias realizadas estaban destinadas a conocer la eficacia de la transferencia de células inmunocompetentes, proveniente de ratones infestados y tratados con mebendazol, sobre animales infestados, inmunodeprimidos con niridazol y tratados después de la transferencia con dosis antihelmínticas de mebendazol. Dicha eficacia se evaluó estudiando la evolución de las larvas y quistes musculares tratados, con determinaciones en los días 3º, 6º y 9º p.t. .

Los resultados obtenidos nos permitieron constatar que la transferencia había sido efectiva. Los tests de significación estadística empleados, mostraban diferencias considerables entre aquellos animales inmunosuprimidos que no recibieron células inmunocompetentes previo tratamiento antihelmíntico y aquellos que previo tratamiento recibieron células esplénicas y peritoneales desde donantes estimulados.

No obstante, estos resultados, llevan a considerar que la acción principal corresponde a mebendazol, pues los tratamientos efectuados con dicho fármaco en ratones inmunosuprimidos y sin estimulación alguna posterior producían ya en el tercer día p.t. reducciones del 60,98%, con un 67,23 % de larvas muertas entre las recuperadas por digestión, si bien no se puede descartar la acción de factores inmunitarios residuales a que no trabajamos con animales totalmente inmunosuprimidos.

En cuanto a los tipos de transferencia efectuadas ( células esplénicas y células del exudado peritoneal ), los datos obtenidos, no permiten una conclusión definitiva, pues el día 3º p.t., resultaban más activas las células peritoneales que las del bazo, menos en el día 6º p.t. no diferían significativamente en el día 9º p.t. . Asimismo, tampoco resultó clara la influencia de la vía de administración empleada. De un modo general puede admitirse que la vía intraperitoneal resultó ser más adecuada para la transmisión de células peritoneales, no encontrando nin-



guna relación en cuanto a células esplénicas/vía de administración.

Los resultados del estudio de la evolución histopatológica de los quistes musculares . después del tratamiento con mebendazol nos indica que no existen diferencias significativas, tanto a nivel de la evolución de los quistes como de las larvas; entre los grupos tratados con mebendazol sin estimulación inmunológica previa y los que previamente recibieron células inmunocompetentes ( esplénicas y peritoneales ) por vía intraperitoneal, hecho que manifiesta una cierta independencia entre la inmunidad mediada por células y la acción triquinelícida de mebendazol en un principio. Según esto, parece posible el poder atribuir a mebendazol un papel primario en la supresión de una infestación muscular por T. spiralis que es secundado por las defensas inmunitarias del hospedador y concretamente por aquellas que se derivan de la inmunidad medida por células.

255

VIII.- CONCLUSIONES

#### 8.1.- DE LOS TRATAMIENTOS CON OXFENDAZOL

- 1.- Los resultados obtenidos a partir de las experiencias efectuadas con oxfendazol sobre Trichinella spiralis en ratón, nos permite concluir que estamos ante un nuevo antihelmíntico de elección en la quimioterapia de la triquinosis experimental.
- 2.- Los máximos efectos de oxfendazol se obtienen en los tratamientos contra estados preadultos intestinales de T. spiralis puesto que dosis tan bajas como 7 mg/Kg originan ya un 91,80 % de reducción en los adultos recuperados al 8° día post. infestación ( p.i. ), y 15 mg/Kg son capaces de una total erradicación de los vermes intestinales si se descubre la infestación durante los tres primeros días de su evolución. Esta alta eficacia junto con su baja toxicidad concede al oxfendazol un considerable valor quimioterápico y quimioprolifáctico que le aseguran un buen porvenir como antihelmíntico de uso veterinario y tal vez humano.
- 3.- Siguiendo la pauta de los demás carbamatos de benzimidazol, oxfendazol resulta menos activo en los tratamientos contra fases adultas intestinales de T. spiralis , siendo necesarias dosis orales simples de 100 y 200 mg/Kg , para lograr reducciones del 58,97 y 84,50 % respectivamente.
- 4.- Cuando se efectúan tratamientos contra estados invasivos de T. spiralis , en los días 13, 14 y 15 p.i., los efectos del oxfendazol decrecen en relación a las fases anteriores del ciclo endógeno siendo necesarias dosis de 300, 400 y 500 mg/Kg/día para conseguir reducciones del 54,42 % , 69,90 % y 80,08 % respectivamente.

- 5.- Las larvas enquistadas vuelven a ser muy sensibles a la acción del oxfendazol. Así, de los diversos tratamientos efectuados puede deducirse que dosis de 200 mg/Kg/día, administradas en los días 35, 36 y 37 p.i., son capaces de producir un 89 % de mortalidad en las larvas recuperadas cinco días mas tarde. Además, dosis inferiores hasta 60 mg/Kg , pueden estimular una reacción inflamatoria análoga en su composición a la provocada por mebendazol.
  
- 6.- Las pruebas de viabilidad ( segunda generación ), larva-adulto-larva efectuadas con aquellas larvas vivas procedentes de los diversos grupos de animales tratados ponen de manifiesto que oxfendazol ejerce un efecto directo sobre larvas enquistadas que se traduce en una dificultad de maduración y reproducción de las mismas mermando considerablemente su capacidad infestante cuando alcanzan un hospedador adecuado. Estos hechos conceden al mencionado fármaco un particular interés epidemiológico.
  
- 7.- De los tratamientos efectuados con oxfendazol + prednisona sobre larvas enquistadas de T. spiralis , podemos concluir :
  - a) La administración de prednisona durante los tres días inmediatos anteriores al inicio de la terapia supresiva con oxfendazol, no afectó a la secuencia evolutiva del fenómeno desarrollado cuando se realiza el tratamiento solamente con oxfendazol.
  
  - b) Cuando se administra prednisona durante y después de los tratamientos con oxfendazol se produce un notable descenso en la intensidad de la reacción

inflamatoria con presencia irregular de sus componentes que se traduce en un retraso de la aparición de los fenómenos de fragmentación larvaria al día 12 p.t., frente a su aparición del día 9° cuando se trata solamente con oxfendazol.

- c) Es posible admitir que en hospedadores inmunológicamente normales la administración de corticosteroides junto con oxfendazol en los tratamientos contra larvas enquistadas de T. spiralis resulta beneficiosa.

## 8.2.- DE LOS TRATAMIENTOS CON TIOXIDAZOL

- 1.- De los resultados obtenidos en las experiencias efectuadas con tioxidazol podemos concluir en primer lugar que la modificación estructural provocada en la molécula base de los benzimidazoles consistente en la sustitución del anillo imidazólico por un núcleo tiazol, no resulta beneficiosa en la quimioterapia de la triquinosis experimental.
  
- 2.- Contra preadultos de T. spiralis, la administración de tioxidazol en dosis únicas orales comprendidas entre 10 y 50 mg/Kg, produce efectos que en ningún caso alcanzan un 50 % de reducción. Cuando dosis de 10, 25 y 50 mg/Kg se administran tres veces consecutivas con intervalos de 12 horas a partir de las 24 horas p.i., los efectos se incrementan en relación a la pauta terapéutica anterior consiguiéndose reducciones de 62,90 %, 67,18 % y 65,91 % respectivamente, no resultando por lo tanto significativamente diferentes desde el punto de vista estadístico ninguna de las tres dosis ensayadas.

- 3.- Cuando se administra tioxidazol en dosis únicas orales comprendidas entre 10 y 50 mg/Kg , contra estados adultos intestinales de T. spiralis , se obtienen reducciones que oscilan entre un 34,40 % para la dosis de 10 mg/Kg y un 56,85% para la dosis de 40 mg/Kg . Estos efectos no se ven incrementados cuando se aplica una terapia sostenida a dosis mayores ya que con 200 mg/Kg/día , en los días 6° y 7° p.i. solamente se obtiene un 55,31 se reducción .
  
- 4.- Tioxidazol administrado a las dosis de 100, 200 y 300 mg/Kg, en los días 13, 14 y 15 p.i., produce respectivamente 1,75%, 3,15 % y 9,47 % de reducción en el número de larvas recuperadas a los 30 días p.i., que al no resultar en ningún caso estadísticamente significativas permiten concluir que el tioxidazol no es eficaz en los tratamientos contra estados parenterales invasivos de T. spiralis .
  
- 5.- Contra larvas enquistadas, la administración de 50, 100 y 200 mg/Kg , de tioxidazol en los días 35, 36 y 37 p.i. produce efectos estadísticamente no significativos a nivel de 0,05 . Sin embargo, los estudios de viabilidad llevados a cabo con las larvas recuperadas después de los tratamientos ponen de manifiesto una cierta acción del tioxidazol sobre las mismas que afecta considerablemente a su capacidad infestante posterior.

### 8.3.- DE LOS TRATAMIENTOS CON MEBENDAZOL

- 1.- De las experiencias llevadas a cabo para la determinación de las dosis mínimas de mebendazol eficaces contra larvas enquistadas de T. spiralis , hemos de concluir que los umbrales de actividad de dicho fármaco se encuentran alrededor de los 5 mg/Kg , puesto que estos niveles pueden todavía estimular el desarrollo del proceso inflamatorio subsiguiente y sus efectos en relación al porcentaje de reducción en el número de larvas y viabilidad de las mismas resultan estadísticamente significativas con una probabilidad del 99 % .
  
- 2.- La inmunosupresión provocada por la administración de ciclofosfamida en los días - 3 y 6° post infestación con T. spiralis en ratón CD-1 , produjo los siguientes efectos;
  - a) En primer lugar pudo apreciarse un notable alargamiento del periodo de permanencia de los vermes adultos en el intestino, iniciándose la autocuración en el día 19° p.i. mientras que en los controles la autocuración se iniciaba ya en el día 7° p.i. .
  
  - b) Como consecuencia de ese notable incremento de la meseta intestinal, se obtuvo una intensa infestación muscular .
  
  - c) Los efectos derivados del tratamiento con mebendazol los días 38, 39 y 40 p.i., en relación a la viabilidad directa de las larvas así como a la localización y composición del infiltrado inflamatorio subsiguiente en los ratones tratados con ciclofosfamida, no difirieron significativamente de los

controles, lo cual, si se admite que la ciclofosfamida a dosis altas actúa fundamentalmente como agente depresor de inmunidad humoral, nos sugiere un papel preponderante de la inmunidad celular en la respuesta desencadenada tras un tratamiento con mebendazol contra larvas enquistadas.

- d) El hecho de que la muerte de prácticamente la totalidad de las larvas ocurre en ambos grupos (controles e inmunosuprimidos), hacia el día 40° p.i., es decir, en el primer día p.t. en que la reacción inflamatoria es todavía periquística, nos lleva a atribuir al fármaco un papel primario en la muerte de las larvas.

3.- De las experiencias de transferencia de células esplénicas y peritoneales desde donantes infestados hasta receptores también infestados e inmunosuprimidos con niridazol durante todo el ciclo biológico, concluimos los siguientes puntos :

- a) Los resultados obtenidos en base al número de larvas muertas y viables recuperadas por digestión péptica de las canales procedentes de los diversos grupos de animales en los días 3° 6° y 9° p.t., permitieron confirmar el éxito de la transferencia.
- b) El hecho de que los resultados encontrados para todos los los grupos experimentales resultaran estadísticamente diferentes de los encontrados para el grupo I , control de infestación, nos indica la eficacia del tratamiento antihelmíntico efectuado.



- c) Cuando se comparan los datos obtenidos del grupo II , control de la acción de mebendazol , con el grupo I , se obtienen efectos claramente superiores para el primero, lo que indica una acción del medicamento antihelmíntico sobre larvas de Trichinella, ya sea solo o en colaboración con las defensas inmunitarias residuales.
  
- d) Los efectos de mebendazol sobre animales sin estimulación alguna fueron significativamente superados por los manifestados en aquellos que previamente recibieron células inmunocompetentes, tanto esplénicas como peritoneales, hecho que nos confirma la eficacia de las transferencias realizadas.
  
- e) El estudio de la evolución histopatológica de las fibras musculares infectadas nos revela que no existen diferencias apreciables ni en la intensidad ni en la naturaleza y composición del infiltrado inflamatorio, entre aquellos ratones inmunosuprimidos tratados con mebendazol y los que previo tratamiento recibieron células inmunocompetentes. Por otra parte, la evolución de las larvas musculares parece no verse afectada por la dinámica del proceso celular seguido en el exámen histopatológico .
  
- f) Este grado de independencia observado entre el estado inmunitario del hospedador y el porvenir de las larvas durante los primeros días siguientes a un tratamiento con mebendazol a dosis antihelmínticas, podría atribuirse a una acción primaria por

parte del antihelmíntico consistente en muerte de la larva y desorganización del quiste lo que estimularía una reacción inflamatoria de tipo hipersensibilidad retardada como consecuencia de la puesta en contacto entre hospedador y antígenos larvarios, mecanismos que finalmente determinarían la resolución del quiste muscular.

264

. IX.- B I B L I O G R A F I A

- AISENBERG, A.C. (1967). Studies on cyclophosphamide induced tolerance to sheep erythrocytes. J. Exp. Med., 125 : 833-837
- ALI KHAN, Z. (1966). The post-embryonic development of Trichinella spiralis with special reference to ecdysis. J. parasit. 52 ; 248-259
- ALIZADEH, H.; WAKELIN, D. (1980). Mechanism of rapid expulsion of Trichinella spiralis from mice. 5th Int. Conf. on Trichinellosis. Abstracts. p. 54
- ALLEN, P.M.; GOTTLIEB, D. (1970). Mechanism of action of the fungicide thiabendazole, 2-(4'-thiazolyl) benzimidazole. Applied Microbiology, 20 : 919-926
- ANDERSON, N.; LORD, V. (1979). Anthelmintic efficiency of Oxfendazole, febendazole and levamisole against naturally acquired infections of Ostertagia ostertagi and Trichostrongylus axei in cattle. Austral. Vet. J., 55 : 158-162
- ARANBULO, P.V.; CABRERA, B.D.; CABRERA, M.G. (1978). The use of mebendazole in treatment of Taenia saginata in an endemic area in the Philippines. Acta Tropica, 35 : 281-286
- ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; REID, J.F.S. (1978). Activity of oxfendazole against inhibited larvae of Ostertagia ostertagi and Cooperia oncophora. Vet. Rec., 102 : 263-264
- ASKANAZY, M. (1895). Zur lehre von der Trichinosis. Virchow Arch. Path. Anat., 141 : 42-71
- ASKENASE, P.W.; HAYDEN, B.J.; GERSHOW, R.K. (1975). Augmentation of delayedtype hypersensitivity by doses of cyclophosphamide which do not affect antibody responses. J. Exp. Med., 141 : 697

- AUBRY, M.L.; COWELL, P.; DAVEY, M.J.; SHEUDE, S. (1970). Aspect of the pharmacology of a new anthelmintic pyrantel. British J. Pharmacol., 38 : 332-344
- AVERKIN, E.A.; BREARD, C.C.; DVORAK, C.A.; EDWARDS, J.A.; FRIED, J.H. KILIAN, J.G., SCHILTZ, R.A. (1975). Methyl 5.(6)-Phenylsulfinyl-2-benzimidazolecarbamate, a new, potent anthelmintic. J. Med. Chem., 18 : 1164-1166
- BANZON, T.C.; SINGSON, C.N.; CROSS, J.H. (1976). Mebendazole treatment for intestinal nematodes in a Philippine barrio. A preliminary report. J. Philip. Med. Assoc., 52 : 239-243
- BARSANTI, J.A.; JONES, B.D.; BAILEY, W.S.; KNIPLING, G.D. (1979). Diagnosis and treatment of peritonitis caused by a larval cestode Mesocestoides spp. in a dog. Corn Vet., 69 : 45-53
- BELL, J.P.; TOMLINSON, R.V. (1976). Metabolites of a New anthelmintic agent oxfendazole. Comunicacion personal.
- BERCHBAUM, M.C.; BROW, I.N. (1963). Prolongation of homograft survival in mice with single doses of cyclophosphamide. Nature, 200 : 84
- BEREZANTSEV, YU, A. (1963). Advances in the study of migration and incapsulation of Trichinella larvae in the organism. Med. Parazit., 32 : 171-176
- BERGER, E.; STAELIN, A. (1928). Studies uber den mechanismus der Trichinelleninfektion. IV. Das Verhalten gelahmter Muskeln. Zbl. Bakt., 108 : 397-401
- BERNTZEN, A. (1965). Comparative growth and development of Trichinella spiralis "in vitro" and "in vivo" with a redescription of the life cycle. Exp. Parasit., 16 : 74-106

- BINA, J.C.; FIGUEIREDO, J.F.M.; BARRETO, A., FILHO.; CARVALHP, F. (1977). Mass treatment with mebendazole of the most common helminthiasis in rural areas with a study of the indices of reinfection. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, 19 : 47-51
- BLAGOU, N.A.; FIRSOV, V.N.; MURAY'EVA, G.S. (1978). Therapeutic activity and toxicity of Vermox (mebendazole) in human nematodes infections. Med Parazit. Parazitar. Bol., 47 : 54-58
- BOCZON, K. (1976). Bioenergetics of Trichinella spiralis larvae and effect of some anthelmintics on succinate dehydrogenase of Trichinella spiralis mitochondria. In Biochemistry of parasites and host-parasites relationships. Ed. Van den Bossche H. Elsevier, North-Holland Biomedical Press Amsterdam, pp. 589-597
- BOL'SHAKOVA, G.M.; LEIKWA, E.S. (1977). Cellular and humoral immunity responses before and after chemotherapy in white mice infected with hydatid (Echinococcus multilocularis). Medit. Parazit. Parazitar. Bolez. 46 : 176-181
- BOLT, W.; RITZL, F.; TOUSSAINT, R.; NAHARMANN, H. (1961). Verteilung und Ausscheidung eines cystostatisch wirkenden mit tritium markierten N-Lost-Derivatives beim krebserkrankten Menschen. Arzneimittel-Forsch., 11 : 171-175
- BORGERS, M.; DE MOLLIN, S.; DE BRABANDER, M.; THIENPONT, D. (1975a). Influence of the anthelmintic mebendazole on microtubules and intracellular organelle movement in nematode intestinal cells. Am. J. Vet. Res., 36 : 1153-1166

- BORGERS, M.; DE NOLLIN, S.; VERHEYEN, A.; DE BRABANDER, M.; THIEN-PONT, D. (1975b). Effects of new anthelmintics on the microtubular system of parasites. In Microtubules and Microtubules inhibitors. Ed. Borgers M. and De Brabander, M., North Holland Publishing Company, Amsterdam. pp. 497-508
- BORGSTEEDE, F.H.M. (1977). A field trial with a new anthelmintic oxfendazole in naturally infected calves. Tij. Dierg., 102 : 109-112
- BOUREE, P.; CAZIN, A.; KOUCHNER, G. Le fluoromebendazole : Nouvel antihelminthique a large spectre. 4th. Int. Congr. Parasitol. Warsaw. Poland. Abstracts Section D. pp.26
- BOYD, E.; HUSTON, E. (1954). The distribution, longevity and sex ratio of Trichinella spiralis in hamsters following an initial infection. J. Parasitol., 40 : 686-690
- BOYD, W.P.Jr.; CAMPBELL, F.W.; TRUDEAU, W.L. (1978). Stongyloides stercolaris hyperinfection. Amer. J. Trop. Med. and Hyg., 27 : 39-41
- BRANDT, J.; AGUILERA, R.; RODRIGUEZ, J. (1976). Action of mebendazole and levamisole against Stephanurus dentatus. Rev. CENIC Ciencias Biológicas, Cuba, 7 : 91-101
- BRITOV, V. (1962). The diagnostic significance of age changes in the larvae and capsules of Trichinella spiralis. Veterinarya, 4 : 41-44
- BROCK, N. (1967). Pharmacologic characterization of cyclophosphamide (NSC-26271) and cyclophosphamide metabolites. Cancer Chemother. Rep., 51 : 315-325

- BROWN, N.; HOLLINSHEAD, D.; KINGBURY, P.; MALONE, S. (1962). A new class of compounds showing anthelmintic properties. Nature, 194 : 379
- BRUCE, R.G. (1970). The structure and composition of the capsule of Trichinella spiralis in host muscle. Parasitology, 60 : 223-227
- BRUCE, R.G. (1970a). The structure and development of the capsule of Trichinella spiralis. J. Parasit., 56 : 36-39
- BRUCE, R.G. (1980). Kinetics of epithelial cells, intra-epithelial lymphocytes and mast cells in mice during enteral infection with Trichinella spiralis. Fifth int. Conf. Trichinellosis. Abstracts. pp. 62
- BRYANT, C.; CORNISH, R.A.; RAHMAN, M.S. (1976). Adenine nucleotides as indicator of anthelmintic efficacy. In biochemistry of Parasites and Host parasite relationships. Ed. Van den Bossche, H.; Elsevier, North-Holland Biomedical Press, Amsterdam. pp. 599-604
- BUNNAG, C.; HARINASUTA, T.; VASUAT, C.; VISUTHIKOSOL, Y.; VITHYANONT, C.; CHULAJATA, N. (1978). Clinical trial of mebendazole on whipworm and hookworm. J. Med. Assoc. Thailand, 61 : 319-322
- BUYS, J.; RUITENBERG, E.J.; BURGER, M.G.; TEPPEMA, J.S.; ELGERSMA, A. (1980). A role for eosinophil-depleted cell fractions from peritoneal exudate and Bone-marrow on the adherence and stage-specific killing of Trichinella spiralis. Fifth Int. Conf. Trichinellosis. Abstracts, pp. 65



- EALABRESI, P.; WELCH, A.D. (1962). Chemotherapy of neoplastic diseases. A. Rev. Med., 13 : 147-202
- CAMPBELL, W.C.; BLAIR, L.S. (1974). Chemotherapy of Trichinella spiralis infections (A review). Exp. Parasitol., 35 : 304-334
- CAMPBELL, W.C.; CUCKLER, A.C. (1964). Effect of thiabendazole upon the enteral and parenteral phase of trichinosis in mice. J. Parasitol., 50 : 481-488
- CAMPBELL, W.C.; CUCKLER, A.C. (1966). Further studies on the effect of thiabendazole on trichinosis in swine with notes on the biology of the infection. J. Parasitol., 52 : 260-279
- CASTRO, G.A.; COTTER, M.V.; FERGUSON, J.D.; GORDEN, C.W. (1973). Trichinosis : Physiologic factors possibly altering the course of infection. J. Parasitol., 59 : 268-276
- CERFONTAINE, P. (1895). Contribution a l'etude de la trichinose. Arch. Biol., 13 : 125-145
- CHALMERS, K. (1978). The efficacy of oxfendazole against natural infections of cattles. New Zealand. New Zealand Vet. J., 26 : 162-164
- CHALMERS, K. (1979). The efficacy of oxfendazole against naturally acquired Dictyocaulus spp. in sheep and cattle. New Zealand Vet. J., 27 : 8-13
- CHANDLER, A.; ALICATA, J.; CHITWOOD, M. (1941). Life history (Zoo-parasitica). II. Parasites of vertebrates. Chapter VI. In An Introduction to Nematology. Chitwood B. and M. Eds., Babylon, N.Y., Section II, pp. 267-301

- CHEVIS, R.A.F.; KELLY, J.D. (1978). The anthelmintic activity of some benzimidazole derivatives against Fasciola hepatica. New Zealand Vet. J., 26 : 218-220
- CHITWOOD, B.G.; CHITWOOD, M.D. (1933). The histological anatomy of Cephalobellus papilliger Cobb 1920. Ztschr. Zellforsch 19 : 308-355
- CHO, S.Y.; AHN, Y.R.; RYANG, Y.S.; SEO, B.S. (1977). Evaluation of anthelmintic treatment of E. vermicularis infection in highly endemic population by prolonged observation. Korean J. Parasitol., 15 : 100-108
- CHRISTENSON, R. (1927). The sex ratio of adult Trichinae. Science, 66 : 259
- CLAYTON, H.M.; NEAVE, R.M.S. (1979). Efficacy of mebendazole against Dictyocaulus arnfieldi in the donkey. Vet. Rec., 104 : 571-572
- COLES, G.C. (1975). Fluke biochemistry-fasciola and Schistosoma. Helminth. Abs., 44a : 147-162
- COLES, G.C. (1977). The biochemical mode of action of some modern anthelmintic. Pest. Sci., 8 : 536-543
- COLES, G.C.; EAST, J.M.; JENKINS, S.N. (1975). The mechanism of action of the anthelmintic levamisole. General Pharmacol., 6 : 309-313
- COLES, G.C.; SIMPKIN, K.G. (1977). Resistance of nematode eggs to the ovicidal activity benzimidazoles. Res. Vet. Sci., 22 : 386-387

- COLES, G.C.; McNEILLIE, R.M. (1977). The response of nematodes " in vivo " and " in vitro " to some anthelmintics. J. Helminthol., 51 : 323-326
- COLGLAZIER, M.L. (1979). Critical anthelmintic trials in ponies with oxfendazole and caviophos and concomitant studies on the spontaneous elimination of small strongylids. Am. J. Vet. Res., 40 : 384-386
- COLGRAZIER, M.L.; ENZIE, F.D.; KATES, K.C. (1977). Critical anthelmintic trials in ponies with four benzimidazoles : mebendazole, cambendazole, febendazole and albendazole. J. Parasitol., 63 : 724-727
- CONNORS, T.A. (1975). Mechanism of action of 2-chloroethylamine derivatives, sulfur mustars, epoxides and aziridines. In Antineoplastic and Immunosuppressive Agents, Part II. Eds. Springer-Verlag, Berlin. pp. 18-34
- CORVA, J.; CERMAN, J.; SPALDONOVA, R. (1977). Dynamics of circulating antibodies against Trichinella spiralis after application of anthelmintics. Folia Parasitologica, 24 : 135-139
- CORWIN, R.M. (1977). Critical evaluation of oxfendazole as a swine anthelmintic. Am. J. Vet. Res., 38 : 465-467
- CORWIN, R.M.; KENNEDY, J.A.; PRATT, S.E. (1979). Dose titration of oxfendazole against common nematodes of swine. Am. J. Vet. Res., 40 : 297-298
- CULBERTSON, J.T. (1938). Recent contributions to the immunology of helminthic infections. Arch. Rath., 25 : 85-117

- CYPESS, R.; LARSH, J.E.Jr. (1970). The macrophage inhibition assay (MIA) as an "in vitro" correlate of delayed hypersensitivity (DH) in mice sensitized to Trichinella spiralis antigen (s). J. Parasitol., 56 : 64-65
- CYPESS, R.; LARSH, J.E.Jr.; PEGRAM, S. (1971). Macrophage inhibition produced by guinea pigs after sensitization with a larval antigen of Trichinella spiralis. J. Parasitol., 57 : 103-106
- DANIELS, J.C. ; WARREN, K.S.; DAVID, J.R. (1975). Studies on the mechanism of suppression of delayed hypersensitivity by the antischistosomal compound niridazole. J. Immunol., 105 : 1414-1421
- DAVISE, L.C. (1975). Antimitotic activity of methylbenzimidazole-2, y 1-carbamate in fungi and its binding to cellular protein. In Microtubules and Microtubules inhibitors. Eds. Borgers M and De Brabender, M. North-Holland Publishing Company. Amsterdam. pp.483-495
- DAVISE, L.C. (1976). The antimitotic properties of the benzimidazole fungicide carbendazin and a mechanism of resistance to this compound on Aspergillus nidulans. Doctoral Thesis, Landbouwhoges school Wageningen.
- DAVISON, R.P. (1979). Evaluation of mebendazole for the treatment of trichuriasis. Med. J. Austr., 1 : 401-403
- DELATOUR, P.; DEBROYE, J.; LORGUE, G.; COURTOT, D. (1977). Experimental embryotoxicity of oxfendazole in rat and sheep. Recue. Med. Vet., 153 : 639-645

- DE BRABANDER, M.; VAN DE VEIRE, R.; AERTS, F.; GEVENS, G.; BORGERS, M.; DESPLENTER, L.; DE CREE, J. (1975). On-codazole (R-17934) : a new anticancer drug interfering with microtubules. Effects on neoplastic cells cultured " in vitro " and " in vivo ". In-Microtubules and Microtubules inhibitors. Eds. Borgers, M. and De Brabander, M. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, pp. 509-521
- DENHAM, D.; MARTINEZ, A. (1970). Studies with methyridine and Trichinella spiralis. 2. The use of the drug to study the rate of larval production in mice. J. Helminthol., 44 : 357-363
- DENHAM, D.; SUSWILLO, R.R.; ROGERS, S. (1978). Studies with Brugia pahangi 19. Anthelmintic effects of mebendazole. Transac. Royal. Soc. Trop. Med. Hyg., 72 : 546-547
- DE NOLLIN, S.; VAN DEN BOSSCHE, H. (1973). Biochemical effects of mebendazole on Trichinella spiralis larvae. J. Parasitol., 59 : 940-976
- DE NOLLIN, S.; BORGERS, M.; VANPARISS, O.; VAN DEN BOSSCHE, H. (1974). Effects of mebendazole on the encysted phase of Trichinella spiralis in the rat in electron microscope study. Parasitology, 69 : 55-62
- DESPOMMIER, D.D. (1971). Immunogenicity of the newborn larva of Trichinella spiralis. J. Parasitol., 57 : 531-534
- DESPOMMIER, D.D. (1975). Adaptative changes in muscular fibres infected with Trichinella spiralis. Am. J. Pathol., 78 : 477-484

- DISSANAIKE, A.S. (1978). A comparative trial of oxantel-pyran-  
tel and mebendazole in multiple helminth infection  
in school children. Drugs, 15 : 11-15
- DOERR, R.; SCHIMDT, G.W. (1929a). Studies uber den mechanismus  
der Trichinelleninfektion. VI. Die Besiedelungs-  
dichte der quergestreiften Muskeln und ihre Abhsn-  
gigkeit von der Einsehaltung der Trichininembryo-  
nen in den Blutkreislanf. Zbl. Bakt., 113 : 271-277
- DOWNEY, N.E. (1976). Evaluation of oxfendazole against natural  
infections of gastro-intestinal nematodes and lung  
worm in calves. Vet.Rec., 99 : 267-270
- DOWNEY, N.E. (1977). Controlled trials of the anthelmintic ox-  
fendazole in ewes and lambs naturally infected with  
gastrointestinal nematodes. Vet. Rec., 101 : 260-263
- DRUDGE, J.H.; LYONS, E.T.; TOLLIVER, S.C. (1979). Benzimidazole  
resistance of equine strongyles. Critical test six  
compounds against population B. Am. J. Vet. Res.,  
40 : 590-594
- DUNCAN, J.L.; ARMOUR, J.; BAIRDEN, K.; JENNINGS, F.W.; URQUHART,  
G.M. (1976). The successful removal of inhibited  
fourth stage Ostertagia ostertagi larvae by fenben-  
dazole. Vet. Rec., 98 : 342
- DUNCAN, J.L.; REID, J.F.S. (1978). An evaluation of the efficacy  
of oxfendazole against the common nematode parasi-  
tes of the horse. Vet. Rec., 103 : 332-334
- DUWEL, D. (1977). The activity of Panacur on the immature cattle  
nematodes. Blanen Hefte fur den Tierarzt, 59 :  
459-464

- ECKERT, J.; ANNEN, J.; BARANDUNG, G. (1977). Research on the chemotherapy of echinococcosis. Trop. und Parasitol., 28 : 274-275
- EDNEY, J.; ARBOGAST, F.; STEPP, J. (1953). Productivity in gravid Trichinella spiralis (Owen, 1835) transplanted into laboratory rats. J. Teen. Acad. Sci., 28 : 62-68
- EVANS, W.S.; GRAY, B.; NOVAK, M. (1979). Effect of mebendazole on the larval development of three hymenolepidid cestodes. J. Parasitol., 65 : 31-34
- FAIRLEY, G.H.; SIMISTER, J.M. (1965). Cyclophosphamide. Eds. Fairley, G.H. and Simister, J.M. The Williams and Wilkins CO., Baltimore.
- FASSKE, E.; THEMANN, H. (1961). Elektronenmikroskopische Befunde an der Muskelfasernach Trichinenbefall. Virchow's Arch. Path. Anat. Physiol., 334 : 459-474
- FERNANDO, S.S.E.; DENHAM, D.A. (1976). The effects of mebendazole and fenbendazole on Trichinella spiralis in mice. J. Parasitol., 62 : 874-876
- GEMMELL, M.A.; JOHNSTONE, P.D.; OUDEMANS, G. (1977). The lethal effect of some benzimidazoles on Taenia hydatigena in dogs. Res. Vet. Sci., 23 : 115-116
- GEMMELL, M.A.; JOHNSTONE, P.D.; OUDEMANS, G. (1979). The effect of oxfendazole on Echinococcus granulosus and Taenia hydatigena in dogs. Res. Vet. Sci., 26 : 389-390

- GIRANDO, L.C.; BRAUN, M.; BACHMANN, A.L. (1973). Maduración de los linfocitos T y B . Acta Fisiol. Lat. Amer., XXIII, 371 .
- GITSU, G.A.; KROTOV, A.I. (1978). The efficacy of mebendazole in experiment opistorchiasis of golden hamsters (Preliminary Communication). Med. Parazit. Parazitar. Bolezni, 47 : 114-115
- GOLDSMID, J.M.; ROGERS, S. (1976). Studies on the diagnosis and treatment of human filariasis in Rhodesia. South African Med. J., 50 : 1129-1132
- GOLDSMID, J.M.; ROGERS, S. (1979). A preliminary study of the treatment of filariasis due to Dipetalonema pers-  
tans. Central African J. of Medicine, 25 : 51-52
- GOODMAN, L.S.; GILMAN, A. (1975). The pharmacological Basis of Therapeutics. Fifth Ed. Macmillan Publishing CO., New York. pp. 1254-1307
- GORE, R.W.; BURGER, H.J.; SADON, E.H. (1972). Humoral and cellular factors in the resistance of rats to Trichinella spiralis. Proc. 3rd. Conf. on Trichinellosis. Florida, U.S.A
- GORE, R.W.; BURGER, H.J.; SADON, E.H. (1974). Humoral and cellular factors in the resistance of rats to Trichinella spiralis. In Trichinellosis : Ed. Kim C.W., Intext. Educational Publishers. New York, pp. 367-382
- GORODNER, J.D.; GORODNER, A.H.; NAVARRO, E. (1977). Therapeutic action of mebendazole in hookworm infection and enterobiasis. Medicina, Buenos Aires, 37 : 389-392



GOULD, S.E. (1945). Trichinosis. Springfield, Illinois, Charles C. Thomas. pp. 358 .

GOULD, S.; GOMBERG, H.; BETHELL, F.; VILLELA, J.; HERTZ, C. ( 1955). Studies on Trichinella spiralis. I to V. Amer. J. Pathol., 31 : 933-963

GOULD, S.; GOMBERG, H.; VILLELA, J.; HERTZ, C. (1957). Studies on Trichinella spiralis , IV. Effect of cobalto-60 and X-ray on morphology and production. Amer. J. Pathol., 33 : 79-105

GOULD, S. (1970). Trichinosis in Man and Animals. Springfield, Illinois Charles C. Thomas, pp. 539

GOULD, S.E. (1971). The story of Trichinosis. Amer. J. Clin. Pathol., 55 : 2

GRAHAM, J. (1897). Beitrage zur Naturgeschichte der Trichinella spiralis . Arch. Mikro Anat., 50 ; 219-275

GROVE, D.I.; WARREN, K.S. (1976). Effects on murine trichinosis of niridazole, a suppressant of cellular but not humoral immunological responses. Ann. Trop. Med. and Parasitol., 70 : 449-453

GUERRERO, J. (1978). Telmintic (mebendazole) powder. A new broad spectrum anthelmintic for canine use. Prac. Vet., 49 : 15-17

GURSCH, O. (1949). Intestinal phase of Trichinella spiralis (Owen, 1835, Railliet, 1895). J. Parasitol., 35: 19-26

- HALL, W.J.; McGABE, W.B. (1967). Report of a small outbreak with observations of thiabendazole therapy. Arch. Int. Medicine, 119 : 65
- HART, R.J.; LEE, R.M. (1966). Cholinesterase activities of various nematode parasites and their inhibition by the organophosphate anthelmintic haloxon. Exp. Parasitol., 7 : 129-134
- HASS, D.K.; COLLINS, J.A. (1976). Comparative anthelmintic efficacy in dogs treated with vincofos, tricarbodine or mebendazole. Proc. Helminthol. Socie. Washington, 43 : 135-137
- HEATH, D.D.; LAWRENCE, S.B. (1979). A single oral treatment with mebendazole for the control of Taenia crassiceps larval infections in rats. Int. J. Parasitol., 73-76
- HELLER, M. (1933). Entwickelt sich die Trichinella spiralis in der Darmlichtung ihres wirtes. Z. Parasitenk., 5 : 370-392
- HEMMERT-HALSWICK, A.; BUGGE, G. (1934). Trichinen und Trichinose. Ergb. Allg. Path., 28 : 313-392
- HILL, D.L., LASTER, W.R., STRUCK, R.F. (1972a). Enzymatic metabolism of cyclophosphamide and nicotina and production of a toxic cyclophosphamide metabolites. Cancer Res., 32 : 658-665
- HORCHNER, F.; LANGNES, A.; OGUZ, T. (1977). The efficacy of mebendazole and praziquantel on larval taeniids from mouse, rabbit and pig. Trop. und Parasitol., 28 : 44-50

- JACQUELINE, E.; VERNES, A.; BIGUET, J. (1978a). Trichinella spiralis : Facteurs Immunitaires inhibiteurs de la production de larves. I. Mise en evidence " in vivo " et " in vitro " chez le souris. Exp. Parasitol., 45 : 34-41
- JACQUELINE, E.; VERNES, A.; BOUT, D.; BIGUET, J. (1978b). Trichinella spiralis : Facteurs Immunitaires inhibiteurs de la production de larves. II. Première analyse " in vitro " des facteurs humoraux et secretoires actifs chez la souris, le rat et le miniporc infestes on immunises. Exp. Parasitol., 45 : 42-54
- JAMES, E.R.; DENHAM, D.A. (1975). Immunity to Trichinella spiralis. IV. The specificity of the immune response stimulated by the intestinal phase. J. Helminth., 49 : 43-47
- JARCZEWSKA, K.; GORNY, M.; ZEROMSKI, I. (1974). Immunological studies of rat skeletal muscles in the course of Trichinella spiralis infection treated with thia-bendazole. Proc. 3rd. Int. Conf. Trichin. Florida.
- JONES, B.M.; BIRD, M.; GRIFFIN, P.J.A.; MASSEY, P.R.; MILLAR, D.A.; MILLER, J.J.; REEVES, S.; SALAMAN, J.R. (1979). Inhibition of the mixed lymphocytes reaction by fractionated niridazole urine dialysate. J. Immunol., 123 : 143-145
- KABA, A.S.; LUVWEZO, M.; NZUZI, K.; THIENPONT, D. (1978). Periodic anthelmintic treatment of school-children in Zaire. Ann. Soc. Belge de Med. Trop., 58 : 241-249

- KAMMERER, W.S.; JUDGE, D.M. (1976). Chemotherapy of hydatid disease (Echinococcus granulosus) in mice with mebendazole and bithionol. Am. J. Trop. Med. and Hyg., 25 : 714-717
- KAPPAS, A.; GEORGOPOULOS, S.G.; HASTIE, A.C. (1974). On the genetic activity of benzimidazole and thiophanate fungicides on diploid Aspergillus nidulans. Mutation Res., 26 : 17-27
- KARMANSKA, K.; FAL, W.; MICHALSKA, Z.; MARTYNOWICZ, T. (1976). Studies on the role of plasma Kinins in expulsion of Trichinella spiralis adults. The influence of proteasa inhibitor Trascolan on the course of experimental trichinellosis in mice. Acta Parasit. Polonica, 24 : 81-91
- KARMANSKA, K.; MICHALSKA, Z. (1977). Influence of combined action of histamine and theophylline on mast cells antibody-bearing cells and parasites in the course of experimental trichinellosis in mice. Wiad. Parazyt., 26 : 745-755
- KARMANSKA, K.; MICHALSKA, Z. (1978). B and T Lymphocytes in the course of experimental trichinellosis in mice. Acta Parasitol. Polonica, 25 : 191-198
- KARMANSKA, K. (1980). The eosinophiles in experimental trichinellosis in mice. Fifth Int. Conf. on Trichinellosis Abstracts, pp. 67
- KATZ, S.I.; PARKER, D.; TURK, J.L. (1974). B cells suppression of delayed hypersensitivity reactions. Nature, 251: 550

- KAY, A.B. (1977). The eosinophil leucocyte, formation, function and fate . In " Inmunity in Parasite Diseases " . Ed. INSERM, Paris, 72 : 201-215
- KAZURA, J.W.; GROVE, D.I. (1978). Stages-specific antibody-dependent eosinophil-mediated destruction of Trichinella spiralis. Nature, 274 : 588-589
- KEELING, J.E.D.; BURREN, C.H. (1978). Examination of benzimidazole anthelmintics in a multi-species test system. 4th. Int. Cong. Parasitol. Abstracts (Section D). Poland, pp. 40
- KELLY, J.D.; OGILVIE, B.M. (1972). Intestinal mast cell and eosinophil numbers during worm expulsion in multiparous and lactating rats infected with Nippostrongylus brasiliensis. Int. Arch. Allergy., 43 : 497-509
- KIM, C. (1962). Further study on the " in vitro " cultivation of Trichinella spiralis . Am. J. Trop. Med, Hyg., 11 ; 491-496
- KINGSBURY, P.A. (1978). Observation on the anthelmintic activity of oxfendazole against nematode and tapeworm infestations in sheep. 4th. Int. Cong. Parasitol. Abstracts (Section D), Warsaw, Poland. pp. 48
- KISTNER, T.P.; WYSE, D. (1978). Efficacy of oxfendazole against an ovine isolate of benzimidazole resistant Haemonchus contortus. Austral. Vet. J., 54 : 469-470
- KISTNER, T.P.; WYSE, D.; SCHILTZ, R.A.; AVERKIN, E.; CARY, A. (1979). A dose titration study with oxfendazole against naturally acquired helminths in sheep. Vet Parasit., 5 : 195-204

- KISTNER, T.P.; WYSE, D.; AVERKIN, E.A. (1979). Efficacy of oxfendazole against inhibited Ostertagia ostertagi in naturally infected cattle. Austral. Vet. J., 55 : 232-235
- KOCIEKA, W. (1971). Behaviour of Trichinella spiralis larvae with animals treated by thiabendazole and hydrocortisone. Wiad. Parazit., 17 : 625-639
- KOHLER, P. (1978). The effect of the antiparasitic drugs levamisole, thiabendazole, praziquantel and chloroquine on mitochondrial electrontransport of muscle tissue from Ascaris suum. Molecular Pharmacology ( in press).
- KOLB, J.B.; POUPON, M.M.; LESPINATS, G.M.; SABOLOVIC, D.; LOISILLIER, F. (1977). Splenic modifications induced by cyclophosphamide in  $C_3H / H_e$ , Nude and " B " mice. J. Immunol., 118 : 1595-1599
- KOVROVA, E.A.; FROL'TSOVA, A.E.; LEIKINA, E.S.; KROTOV, A.I. (1979). The effect of the intraperitoneal introduction of mebendazole on the immune response reaction of mice with experimental multilocular hydatidosis. Medits. Parazit. Parazitar. Bolez., 48 : 78-82
- KOZAKIEWICZ, B. (1976). Studies on the efficacy of mebendazole in the treatment of trichuriasis in dogs. Medycyna Weterynaryjna, 32 : 293-295
- KOZAR, Z.; KOZAR, M. (1960). Influence of muscular work and other factors on the course of the invasion of Trichinella spiralis. Wiad. Parazit., 6 : 363-366

- KOZAR, Z.; KARMANSKA, K.; KOTZ, J.; SENIUTA, R. (1971).  
The influence of antilymphocytic serum (ALS)  
on the course of Trichinellosis in mice. I.  
Histological, histochemical, and immunohistolo-  
gical changes observed in the intestines. Wiad  
Parazit., 17 : 541-548
- KOZEK, W. (1971a). The molting pattern in Trichinella spiralis.  
I. A lighth microscope study. J. Parasitol., 57 :  
1015- 1028
- KOZEK, W. (1971b). The molting pattern in Trichinella spiralis.  
II. An electron microscope study. J. Parasitol.,  
57 : 1029-1038
- KREIS, H.A. (1973). Die Entwicklung der Tricinnellen zum reifen  
Geschlechtstier in Darne des Wirtes. Zbl. Bakt.,  
138 : 290-302
- KROTOV, A.I.; FROL'TSOVA, A.E.; DZHABAROVA, V.I.; TRET'YAKOV,  
S.A.; EGOROVA, G.G. (1978). Experimental theraphy  
of multilocular hydatidosis (communication VI).  
The effect of the size of mebendazole particles  
on its toxicity and its efficacy in laboratory  
animals at different modes of administration.  
Medit. Parazit. Parazitar. Bolez., 47 : 48-50
- LACLETTE, J.P.; GUERRA, G.; CANEDO, L. (1978). On the mechanism  
of action of mebendazole. 4th. Int. Cong. Parasitol  
Abstracts (Section D) . Warsaw. Poland. pp. 12
- L'AGE-STEHR, J.; DIAMANTSTEIN, T. (1978). Induction of autoPreac  
tive T lymphocytes and their suppressor cells by  
cyclophosphamide. Nature, 271 : 663-665

LAL, J.; SUBRAMANIAN, G.; SABIR, M. (1977). A note on the "invivo" effect of mebendazole on developmental stages of Ascaridia galli-schrank. Ind. J. anim. Sci., 45 : 807-808

LANCASTER, M.B.; HONG, C. (1977). Action of febendazole on arrested fourth stage larvae of Ostertagia oster-tagi. Vet. Rec., 101 : 81-82

LANCASTER, F.; MOUGEOT, G.; BAZIN, J.C.; DEPERNET, D. (1971). Trichinose experimentale (2<sup>e</sup> note) : longevité et distribution des trichines adultes chez les souris normales et immunotolerantes. Ann. Parasitol. Hum. Comp., 46 : 709-718

LARSH, J.E.Jr.; RACE, G.J. (1954). A histopathologic study of the anterior small of immunized and non-immunized mice infected with Trichinella spiralis. J. Infect. Dis., 94 : 262-272

LARSH, J.E.Jr.; RACE, G.J.; JEFRIES, W.B. (1956). The association in young mice of intestinal inflammation and the loss of adult worms following initial infection with Trichinella spiralis. J. Infect. Dis., 99 : 63-71

LARSH, J.E.Jr.; RACE, G.J.; GOULSON, H.T. (1959). A histopathologic study of mice immunized with irradiated larvae of Trichinella spiralis. J. Infect. Dis., 104 : 156-163

LARSH, J.E.Jr.; RACE, G.J.; YARINSKY, A. (1962). A histopathologic study in mice immunized against Trichinella spiralis and exposed to total-body X-irradiation. Am. J. Trop. Med. Hyg., 11 : 633-640



- LARSH, J.E.Jr.; GOULSON, H.T.; WEATHERLY, N.F. (1964a). Studies on delayed (cellular) hypersensitivity in mice infected with Trichinella spiralis. I. Transfer of lymph node cells. J. Elisha Mitchell Scient. Soc., 80 : 133-135
- LARSH, J.E.Jr.; GOULSON, H.T.; WEATHERLY, N.F. (1964b). Studies on delayed (cellular) hypersensitivity in mice infected with Trichinella spiralis. II. Transfer of peritoneal exudate cells. J. Parasitol., 50 : 496-498
- LARSH, J.E.Jr.; RACE, G.I.; GOULSON, H.T.; WEATHERLY, N.F. (1966). Studies on delayed (cellular) hypersensitivity in mice infected with Trichinella spiralis. III. Serologic and histopathologic findings in recipients given peritoneal exudate cells. J. Parasitol., 52 : 146-156
- LARSH, J.E.Jr.; GOULSON, H.T.; WEATHERLY, N.F.; CHAFFEE, E.F. (1969). Studies on delayed (cellular) hypersensitivity in mice infected with Trichinella spiralis. V. Test in recipients injected with donor spleen cells, 1,3,7,14 or 21 day before infection. J. Parasitol., 56 : 978-981
- LARSH, J.E.Jr.; GOULSON, H.T.; WEATHERLY, N.F.; CHAFFEE, E.F. (1970b). Studies on delayed (cellular) hypersensitivity in mice infected with Trichinella spiralis. VI. Results in recipients injected with antiserum or "freeze-thaw" spleen cells. J. Parasitol., 56 : 1206-1209

- LARSH, J.E.Jr.; WEATHERLY, N.F.; GOULSON, H.T.; CHAFFEE, E.F. (1972). Studies on delayed (cellular) hypersensitivity in mice infected with Trichinella spiralis. VII. The effect of ATS injections on the numbers of adults worms recovered after challenge. J. Parasitol., 58 : 1052-1060
- LARSH, J.E.Jr.; WEATHERLY, N.F. (1974a). Studies on delayed (cellular) hypersensitivity in mice infected with Trichinella spiralis. IX. Delayed sensitivity sensitized donors. J. Parasitol., 60 : 93-98
- LARSH, J.E.Jr.; WEATHERLY, N.F. (1975). Cell-Mediated Immunity against certain Parasitic worms. Adv. Parasitol., 13 : 197
- LE JAMBRE, L.F. (1979). Effectiveness of anthelmintic treatment against levamisole-resistant Ostertagia. Austr. Vet. J., 55 : 65-67
- LEONARD, A.; VANDESTEENE, R.; MARSBOON, R. (1974). Mutagenicity test with mebendazole in the mouse. Mutat. Res., 26 : 427-430
- LERMAN, S.P.; WEIDANZ, P.W. (1970). The effect of cyclophosphamide on the ontogeny of the humoral immune response chickens. J. Immunol., 105 : 614-619
- LEUCKART, R. (1866). Untersuchungen über Trichinella spiralis. Zngleich ein Beitrag zur kenntnis der wurmkrankeiten, Leipzig, Winter, pp. 120
- LORIA, C.R.; LIZANO, M.C.; PEÑA, C.A.; VILLAVICENCIO, P.N.; CALZADA, C.L.D. (1977). Experiencia con mebendazol en niños con helmintiasis múltiple. Acta Médica Costarricense, 20 : 120-125

- LOVE, R.T.; OGILVIE, B.M.; MCLAREN, D.J. (1976). The immune mechanism which expels the intestinal stage of Trichinella spiralis from rats. Inmunol., 30 : 7-16
- LUPASCU, G.; CIRONEAU, I.; HACIG, A.; PAMBUCCIAN, G.; SIMONESCU, O.; SOLOMON, P.; TINTAREAU, J. (1970). Trichinellosa. Ed. Acad. Rep. Soc. Romania. pp. 246
- LUR'E, A.A.; SOPRUNOVA, N.YA.; KROTOV, A.I. (1978). Study of the distribution and excretion of mebendazole in white mice with experimental hydatidosis. Medit. Parazit. Parazitar. Bolez., 47 : 59-62
- MACHNICKA, B. (1972). Trichinella spiralis : Influence of anti lymphocytic serum on mouse infections. Exp. Parasitol., 31 : 172-177
- MAHAMOUD, A.A.F.; WARREN, K.S. (1974). Anti-inflammatory effects of tartar emetic and niridazole suppression of schistosoma egg granuloma. J. Immunol., 112 : 222-228
- MAHAMOUD, A.A.F.; MANDEL, M.A.; WARREN, K.S.; WEBSTER, L.T. Jr. (1975). Niridazole. II. A potent long acting suppressant of cellular hypersensitivity. J. Immunol., 114 : 279-283
- MALKIN, M.F.; CAMACHO, R.M. (1972). The effect of thiabendazole on fumarate reductase from thiabendazole-sensitive and resistant Haemonchus contortus. J. Parasitol., 58 : 845-846
- MARSBOOM, R. (1973). Toxicological studies on mebendazole. Toxicol. App. Pharmacol., 24 : 371-377

- MARTINEZ FERNANDEZ, A.R. (1965). Investigaciones sobre la eficacia de la methiridina y del thiabendazol sobre Trichinella spiralis. An. Fac. Vet. León, 11 : 127-220
- MARTINEZ FERNANDEZ, A.R. (1978). Algunos efectos de los corticosteroides sobre el ciclo endógeno de Trichinella spiralis. Trab. Comp. Biol., 7 : 183-217
- MARTINEZ FERNANDEZ, A.R.; BOEV, S.N.; SANMARTIN, M.L.; BARCENA, F.; ARIAS, C. (1978). Presencia en España de Trichinella nelsoni (Britov y Boev, 1972). 2ª Rev.An. Parasitol. Españ., Abstracts, pp. 56
- MARTINEZ FERNANDEZ, A.R.; SANMARTIN DURAN, M.L.; TORO ROJAS, M. RODRIGUEZ CAABEIRO, F. (1980). Efecto de mebendazol sobre larvas enquistadas de Trichinella spiralis. II. Modificaciones histopatológicas ocasionadas por Prednisona. Rev. Iber. Parasitol, 40 : 203-221
- MASON, P.C.; HODKINSON, N.L.; MCALLUM, H.J.F. (1978). Acuaria skrjabini (Ozevska, 1962) in a caget finch. New Zeal. Vet. J., 26 : 131-132
- MATOFF, K. (1937). Der mechanism der altersimmunitat des hundes gagandie Trichinellen infektion. Tierarztl. Rundsch., 43 : 354-359
- McCALL, J.W.; CROUTHAMEL, H.H. (1976). Prophylactic activity of mebendazole against Dirofilaria immitis in dogs. J. Parasitol., 62 : 844-845
- McCOY, O.R. (1963). The course of experimental trichiniasis infection in rats. J. Parasitol., 18 : 123

- MCCOY, O.R. (1932). Experimental trichiniasis infections in monkeys. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 30 : 85-86
- MCCRACKEN, R.O. (1978). Efficacy of mebendazole and albendazole against Trichinella spiralis in mice. J. Parasit., 64 : 214-219
- MCCURDY, H.D.; SHARP, M.L.; SWEENEY, W.T. (1976). Evaluation of mebendazole in a past formulation in the horse. Vet. Med. Small Anim. Clinician, 71 : 97-100
- McMANUS, S.; MOWRY, R. (1968). Técnicas Histológicas. Atika, S.A. Madrid.
- MEEROVITCH, E. (1965). Studies on the "in vitro" axenic development of Trichinella spiralis. I. Basic cultures techniques, pattern of development, and the effects of the gaseous phase. Can. J. Zool., 43 : 69-70
- MERDIVENCI, A.; BATALPA, I.; SAMASTI, M. (1977). Investigation on the treatment of hymenolepidiasis with mebendazole in rural areas. First Mediterr. Con. Parasitol., Summaries, Turkey, pp. 114-116
- MICHAEL, S.A.; REFAH, A.H.; HIGGINS, A.J. (1979). Efficacy of oxfendazole against naturally acquired gastrointestinal nematode infestations in buffaloes in Egypt. Trop. Anim. Health Produc., 11 : 159-163
- MICHAEL, S.A.; HIGGINS, A.J.; ELREFAH, A.H. (1979). Oxfendazole anthelmintic activity in Egyptian goats artificially infected with gastrointestinal nematodes. Trop. Anim. Health Produc., 11 : 63-68

- MICHALSKA, Z.; KARMANSKA, K. (1976). Influence of inhibition of degranulation of mast cells by Intal (disodium cromoglycate) on the course of Trichinellosis in mice. Acta Parasitol. Polonica, 24 : 68-90
- MILLER, H.R.P.; JARRET, W.F.H. (1971). Immune reactions in mucous membranes. I. Intestinal mast cells response during helminth expulsion in the rat. Immunology, 20 : 277-288
- MURRAY-LYON, I.M.; REYNOLDS, K.W. (1979). Complication of mebendazole treatment for hydatid diseases. British Med. J., 2 : 1111-1112
- NACHMIAS, A.; BARASH, I. (1976). Decreased permeability as a mechanism of resistance to methyl benzimidazole-2-carbamate (MBC) in Sporobdomyces roseus. J. Gen. Microb., 94 : 167-172
- NAGALINGAM, I.; LEE, E.L.; ROBINSON, M.J.; DISSANAIKE, A.S. (1976). Mebendazole in treatment of severe Trichuris trichiura infection in Malaysian children. Am. J. Trop. Med. Hyg., 25 : 568-572
- NERENBERG, C.; RUNKEL, R.A.; MATIN, S.B. (1978). Radioimmunoassay of oxfendazole in bovine, equine or canine plasma or serum. J. Pharma. Sci., 67 : 1553-1557
- NETA, R.; SALVIN, S.B. (1974). Specific suppression of delayed hypersensitivity : The possible presence of a suppressor B cells in the regulation of delayed Hypersensitivity. J. Immunol., 113 : 1716-1725

- NOLF, L. (1937). The transplantation of gravid Trichinella spiralis. J. Parasitol., 23 : 574-577
- NOVOGRODSKY, A.; LOTAN, R.; RAVID, A.; SHARON, N. (1975). Peanut agglutinin, a new mitogen that binds to galactosyl sites exposed after neuramidase treatment., J. Immunol., 115 : 1243-1248
- OCHOA, M.; HIRCHBERG, E. (1967). Alkylating agents. Exp. Chemother., 5 : 1-132
- OGILVIE, B.M.; LOVE, R.J. (1974). Cooperation between antibodies and cells in immunity to a nematode parasite. Transplant. Rev., 19 : 147-169
- OGUZ, T. (1977). The therapeutic effects of Embay 8440 (Bayer) and mebendazole (Janssen) in lambs experimentally infected with Cysticercus tenuicollis. Fist. Med. Conf. Parasitol., Summaries, Turkey, pp. 122-123
- OLSEN, B.S.; VILLELLA, J.B.; GOULD, S.E. (1964). Distribution of Trichinella spiralis in muscles of experimentally infected swine. J. Parasitol., 50 : 489-495
- OTERO, D.R.; GALVER, O.M.; ESTEVEZ, G.B. (1977). The first clinical-therapeutic trial of mebendazole in some helminthiases in Cuba. Rev. Cub. Med. Trop., 29 : 13-16
- OZERETSKOVSKAYA, N.A.; MORENETS, T.M.; GRIGORENKO, T.A. (1978). Mebendazole in the treatment of acute and chronic stages of helminthiase. Communication I : Mebendazole treatment of acute and chronic trichinelliasis caused by Trichinella strains from wild animals. Medit. Parazit. Parazitar. Bolez., 47 : 43-51

- PAGET, J. (1866). On the discovery of trichina. Lancet, 1 : 269-270
- PANITZ, E. (1977). An evaluation of ethyl-6 ethoxybenzothiazole-2-carbamate (Sch-18099) for anthelmintic activity in domestic animals. J. Helinthol., 51 : 23-30
- PANITZ, E.; DANIELS, P.J.L.; LOEBENBERG, D.; NAFISSI-V, M.M.; WAITZ, J.A. (1978). Anthelmintic activity of tioxidazole (Sch-21480) against gastrointestinal roundworms. Experientia, 34 : 733
- PAULOWSKI, Z.; KOZAKIEWICK, B.; WROBLEWSKI, H. (1976). Effect of intraperitoneal inoculation of mebendazole on Taenia saginata cysticercosis in calves. Vet. Parasitol., 2 : 303-306
- PAULOWSKI, Z.; KOZAKIEWICK, B.; WROBLEWSKI, H. (1978). The efficacy of mebendazole and praziquantel against Taenia saginata cysticercosis in cattle. Vet. Sci. Comm., 2 : 137-139
- PELLEY, R.P.; PELLEY, R.J.; STAVITSKY, A.B.; MAHMOUD, A.A.F.; WARREN, K.S. (1975). Niridazole a potent long-acting suppressor of cellular hypersensitivity. III. Minimal Suppression of antibody responses. J. Immunol., 115 : 1477-1482
- PERA, CH.A.; VILLAREJOS, V.M.; ZELEDON, R. (1977). Mebendazole in the treatment of taeniasis solium and taeniasis saginata. Am. J. Trop. Med. Hyg., 26 : 11-120



- PEREVERZEVA, E.V. (1979). Peculiarities in the development of Trichinella larvae isolated from a brown bear and the effect of mebendazole on infected white mice. Medit. Parazit. Parazitar. Bolez., 48 : 40-43
- PERRUDET-BADOUX, A.; BINAGHI, R.A.; BOUSSACARON, Y. (1978). Trichinella spiralis infection in mice. Mechanism of the resistance in animals genetically selected for high and low antibody production. Immunol, 35: 519-522
- PHILLIPSON, R.F.; KERSHAW, W.E. (1961). The production, disposition and growth of the larvae of Trichinella spiralis and their significance in the chemotherapy of the infection. II. Production and disposition of larvae. Ann. Trop. Med. Parasitol., 55 : 231-234
- PODHAJECKY, K. (1963). Pomer semicick "Trichinella spiralis" semeckom y roznyuch obdoviach cerveney fazy u bielech misi. Male-female ratio of "Trichinella spiralis" in various phases of infection in white mice. Biologia, 18 : 123
- PODHAJECKY, K. (1964). Ecdysis and copulation of Trichinella spiralis. Studie Helminthol., 1 : 175-177
- POIROT, J.L.; LANCASTRE, F.; MOUGEOT, G.; DEPERNET, D. (1976). Etude de l'action du cyclophosphamide sur la transplantation de Trichinella spiralis adultes ageés de 18 jours. Ann. Parasitol., 51 : 447-452

- POULTER, L.W.; TURK, J.L. (1972). Proportional increase in the carrying lymphocytes in peripheral lymphoid tissue following treatment with cyclophosphamide. Nature, New Biol., 238 : 17
- PRICHARD, R.K. (1973). The fumarate reductase reaction of Haemonchus contortus and the mode of action of some anthelmintics. Int. J. for Parasitol., 3 : 409-417
- PRICHARD, R.K.; HENNESSY, D.R.; STEEL, J.W. (1978). Prolonged administration : a new concept for increasing the spectrum and effectiveness of anthelmintics. Vet. Parasitol., 4 : 309-315
- PRZYJALKOWSKY, Z.; GOLINSKA, Z.; BANY, J. (1979). The influence of cyclophosphamide on the serum immunoglobulin level in Germfree and Conventional mice infected with Trichinella spiralis. Bull. de l'Acad. Polon. des Sciences., 27 : 117-120
- PRZYJALKOWSKY, Z.; CABAJ, W.; KONTNY, E. (1979). Intestinal Trichinella spiralis infection in Germfree and Conventional mice treated with cyclophosphamide. Bull. de l'Acad. Polon. des Sciences., 27 : 109-115
- RAFF, M.C.; CANTOR, H. (1971). Subpopulations of thymus cells and thymus derived lymphocytes. In Progress in Immunology. I. Ed. by B. Amos. Academic Press, New York, pp. 83
- RAHAMAN, M.S.; BRYANT, C. (1977). Studies of regulatory metabolism in Moniezia expansa : effects of cambendazole and mebendazole. Int. J. for Parasitol., 7 : 403-409

- RAILLIET, A. (1895). Traité de Zoologie Medicale et Agricole. 2<sup>a</sup> ed., Paris. Asselin et houzeau, fas. 2 : 737-1303
- RAY, D.K.; BHOPALE, E.K.; SHRIVASTAVA, V.B. (1978). Efficacy of seven anthelmintics against Ancylostoma ceylanicum in the golden hamster, Mesocricetus auratus. Ann. Trop. Med. Parasitol., 72 : 55-58
- RIBAS-MUJAL, D.; RIVERA POMAR, J.M. (1968). Biological significance of the early structural alterations in skeletal muscle fibers infected by Trichinella spiralis. Virchow's Arch. Path. Anat. Physiol., 345 : 154-168
- RITTERSON, A.L. (1966). Nature of the cyst of Trichinella spiralis. J. Parasitol., 52 : 157-161
- REISIN, I.L.; RABITO, C.A.; ROTUNNO, C.A.; CEREIJIDO, M. (1977). The permeability of the membranes of experimental secondary cyst of Echinococcus granulosus to C<sup>14</sup> mebendazole. Int. J. for Parasitol., 7 : 189-194
- RODRIGUEZ CAABEIRO, F. (1977). Acción antihelmíntica de benzimidazol carbamatos y fosforados orgánicos frente a Trichinella spiralis. Tesis Doctoral. pp. 39-40
- RODRIGUEZ CAABEIRO, F.; MARTINEZ FERNANDEZ. A.R.; SANMARTIN DURAN, M.L. (1978). Acción antihelmíntica de benzimidazol-carbamatos frente a Trichinella spiralis. III. Oxibendazol. Rev. Iber. Parasitol., 38 : 624-638

- RODRIGUEZ CAABEIRO, F.; MARTINEZ FERNANDEZ, A.M.; SANMARTIN DURAN, M.L.; TORO, M. (1978a). Acción antihelmíntica de benzimidazol-carbamatos frente a Trichinella spiralis. Mebendazol. Rev. Iber. Parasitol. 38 : 249-258
- RODRIGUEZ CAABEIRO, F.; MARTINEZ FERNANDEZ, A.R.; SANMARTIN DURAN, M.L. (1978b). Acción antihelmíntica de benzimidazol-carbamatos frente a Trichinella spiralis. II. Fenbendazol. Rev. Iber. Parasitol., 38 : 552-567
- ROMANOWSKI, R.D.; RHOADS, M.L.; COLGLAZIER, M.L.; KATES, K.C. (1975). Effect of cambendazole, thiabendazole and levamisole on fumarate reductase in cambendazole resistant and sensitive strains of Haemonchus contortus. J. Parasitol., 61 : 777-778
- ROMEIS, E. (1928). Guía Formulario Técnicas Histológicas. Ed. Labor, S.A. Barcelona.
- ROTH, H. (1938). On the localization of adult trichina in the intestine. J. Parasitol., 24 : 255-261
- ROTH, H. (1939). Experimental studies on the course of trichina infection guinea pigs. II. Natural susceptibility of the guinea pigs to experimental trichina infection. Amer. J. Hyg., 29 : 89-104
- RUDOFISKY, U.H.; POLLARA, B. (1977). Studies on the pathogenesis of experimental autoimmune renal tubulointerstitial disease in guinea pigs. IV. Failure to inhibit mononuclear cell disease in guinea pigs. Clin. Exp. Immunol., 27 : 522-525

- RUITENBERG, E.A.; STEERENBERG, P.A. (1974). Intestinal phase of Trichinella spiralis in congenitally athymic (nude) mice. J. Parasitol., 60 : 1056-1057
- RUITENBERG, E.J.; ELGERSMA, A. (1976). Absence of intestinal mast cell response in congenitally athymic mice during Trichinella spiralis infection. Nature, 264 : 258-266
- RUITENBERG, E.J.; KRUIUSINGA, W.; LEENSTRA, F. (1977). Trichinella spiralis infection in congenitally athymic (nude) mice. Parasitological serological and haematological studies with observations on intestinal pathology. Immunol., 33 : 579-587
- SAKALAUSKAITE, YU.A. (1978). Host immune response to Trichinella spiralis infection and the influence of mebendazole. Communication 2. Cellular and humoral immune response in mice infected with Trichinella spiralis and treated with mebendazole. Medit. Parazit. Parazitar. Bolez., 47, (6) : 23-28
- SAKALAUSKAITE, YU.A. (1978). The immune response of the host to Trichinelliasis. Communication 1. The development of cells-mediated and humoral reactions in mice infected with Trichinella spiralis : Medit. Parazit. Parazitar. Bolez., 47, (5) : 24-29
- SANMARTIN DURAN, M.L. (1979). Inmunidad mediada por células en el ciclo endógeno de Trichinella spiralis. Tesis Doctoral, Santiago de Compostela, pp. 29

- SANMARTIN DURAN, M.L.; MARTINEZ FERNANDEZ, A.R.; TORO, M.; RODRIGUEZ CAABEIRO, F. (1980). Acción del mebendazol sobre larvas enquistadas de Trichinella spiralis. I. Evolución histopatológica. Rev. Iber. Parasitol., 40 : 27-47
- SANTOS, G.W.; OWENS, A.H.J. (1966). 19 S and 7 S antibody production in the cyclophosphamide or methotrexate treated rats. Nature, 209 : 622-624
- SCHAAF, J.; LAMPE, B. (1958), Zur Biologie der Trichinella. Zbl. Vet. Med., 5 : 135-151
- SCHEIFLEY, C.H. (1937). The localization of Trichinella spiralis in the muscle of its host. Amer. J. Hyg., 25: 349-353
- SCHENONE, H.; GALDAMES, M.; INZUNZA, E.; RODERO, E.; JIMENEZ, M.; BLOOMFIELD, R. (1976). An oral suspension of mebendazole in the treatment of enterobiasis, ascariasis and trichuriasis in children. The therapeutic effectiveness of a single dose in enterobiasis. Bol. Chil. Parasitol., 31 : 75-78
- SCHOOP, G.; LIEB, W.A.; LAMINA, J.; HIEMISCH, I. (1961). Die Parasiten des Auges. Tierexperimentelle Untersuchungen über die Trichinose des Auges Klin. Monatsbl. Augenheilk., 139 : 433-465
- SCHWARTZ, A.; ORBACH-ARBOUYS, S; GERSHON, R.K. (1976). Participation of cyclophosphamide-sensitive T cells in graft-VS-Host reactions. J. Immunol., 117 : 871-875

- SCRAGG, J.N.; PROCTOR, E.M. (1977). Mebendazole in the treatment of severe symptomatic trichuriasis in children. Am. J. Trop. Med. Hyg., 26 : 198-203
- SEILER, J.P. (1973). The mutagenicity of benzimidazole and benzimidazole derivatives. II. Incorporation of benzimidazole into de nucleic acids of Escherichia coli. Mutat. Res., 17 : 21-25
- SEILER, J.P. (1975). Toxicology and genetic effects of benzimidazole compounds. Mutat. Res., 32 : 151-168
- SEO, B.S.; CHO, S.Y.; KANG, S.Y.; CHAY, J.Y. (1977). Anthelmintic efficacy of methyl-5-benzoyl-benzimidazole-2-carbamate (mebendazole) against multiple helminthic infections. Korean J. Parasitol., 15 : 11-16
- SHAND, F.L.; HOWARD, J.G. (1978). Cyclophosphamide inhibited B cells receptor regeneration as a basis for drug-induced tolerance. Nature, 271 : 255-257
- SHAND, F.L.; HOWARD, J.L. (1979). Induction "in vitro" of reversible immunosuppression and inhibition of B cells receptor regeneration by defined metabolites of cyclophosphamide. Eur. J. Immunol., 9 : 17-21
- SHANTA, C.; MEEROVITCH, E. (1967). The life cycle of Trichilla spiralis. I. The intestinal phase of development. Can. J. Zool., 45 : 1255-1260
- SHANTA, C.; MEEROVITCH, E. (1967). The life cycle of Trichinella spiralis. II. The muscle phase of development and its possible evolution. Can. J. Zool., 45 : 1261-1267

- SHEDIVTSOVA, A. (1976). White mice infected with Nippostrongylus brasiliensis (migrating) as a model for experimental treatment of larvae nematode. Médits. Parazit. Parazitar. Bolez., 45 : 173-176
- SLADEK, N.E. (1972). Therapeutic efficacy of cyclophosphamide as a function of its metabolism. Cancer Res., 32 : 535-542
- SLADEK, N.E. (1973). Evidence for an aldehyde possessing alkylating activity as the primary metabolite of cyclophosphamide. Ibid., 33 : 651-658
- SONJA DE NOLLIN ; VANDEN BOSSCHE, H. (1974). Effects of mebendazole on the encysted phase of Trichinella spiralis in the rat : an electron microscope study. Parasitol., 69 : 55-62
- SPALDONOVA, R.; TOMÁSOVICOVA, O.; CORBA, J. (1974). The influence of mebendazole on the course of Trichinella spiralis infection in mice. Proc. 3rd. Int. Cong. Parasitol., 2 : 675-676
- SPALDONOVA, R.; CORBA, J. (1978). Efficacy of oxfendazole and albendazole against Trichinella spiralis invasion in mice. Fourth Int. Congr. Parasitol. Warsaw. Poland. Abstracts (Section C) . pp. 146
- STEWART, G.L.; CLARK, P.R. (1972b). Some aspects of cyst synthesis in mouse Trichinosis. J. Parasitol., 58 : 1061-1064
- STEWART, G.L.; READ, C.P. (1972b). Ribonucleic acid metabolism in mouse trichinosis. J. Parasitol., 58 : 252-256



- STAUBLI, C. (1909). Trichinosis, Weisbade, Bergmann, pp. 295
- STRYKER, W. (1974). The intestinal phase of human trichinosis. Amer. J. Pathol., 23 : 819-827
- STOCKMAN, G.D.; TRENTIN, J.J. (1972). Cyclophosphamide induced tolerance to equine Gamma-globulin and equine anti mouse thymocyte globulin in adult mice. J. Immunol., 108 : 112-118
- STUTZENBERGER, F.J.; PARLE, J.N. (1973). Effect of 2-substituted benzimidazoles on the fungus Pithomyces chartarum. J. Gen. Microbiol., 76 : 192-209
- STONE, O.; SONTONE, C.; MULLINS, J. (1964). Thiabendazole-probable cure for trichinosis. J. Amer. Med. Assoc., 187 : 536-538
- SUJATHA, S.E.F.; DENHAM, D.A. (1976). The effects of mebendazole and fenbendazole on Trichinella spiralis in mice. J. Parasitol., 62 : 874-876
- SEO, B.S.; CHO, S.Y.; CHAI, J.Y. (1978). Reduced single dose of mebendazole in treatment of Ascaris lumbricoides infection. Kor. J. Parasitol., 16 : 21-25
- TEPPEMA, J.; ROBINSON, J.; RUITENBERG, E. (1973). Ultrastructural aspects of capsule formation in Trichinella spiralis infection in the rat. Parasitol., 66 : 291-296
- THIENPONT, D.; VANPARIJS, O.; VANDESTEENE, R. (1972). Anthelmintic and histopathological effects of mebendazole in Trichinella spiralis in the rat. Proc. 3th. Int. Conf. Trichinellosis

- THOMAS, H. (1965). Beitrage zur Biologie und mikroskopischen Anatomie von Trichinella spiralis (Owen, 1835). Z. Tropenmed. Parasitol., 16 : 148-180
- TIDBALL, J.S.; AGUAS, J.P.; ALDIS, J.W. (1978). A new concentration of human intestinal capillariasis on wester Luzon. Southeastern Asian J. Trop. Med. and Public Health., 9 : 33-40
- TODD, K.S.Jr.; MANSFIELD, M.E. (1979). Evaluation of four forms of oxfendazole against nematodes of cattle. Amer. J. Vet. Res., 40 : 423-424
- TRONCHIN, G.; DUTOI, E.; VERNES, A.; BIGUET, J. (1979). Oral immunization of mice with metabolic antigens of Trichinella spiralis larvae : Effects on the kinetics of intestinal cell response including mast cells and polymorphonuclear eosinophils. J. Parasitol., 65 : 685-691
- TURK, J.L.; PARKER, D. (1973). Further studies on B-lymphocyte suppression in delayed hypersensitivity, indicating a possible mechanism for Jones-Mote hypersensitivity. Immunol., 24 : 751-758
- TURK, J.L.; POULTER, L.W. (1972). Selective depletion of lymphoid tissue by cyclophosphamide. Clin. Exp. Immunol., 10 : 285
- TYZZER, E.E.; HONEIJ, J.A. (1916). The effects of radiation on the development of Trichinella spiralis. J. Parasitol., 3 : 43-56

- VAN DEN BOSSCHE, H. (1976). The molecular basis for anthelmintic action. In Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships. Ed. Van den Bossche H. Elsevier, North Holland, Biomedical Press, Amsterdam, pp. 553-572
- VAN DEN BOSSCHE, H.; DE NOLLIN, S (1973). Effects of mebendazole on the absorption of low molecular weight nutrients by Ascaris suum. Int. J. Parasitol., 3 401-407
- VAN NEUTEN, J.M. (1972). Pharmacological aspects of tetramisole. In Comparative biochemistry of Parasites. Ed. Van den Bossche H. Academic Press, New York, pp. 101-115
- VASSALLI, P.; McCLUSKEY, R.T. (1971). Delayed hypersensitivity. In Inflammation, Immunity and Hypersensitivity. Ed. H. 2 Movat, Harper and Row, New York., pp. 179-234
- VERCRUYSSSE, J.; KUMAR, U.; CEULEMANS, F.; MORTELMANS, J. (1976). Chemotherapy of helminthiasis among wild mammals. II. Baylisascaris transfuga (Rudolphi, 1819) Sprent, 1968 infection of polar bear. Acta Zool. et Pathol. Antverpiensia, 64 : 115-119
- VERHEYEN, A.; BORGERS, M.; VANPARIJS, O.; THIENPONT, D. (1976). The effect of mebendazole on the ultrastructure of cestodes. In Biochemistry of Parasites and Host-Parasites Relationships. Ed. Van den Bossche H. Elsevier, North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 605-618

- VERHOEVEN, H.L.E.; WILLEMSSENS, G.; VAN DEN BOSSCHE, H. (1976). Uptake and distribution of levamisole in Ascaris suum. In Biochemistry of Parasites and Host-Parasites Relationships. Ed Van den Bossche. H. Elsevier, North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 573-579
- VILLELA, J. (1958). Observations on the time and number of molts in the intestinal phase of Trichinella spiralis. J. Parasitol., 44 : 41-43
- VOGEL, H. (1930). Ueber die Organotropie von Hepaticola hepatica. Z. Parasitenk., 2 : 502-505
- WAKELIN, D.; LLOYD, M. (1976). Accelerate expulsion of adult Trichinella spiralis in mice given lymphoid cells and serum from infected donors. Parasitol., 72 : 307-315
- WAKELIN, D.; WILSON, M. (1977). Transfer of immunity to Trichinella spiralis in the mouse with mesenteric lymph node cells : time of appearance of effective cells in donors and expression of immunity in recipients. Parasitol., 74 : 215-224
- WAKELIN, D.; WILSON, M.M. (1978). Analysis of the events responsible for the expulsion of adult Trichinella spiralis from the intestine of the mouse. Fourth Int. Congr. Parasitol., Warsaw, Poland, Abstracts (Section E), pp. 59
- WALLS, R.S.; CARTER, R.L.; LEUCHARS, E.; DAVIES, A.J.S. (1973). The Immunopathology of trichiniasis in T-cell deficient mice. Clin. Exp. Immunol., 13 : 213-242

- WANG, E.J.; SAZ, H.J. (1974). Comparative biochemical studies of Litomosoides carinii, Dipetalonema viteae and Brugia pahangi adults. J. Parasitol., 60 : 316-321
- WEBB, R.F.; McCULLY, C.H. (1979). Resistance of Haemonchus contortus to oxfendazole. Austral. Vet. J., 55 : 347-348
- WEBB, R.F.; McCULLY, C.H.; ADAMS, B.S. (1979). The efficiency of oxfendazole against four field populations of benzimidazole resistant Haemonchus contortus. Austral. Vet. J., 55 : 249-250
- WEBSTER, L.T.; BUTTERWORTH, A.E.; MAHAMOUD, A.A.E.; MINGOLA, E.N.; WARREN, K.S. (1975). Suppression of delayed hypersensitivity in Schistosoma infected patients by niridazole. New Engl. J. Med., 292 : 1144-1149
- WIKERHAUSER, T.; OZAKULA, N.; KUTICIC, V.; RAPIC, D.; RAJKOVIC-JAWJE, R. (1978). Action of some new anthelmintics on some common unites helminths and flagelates in laboratory mice. Acta. Parasitol. Iugoslav., 9 : 37-42
- WILLOUBHBY, A.D. (1978). L'inflammation. La Recherche. 9 : 27-36
- WOLFFHUGEL, K. (1938). Wieviel eingekapselte Trichinen (Trichinella spiralis) erzeugt ein Muttertier Z. Fleisch-Milchhyg., 48 : 301-302
- WU, L.; KINGSCOTE, A. (1975). Studies on Trichinella spiralis. II. Times of final molt, spermatozoa formation, ovulation and insemination. Canad. J. Zool., 35 : 207-211

ZANDER, B.; HORCHNER, F. (1977). The course of serum antibodies  
in guinea pigs infected with Trichinella spiralis  
after treatment with mebendazole . Munchener Med .  
Wochenschrift, 119 : 1015-1018

308

X.- I L U S T R A C I O N E S  
=====



Foto n° 1.- Larvas de T. spiralis aisladas por digestión péptica a los cinco días del tratamiento con 200 mg./kg. de oxfendazol. Exp. 4.1.4.1.

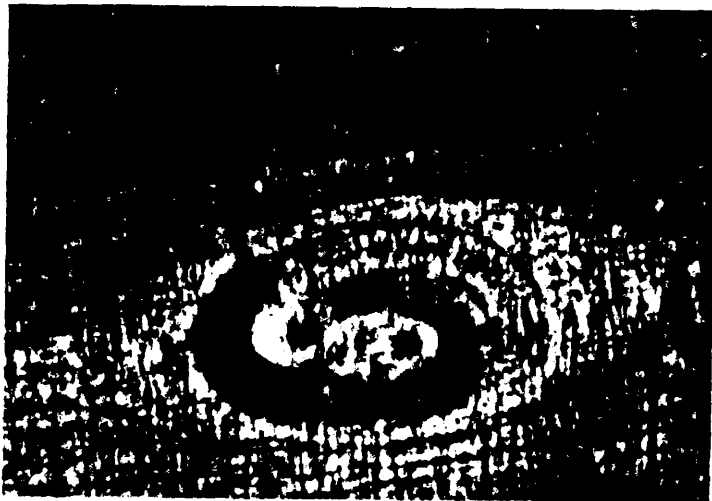


Foto n° 2.- Quiste de T. spiralis en diafragma - de ratón a los 42 días p.i. con T. spiralis. Testigo de la experiencia 4.1.4.1. 10 x 6.7 x.





Foto n° 3.- Quistes de T. spiralis en diafragma de ratón a los cinco días p.t. con 200 mg./kg. de oxfendazol. Exp. 4.1.4.1. 10 x 6,7 x.



Foto n° 4.- Quistes de T. spiralis en diafragma de ratón a los diez días p.t. con 200 mg./kg. - de oxfendazol. Exp. 4.1.4.1. 10 x 3,3 x.



Foto n° 5.- Exp. 4.1.7.1. Corte histológico de -  
masetero de ratón infestado por *T. spiralis* y te-  
ñido por hematoxilina - eosina a los 41 días p.i.  
Testigo de la experiencia 250 x.



Foto n° 6.- Exp. 4.1.7.1. Testigo, a los 42 días  
p.i. Hematoxilina - eosina. 100 x.



Foto n° 7.- Exp. 4.1.7.1. Testigo a los 43 días  
p.i. Hematoxilina - eoxina. 100 x.



Foto n° 8.- Exp. 4.1.7.1. Testigo a los 46 días  
p.i. Hematoxilina - eosina. 100 x.



Foto n° 9.- Exp. 4.1.7.1. Testigo a los 49 días  
p.i. Hematoxilina - eosina. 100 x.



Foto n° 10.- Exp. 4.1.7.1. Testigo a los 52 días  
p.i. Hematoxilina - eosina. 100 x.



Foto n° 11.- Exp. 4.1.7.1. Testigo a los 58 días p.i. Hematoxilina - eosina. 100 x.



Foto n° 12.- Exp. 4.1.7.4. Corte histológico de masetero de ratón infestado por *T. spiralis* y tratados con oxfendazol a 200 mg./kg. en los días - 38, 39 y 40 p.i. Día 1° p.t. Hematoxilina - eosina 100 x.

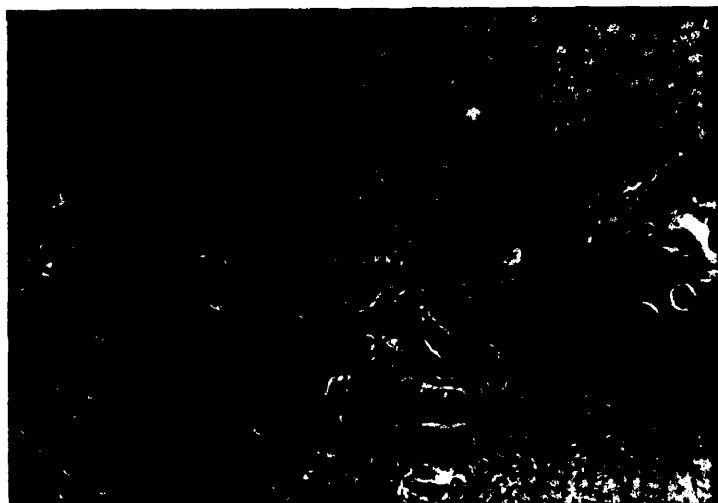


Foto n° 13.- Exp. 4.1.7.4. Día 2° p.t. Hematoxi-  
lina - eosina. 100 x.

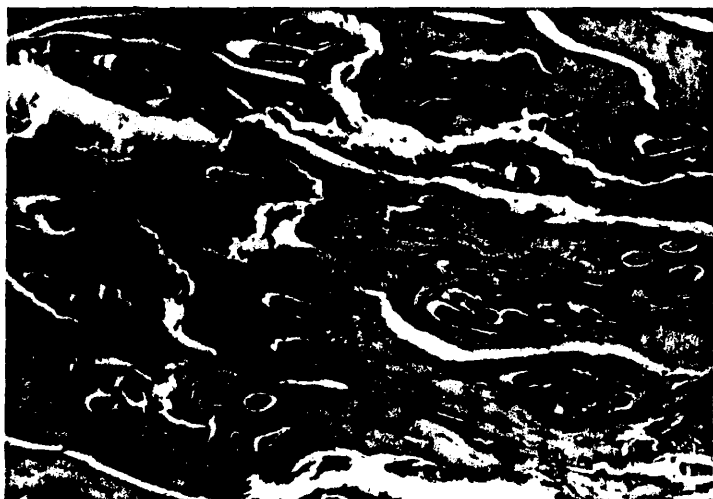


Foto n° 14.- Exp. 4.1.7.4 Día 6° p.t. Hematoxi-  
lina - eosina 100 x.

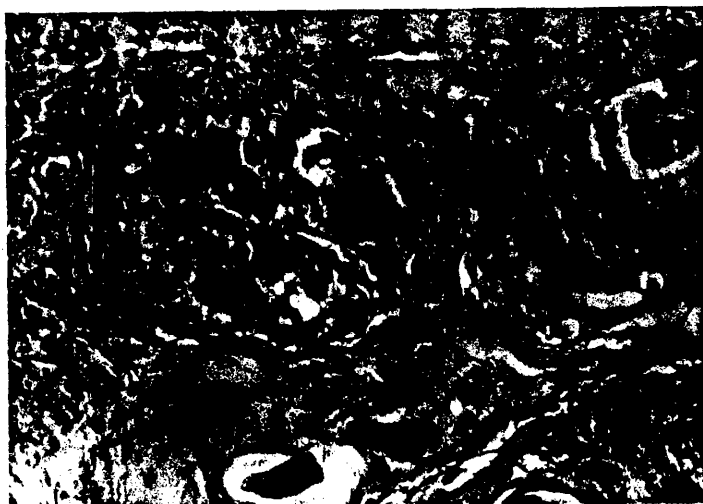


Foto n° 15.- Exp. 4.1.7.4. Día 9° p.t. Hematoxi-  
lina - eosina 100 x.



Foto n° 16.- Exp. 4.1.7.4. Día 12 p.t. Hematoxi-  
lina - eosina. 100 x.

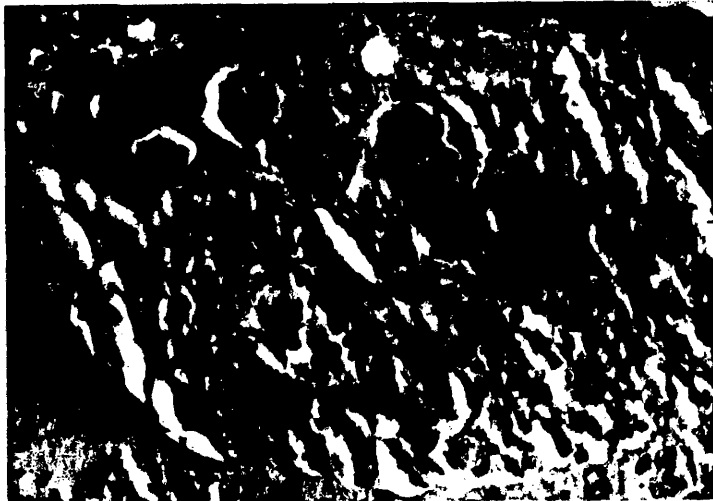


Foto n° 17.- Exp. 4.1.7.4. Día 15 p.t. Hematoxi  
lina - eosina. 400 x.



Foto n° 18.- Exp. 4.1.7.4. Día 18 p.t. Hematoxi  
lina-eosina. 250 x.



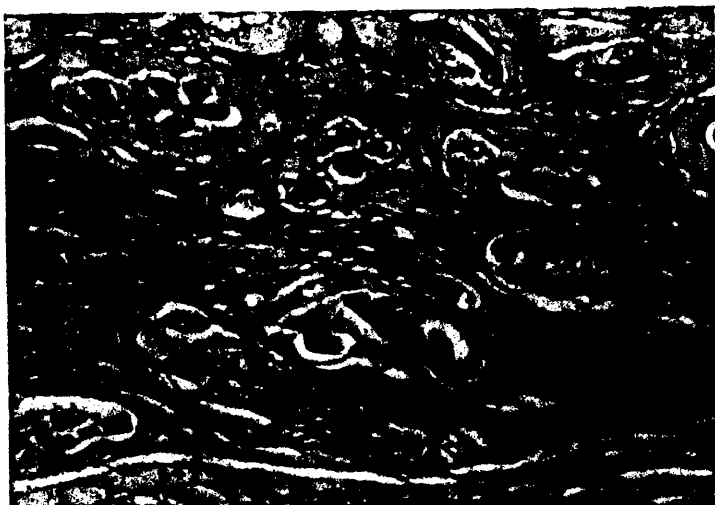


Foto n° 19.- Exp. 4.1.7.2. Corte histológico de mesentero de ratón infestado por *I. spiralis* y tratados con oxfendazol a 200 mg./kg., en los días 38, 39 y 40 p.i., previo tratamiento inmunosupresor con prednisona en los días 35, 36 y 37 p.i. Día 1° p.t. Tinción por Hematoxilina - eosina. 100 x.



Foto n° 20.- Exp. 4.1.7.2. Día 2° p.t. Hmatoxilina - eosina. 100 x.



Foto n° 21.- Exp. 4.1.7.2. Día 3° p.t. Hematoxi-  
lina - eosina. 100 x.



Foto n° 22.- Exp. 4.1.7.2. Día 6° p.t. Hematoxi-  
lina - eosina. 250 x.



Foto n° 23.- Exp. 4.1.7.2. Día 9° p.t. Hematoxi  
lina - eosina. 100 x.



Foto n° 24.- Exp. 4.1.7.2. Día 12 p.t. Hematoxi  
lina - eosina. 100 x.



Foto n° 25.- Exp. 4.1.7.2. Día 12 p.t. Hematoxi  
lina - eosina. 250 x.

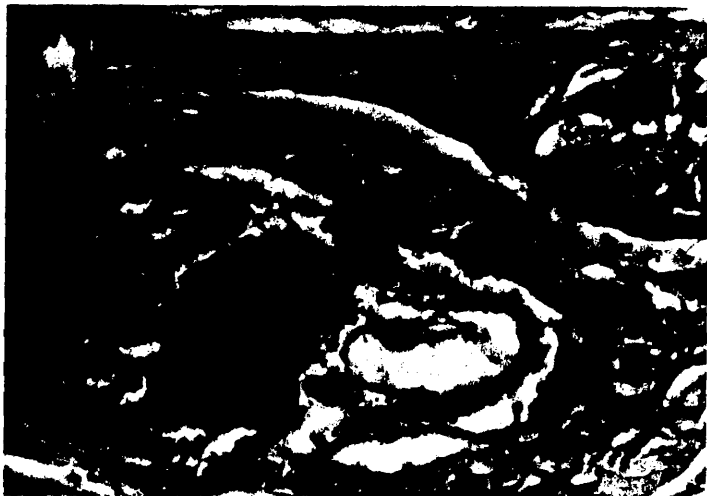


Foto n° 26.- Exp. 4.1.7.2. Día 15 p.t. Hematoxi  
lina - eosina. 250 x.



Foto n° 27.- Exp. 4.1.7.3. Corte histológico de masetero de ratón infestado por *T. spiralis*, tratado con oxfendazol a 200 mg./kg., en los días - 38, 39 y 40 p.i. y con prednisona desde el día - 35 al 38 p.i. Día 1° p.t. Tinción por hematoxilina - eosina. 100 x.



Foto n° 28.- Exp. 4.1.7.3. Día 3° p.t. Tinción - por Van - Ginson. 100 x.



Foto n° 29.- Exp. 4.1.7.3. Día 6° p.t. Hematoxi  
lina - eosina. 100 x.



Foto n° 30.- Exp. 4.1.7.3. Día 9° p.t. Hematoxi  
lina - eosina 250 x.



Foto n° 31.- Exp. 4.1.7.3. Día 12 p.t. Hematoxi-  
lina - eosina. 250 x.



Foto n° 32.- Exp. 4.1.7.3. Día 15 p.t. Hematoxi-  
lina - eosina. 250 x.

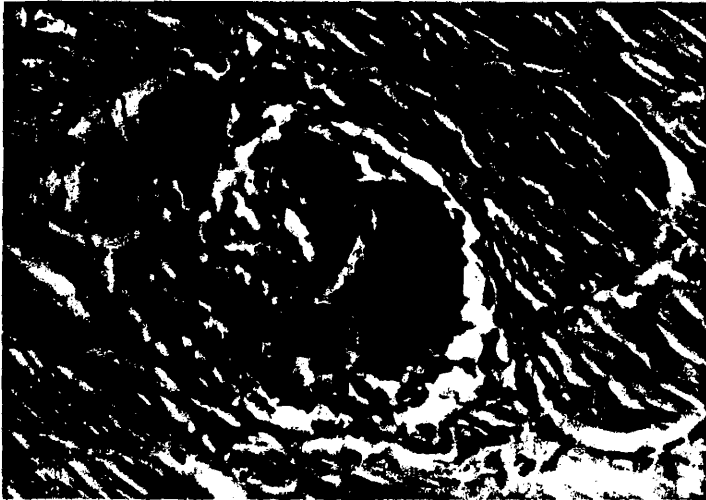


Foto n° 33.- Exp. 4.1.7.3. Día 18 p.t. Hematoxi  
lina - eosina. 400 x.

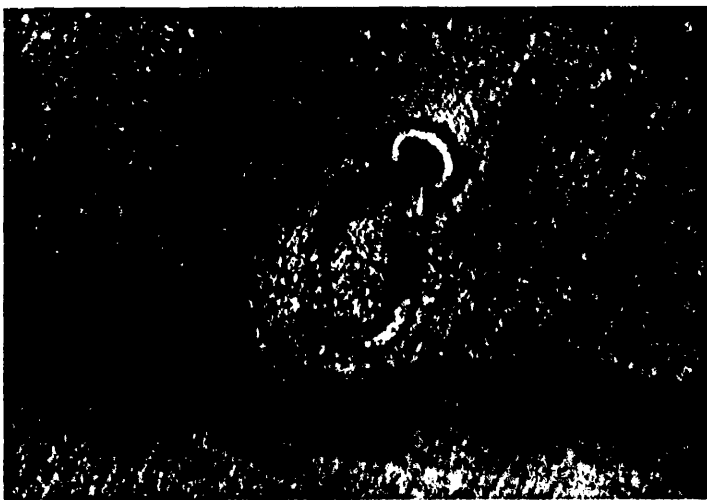


Foto n° 34.- Exp. 4.3.1.1. Quiste de T. spiralis  
en diafragma de ratón a los 5 días p.t. con 10  
mg./kg. de mebendazol. 10 x 3,3 x.



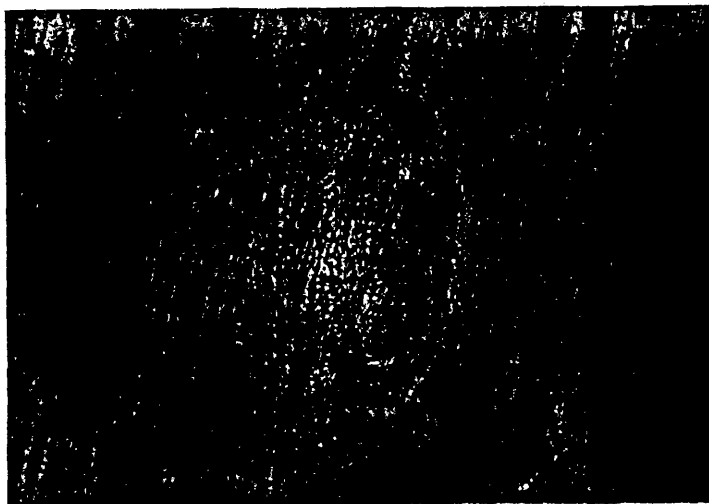


Foto n° 35.- Exp. 4.3.1.1. Quiste de T. spiralis en diafragma de ratón a los 10 días p.t. con 10 mg./kg. de mebendazol. 10 x 3,3 x.

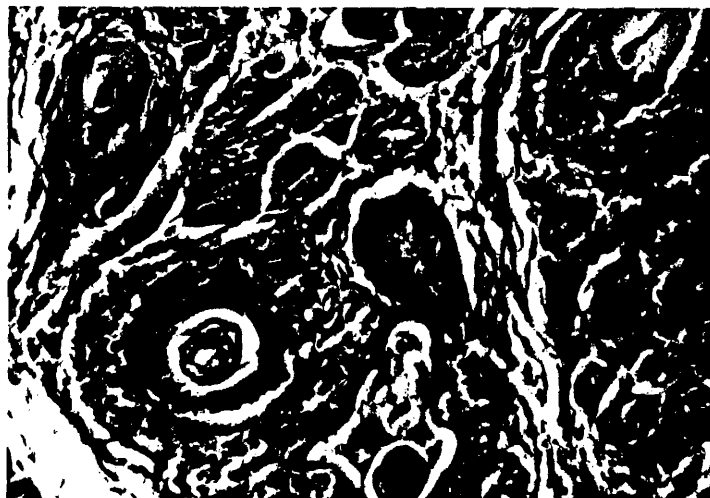


Foto n° 36.- Exp. 4.4.3.1. Testigo de la inmunosupresión por ciclofosfamida. Corte histológico obtenido a partir de masetero de ratón infestado por T. spiralis y tratado con mebendazol en los días 37, 38 y 39 p.i. Día 42 p.i. (3° p.t.). Tinción fosfotungstica de Mallory. 250 x.

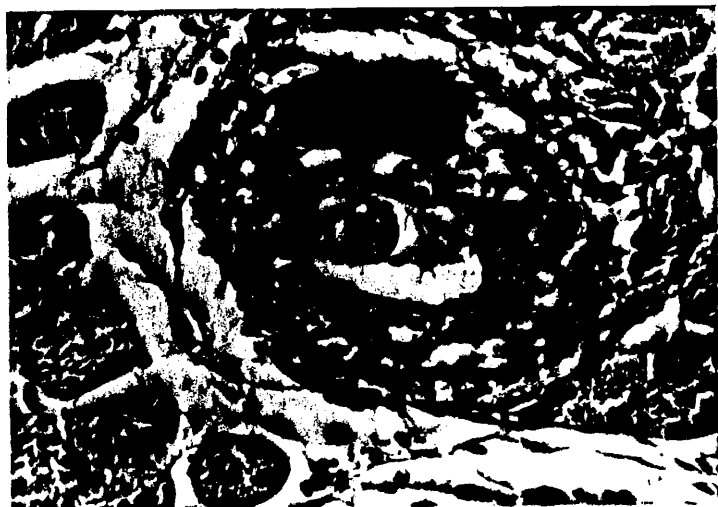


Foto n° 37.- Exp. 4.4.3.1. Día 3° p.t. Tinción  
hematoxilina - eosina. 400 x.



Foto n° 38.- Exp. 4.4.3.1. Día 6° p.t. Hematoxi  
lina - eosina. 250 x.

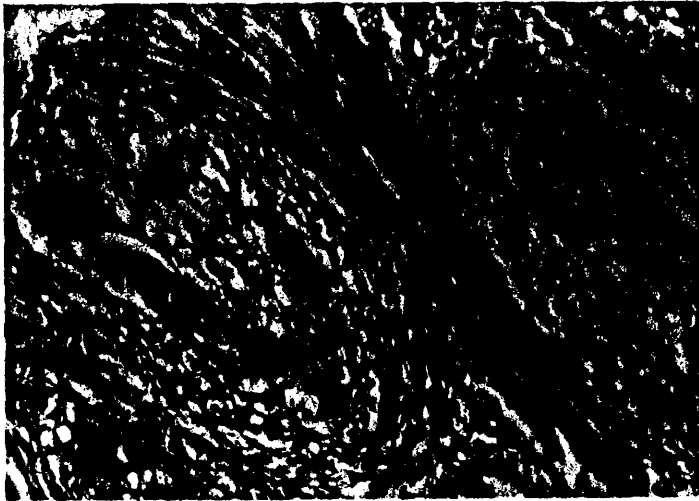


Foto n° 39.- Exp. 4.4.3.1. Día 9° p.t. Hematoxi-  
lina - eosina. 250 x.

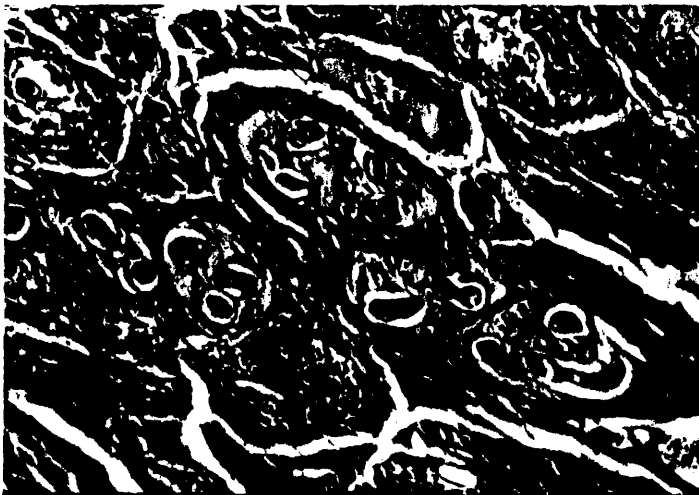


Foto n° 40.- Exp. 4.4.4.1. Corte de masetero de  
ratón infestado con *T. spiralis* y tratado con -  
mebendazol en los días 37, 38 y 39 p.i., previa  
inmunosupresión con ciclofosfamida. Día 3° p.t.  
Tinción de Van Ginson. 100 x.

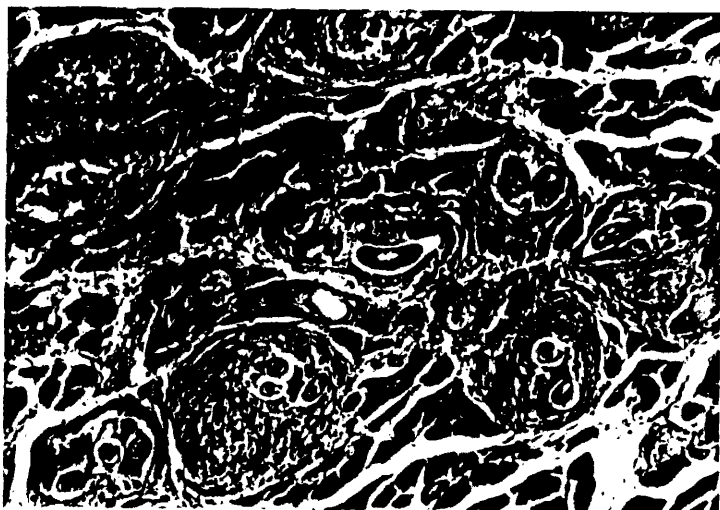


Foto n° 41.- Exp. 4.4.4.1. Día 6° p.t. Tinción Fosfotungstica de Mallory. 100 x.

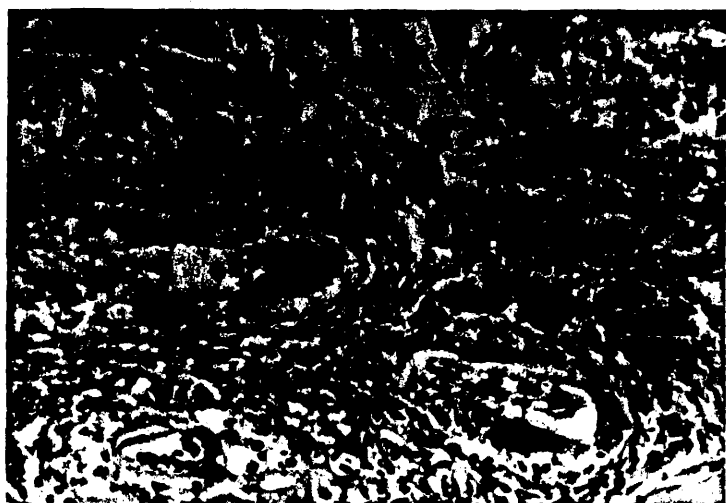


Foto n° 42.- Exp. 4.4.4.1. Día 9° p.t. Hematoxi  
lina - eosina. 250 x.



Foto n° 43.- Exp. 4.4.4.1. Día 9° p.t. Hematoxi  
lina - eosina. 400 x.



Foto n° 44.- Exp. 4.4.5.1. Testigo de la transfe  
rencia. Corte histológico de masetero de ratón,  
infestado con *T. spiralis* bajo inmunosupresión  
con niridazol durante todo el ciclo. Día 44 p.i.  
Hematoxilina - eosina. 100 x.

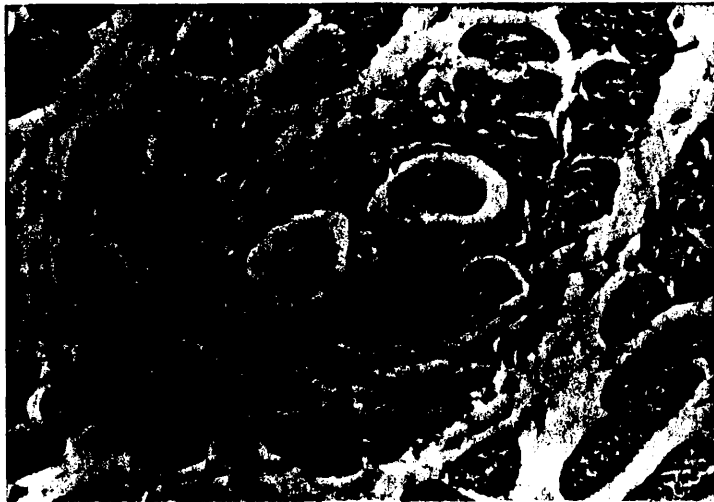


Foto n° 45.- Exp. 4.4.5.1. Testigo de la acción de mebendazol, administrado en los días 39, 40 y 41 a ratones inmunosuprimidos con piridazol durante todo el ciclo. Día 3° p.t. Hematoxilina - eosina. 250 x.

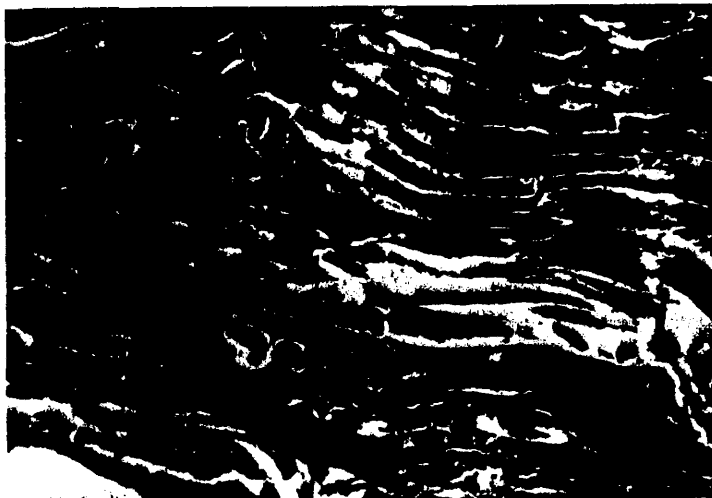


Foto n° 46.- Exp. 4.4.5.1. Día 6° p.t. Hematoxilina - eosina. 100 x.

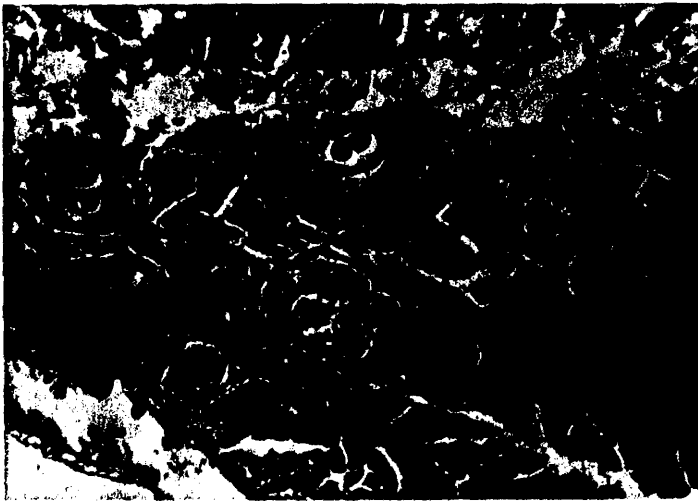


Foto n° 47.- Exp. 4.4.5.1. Día 9° p.t. Hematoxi  
lina - eosina. 100 x.

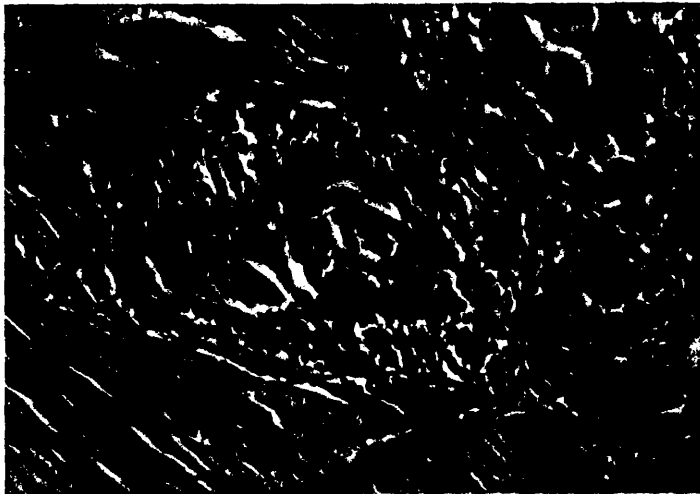


Foto n° 48.- Exp. 4.4.5.1. Corte histológico de  
masetero de ratón infestado por *T. spiralis*, el  
cual habiendo estado inmunosuprimido por nirida  
zol durante todo el ciclo, recibió células peri  
toneales via intraperitoneal (i.p.) dos días añ  
tes del tratamiento con mebendazol. Día 3° p.t.  
Tinción por hematoxilina - eosina. 400 x.



Foto n° 49.- Exp. 4.4.5.1. Receptor de células peritoneales vía i.p. Día 6° p.t. con mebendazol. Hematoxilina - eosina. 100 x.

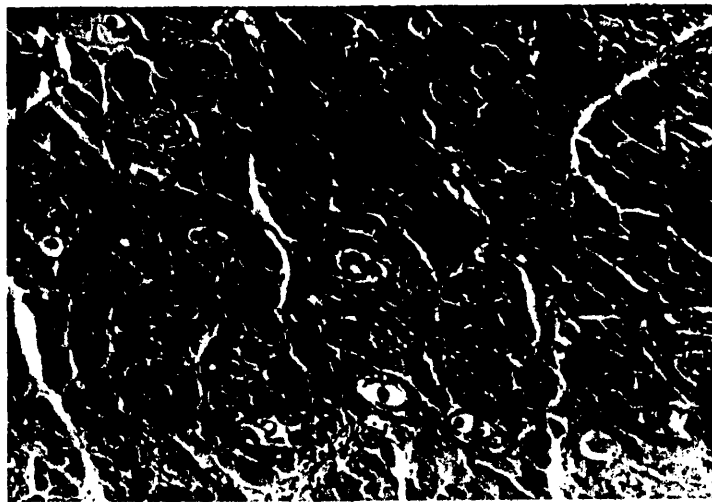


Foto n° 50.- Exp. 4.4.5.1. Receptor de células peritoneales vía i.p. Día 9° p.t. con mebendazol. Hematoxilina - eosina. 100 x.





Foto n° 51.- Exp. 4.4.5.1. Receptores de células  
esplénicas por vía i,p. Día 6° p.t. con mebenda-  
zol. Hematoxilina - eosina. 100 x.

