

CATEDRA DE PARASITOLOGIA

Catedrático: Prof. Dr. Miguel Cordero del Campillo

**Investigaciones sobre la eficacia de la Methiridina
y del Thiabendazol frente a *Trichinella spiralis*
(Owen, 1835) Railliet, 1895**

Por Antonio Martínez

I N D I C E

I. INTRODUCCION.—II. REVISION BIBLIOGRAFICA. A. Terapia. 1. Corticoesteroideos. 2. Antihelmínticos. a. Piperazinas b. Fosforados orgánicos. c. Diiazina iodada. d. Otros productos. 3. Antibióticos y sulfamidas. 4. Otros procedimientos. 5. Fármacos utilizados en el trabajo. a. Methiridina. b. Thiabendazol. B. Técnicas. 1. Animales de experimentación. 2. Infestación experimental. 3. Valoración de los resultados. a. Adultos en el intestino. b. Larvas musculares. INVESTIGACIONES PERSONALES. III. MATERIALES Y METODOS. A. Datos generales. 1. Animales experimentales. 2. Cepa de *Trichinella spiralis*. 3. Fármacos ensayados. 4. Técnicas. a. Dosis infestantes. b. Infestación con carne parasitada. c. Infestación con larvas obtenidas previa digestión de la carne. d. Recuperación de adultos. 5. Análisis de los resultados. a. Triquineloscopia en diafragma. b. Digestión de la canal. c. Análisis estadístico. d. Técnicas histológicas. B. Experiencias realizadas. 1. Con ratas y Methiridina. a. Experiencia número 1. b. Experiencia número 2. c. Experiencia número 3. 2. Con ratas y Thiabendazol. (Efectos sobre la descendencia). a. Thiabendazol 50 mg contra preadultos. b. Thiabendazol 50 mg contra larvas enquistadas. c. Thiabendazol 100 mg contra larvas enquistadas. d. Thiabendazol 250 mg: Lote A. Lote B. 3. Con ratas y Thiabendazol 250 mg (Efectos reductores sobre el número de larvas). Primera parte. a. Lote C (contra adultos). b. Lote D (contra larvas emigrantes). c. Lote testigo común. Segunda parte a. Lote E (contra larvas enquistadas b. Lote testigo. 4. Con cricetos y Thiabendazol 500 mg. a. Prueba F (contra adultos) b. Prueba G (contra larvas emigrantes) c. Prueba H (contra larvas enquistadas). 5. Experiencias comparativas de Thiabendazol y Methiridina. IV. RESULTADOS. 1. De experiencias con ratas y Methiridina. a. Contra

T. s. en fase adulta. b. Contra larvas emigrantes. c. Contra larvas al final de la emigración. 2. De experiencias con ratas y Thiabendazol. (Efectos sobre la descendencia). a. Thiabendazol 50 mg. contra preadultos. b. Thiabendazol 50 mg contra larvas enquistadas. c. Thiabendazol 100 mg contra larvas enquistadas. d. Thiabendazol 250 mg. Lote A, contra adultos. Lote B, contra larvas emigrantes. 3. Con ratas y Thiabendazol 250 mg (Efectos reductores sobre el número de larvas. Primera parte. a. Lote C (contra adultos). b. Lote D (contra larvas emigrantes). Segunda parte. a. Lote E (contra larvas enquistadas). 4 Con cricetos y Thiabendazol 500 mg. a. Prueba F (contra adultos). b. Prueba G (contra larvas emigrantes). Prueba H (contra larvas enquistadas). 5. Experiencias comparativas de Thiabendazol y Methiridina. V. DISCUSION.—1. De experiencias con ratas y Methiridina. 2. De experiencias con ratas y Thiabendazol (Efectos sobre la descendencia.) a. y b. de Thiabendazol 50 mg. c. Thiabendazol 100 mg. d. Thiabendazol 250 mg. 3. De experiencias con ratas y Thiabendazol 250 mg (efectos reductores sobre el número de larvas). Lote C. Lote D. Lote E. 4. De experiencias con cricetos y Thiabendazol 500 mg. 5. Experiencias comparativas de Thiabendazol y Methiridina. 6. De métodos utilizados. VI. CONCLUSIONES. VII RESUMEN. VIII CUADROS Y GRAFICOS. IX. BIBLIOGRAFIA. X. ILUSTRACIONES

I.—INTRODUCCION.

Trichinella spiralis (OWEN 1838) RAILLIET 1895 es un parásito auto-heteroxeno, único representante de una familia primitiva de nemátodos, al que se puede aplicar la afirmación de HEGNER y col. 1938, según los cuales, "cuando un endoparásito aparece en diferentes especies de hospedadores, es probablemente más viejo que éstos, es decir, ya era parásito antes de la evolución de las especies que ahora le albergan". Este hecho parece confirmarse por la circunstancia, casi única, de ser parásito de mamíferos, sin especificidad de hospedador y sin variantes biológicas, aunque las cepas de diversa procedencia difieren en cuanto a la patogenia, como se ha observado en la cepa de Kenia (NELSON y col.⁸⁷), comparada con las europeas, en su acción patógena para el cerdo y la rata. Sin embargo, de acuerdo con la afirmación de KOZAR⁶⁴, no es esto suficiente para considerarla una variedad, pues su bajo poder infestivo para estas especies no es una característica constante, y su poder patógeno puede incrementarse por sucesivos pases, o por adaptación lenta a las nuevas especies, a las que el verme no esté adaptado por la ausencia de las mismas durante milenios, en su habitual transcurrir biológico.

T. s. afecta a 42 especies de mamíferos, incluyendo no solo animales que viven en la proximidad del hombre, sino a numerosas especies de animales silvestres. Aunque ordinariamente, en condiciones naturales, sólo afecta a carnívoros y omnívoros, puede infestarse naturalmente (Bisontes del parque de Yellowstone) o experimentalmente (KENNEDY⁶¹) a herbívoros; a gallina y paloma (DOERR y SCHMIDT, 1922, citados por MAYNARD y KAGAN⁸²), considerándose a las aves como los vínculos de unión de los círculos epizootiológicos de la enfermedad desarrollados en hábitats diferentes, por ejemplo, entre mamíferos acuáticos y mamíferos terrestres en las áreas circumpolares, actuando las aves marinas como hospedadores de tránsito (MERKUSNEV,⁸⁵); en insectívoros, aunque no con mucha frecuencia (UMINSKI y STROCZNSKA,¹²⁷); en poiquilotermos, como experimentalmente ha demostrado MATOFF (citado por BORCHERT,⁸) y en el hombre.

El hecho de que sea transmitida por los animales al hombre (zooantroposis) o del hombre a los animales (antropozoonosis), como ocurre en el Este de África (FORRESTER,⁴³), hace que la enfermedad tenga una gran importancia sanitaria, que mantiene constante la atención de los parasitólogos del mundo, hecho que se comprueba consultando las revistas de parasitología. En el año 1964, en Helminthological Abstracts se revisaron 164 trabajos sobre *T. s.*, de los cuales 58 se referían a epizootología y epidemiología, 41 a ciclo biológico y acción patógena, 28 a reacciones inmunitarias y diagnósticas del parásito, 8 a lucha y 5 a relaciones con otros parásitos y agentes infecciosos. La razón del predominio de los trabajos de epizootología y epidemiología se debe a que aún continúa siendo un problema la prevención de la infección humana, pese a que las medidas de control mediante triquineloscopia o tratamiento de las carnes y los cuidados en la alimentación de los cerdos, hayan disminuido notablemente la incidencia en los mismos y, como consecuencia, la enfermedad en el hombre. De todos modos, mientras persista la infestación de los animales salvajes, se seguirá cercenando sobre el hombre y sobre los animales que le proporcionan carne, el peligro de la infestación.

Cada vez son menores las áreas del universo que se consideran exentas de la enfermedad, que quedan reducidas a Australia, donde todos los casos denunciados se produjeron en individuos extraños al continente (LEINATTI y col.⁷¹), América ecuatorial brasileña y boliviana;

gran parte de África (Egipto, EL-AFIFI y EL SAWAH,⁴²) África sahariana, tropical occidental y Suráfrica; y en Asia, Arabia y la zona central de los Turquestanes; aunque según KOZAR,⁶⁴ se necesitan investigaciones suficientes, sobre la fauna, para asegurar que están libres de la triquinelosclerosis.

La infestación humana en el resto del universo está condicionada a una serie de factores sociales, v.gr., los hábitos culinarios de las gentes, las medidas de control, bien sobre la carne —la triquineloscopia ha disminuido notablemente el grado de infestación de los cerdos, en Alemania, según HERMUS y STIERN, (1963), de un 0,0036 por 100 en 1934, a un 0,00027 por 100 en 1956, con una infestación humana de sólo el 1,502 por 100 (SCHOOP,¹¹⁰). En Portugal (da CRUZ,³¹), no se ha vuelto a dar ningún caso desde 1951. En Holanda (KAMPELMACHER y STREEFKERK,⁶⁰), no se ha dado ningún caso desde 1926 y desde 1961 a 1963 se han hecho estudios sobre la fauna salvaje del país, sin que se encontrara ningún animal parasitado, por lo que, desde el punto de vista de la sanidad pública, se puede suprimir la triquineloscopia, con la excepción de las carnes foráneas. En Finlandia (JARVINEN, y col.,⁵⁸) aseguran la ausencia de la triquinelosclerosis humana y la atribuyen a la eficacia del reconocimiento sanitario, a pesar de encontrarse infestada la fauna del país. Algo similar ocurre en Dinamarca.

Parecidas razones se pueden dar del control de la triquinelosclerosis por tratamiento previo de la carne, frigorización, tratamiento con radiaciones, etc., que junto con las normas de higiene de la alimentación del cerdo y la educación del público sobre la forma más segura del consumo de la carne, han hecho que también en aquellos países en los que no es obligatoria la inspección triquineloscópica haya disminuido la infestación humana, aunque continúe siendo más frecuentemente que en los países que realizan la inspección sistemática. (GOULD,⁴⁶; KAGAN,⁵⁹; MAYNARD y KAGAN,⁸²).

Decíamos antes, que la incidencia de la enfermedad en el hombre dependía fundamentalmente de la presencia del parásito en la fauna salvaje y doméstica —con independencia del cerdo— del país. Por esta razón se hace necesario conocer en cada área la intensidad de la infestación y los caminos epizootiológicos que sigue. Desde el año 1960, en que se celebró en Varsovia la Primera Conferencia Internacional sobre Triquinelosclerosis, los trabajos que se ocupan de la epizootiológica de

la enfermedad en la mayor parte del mundo aparecen resumidos en la Tabla I.

La triquinelosclerosis es todavía un problema sanitario mundial, aunque se haya reducido su incidencia, mediante las medidas higiénicas de alimentación, educación del pueblo e inspección sanitaria (triquineloscopia) y otras pruebas sustitutivas (TRAWIMSKI,¹²⁶; KAMPELMACHER y STREEFKERK,⁶⁰ etc.,) por cuya razón se siguen buscando medios de lucha, entre los cuales puede desempeñar un papel preponderante la profilaxis farmacológica de la enfermedad.

Desde 1947 en que OLIVER-GONZALEZ encontró como eficaz contra los adultos de *T.s.* el Hetrazán (dietilcarbamazina), hasta la actualidad en que el Neguvon, Thiabendazol y Ditiazina iodada, (ZIMMERMANN,¹³⁹) se abre camino cierto a la esperanza de la profilaxis, puesto que una serie de antihelmínticos actuales han demostrado poder parasiticida (por lo tanto, poder profiláctico) y profilaxis efectiva (caso del Thiabendazol y Neguvon), que pueden producir una esterilización de los individuos, aunque no les maten.

Nuestro trabajo se propuso el estudio de la acción parasiticida del Thiabendazol y de Methiridina en cricetos y ratas experimentalmente infestados, no con el fin de comprobar su acción profiláctica —aplicación junto con alimentos o agua de bebida, sino en plan de tratamiento, por vía digestiva (Thiabendazol) o subcutánea (Methiridina) contra las tres formas del ciclo biológico, adultos intestinales, larvas emigrantes, y formas larvarias enquistadas.

TABLA I

Países	Autor (s) y año	Especies parasitadas
Afghanistán	KULLAMAN, 1965	En cuatro especies de carnívoros salvajes, en zona sin cerdos.
Bulgaria	NENOV, 1962	En siete especies de animales silvestres.
Canadá	CAMERON, 1962	En diversos mamíferos salvajes y domésticos.

TABLA I (Continuación)

Países	Autor (s) y año	Especies parasitadas
Checoslovaquia	PODHAJECKY y MITUCH, 1960 y 62	En cinco especies de salvajes y domésticas.
España (Oviedo)	RODRIGUEZ GARCIA, 1962 y 64	En ocho especies silvestres.
España (León)	CORDERO y col., 1964 y 65	En zorro y gato montés.
España	Pozo LORA, 1963	En perros.
Groenlandia	MADSEN, 1962	En cinco especies de carnívoros árticos.
Hungría	NEMÉSERI, 1964	Carnívoros y roedores silvestres.
Indonesia	HOLCH, 1964	Sólo en cerdos.
Italia (Matera)	COLELLA y CIPUNI, 1962	En zorros y lobos.
Kenia	NELSON y col., 1963 a y b.	Carnívoros y carnívoros salvajes, primates, etc.
Kenia	FORRESTER, 1964	Carnívoros salvajes.
Laos	HOLCH, 1964	Sólo en hombre.
Malaya	HOLCH, 1964	Datos contradictorios (FAO-Who-OIE).
Méjico	BIACI y ROBLEDO, 1962	Gatos y ratones.
Polonia	KOZAR y WARDA, 1960	Carnívoros salvajes y domésticos.
Polonia (Varsovia)	ZEBROWSKA, 1960	En gatos de la ciudad.
Polonia	UMINSKI y STROCZYSKA, 1960	En insectívoros (negativo).

TABLA I (Continuación)

Países	Autor (s) y año	Especies parasitadas
Rumania	LUPU y CIRONEANU, 1962	Trece especies, salvajes y domésticas.
Rumania	CIRONEANU, 1963	En carnívoros y roedores.
Rusia (Siberia y Artico oriental)	LUKASHENKO y BRAZEYSKI, 1962	Ocho especies de carnívoros y tres de roedores.
Rusia	LUKASHENKO y RIVALTOUSKI,	En carnívoros y roedores.
Rusia	VIESKE, 1963	En carnívoros peleteros.
Suiza	HORNING, 1961	En zorros y martas.
Thailandia	HOLCH, 1964 1963	Cerdos salvajes y domésticos.
U. S. A.	ZIMMERMANN y col., 1960	Siete especies salvajes.
Venezuela	MAYAUDON y PEREDA, 1960	Especies tropicales.
Vietnam	HOLCH, 1964	No hay muchos datos. Existe el parasitismo.
Yugoeslavia	RUKAVINA y DELIC, 1960-62. DELIC, 1964	En cinco especies salvajes. En perros.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

A. Terapia.

Hasta hace muy poco tiempo se consideraba como intratable la enfermedad, debido a que no se habían encontrado antihelmínticos que afectaran a los adultos intestinales del parásito y, mucho menos, a las larvas circulantes y enquistadas.

Un sin número de productos desde el timol al alcohol, calcio, Fuadina, etc. (GOULD,⁴⁸), habían sido probados y preconizados, aunque ninguno con éxito. Los purgantes, que tenían por objeto eliminar las formas intestinales, tampoco lograban cambiar el curso de la enfermedad, e incluso podían ser perjudiciales (GELDBACH,⁴⁵).

1. *Corticoesteroides*

Hacia 1953 comienzan a publicarse trabajos sobre el uso de ACTH, cortisona y afines en el tratamiento de la triquinelosis humana (DAVIS y MOST,³⁴; LUONGO, REGID y WEISS,⁷⁵; ROSEN,¹⁰²), todos en aplicaciones sobre grupos aislados de individuos infestados, en los que se notaba una mejoría, tanto en la fase de invasión como en la de encapsulamiento (disminución de dolores, control de toxemia, prevención de miocarditis y encefalitis secundarias, etc.)

Ante este éxito obtenido por los clínicos, tan solo sobre las manifestaciones sintomáticas, comenzaron los ensayos en animales experimentalmente infestados, viéndose que:

a) Los animales tratados morían en mayor número que los testigos (STONER y GODWIN,^{121, 122}; ZAIMAN y col.,¹³⁵; KUZMICKI,⁶⁶).

b) Que albergaban más adultos intestinales y por mayor tiempo que los testigos. (El proceso intestinal agudo demostrado por LARSH y RACE,⁶⁸ se reduce por la administración de cortisona (COKER,^{26, 27, 28} y ²⁹).

Que se encontraba un número mayor de larvas enquistadas (MARKEL⁸⁰). La explicación estriba en que la cortisona bloquea la formación de anticuerpos (ROBINSON,¹⁰⁰ KUZMICKI,⁶⁶) por lo que afecta al proceso inflamatorio local, por eliminar la reacción previa antígeno-anticuerpo; al suprimirse esta reacción aumenta el tiempo de supervivencia de los adultos, como se comprobó anulando la reacción local, administrando antihistamínicos a ratones infestados con *T.s.* (CAMPBELL y col.²¹) y, por lo tanto, las larvas que producen.

d) Como consecuencia de la menor reacción inmunitaria general disminuye el infiltrado celular normal en el músculo invadido, hay menos anticuerpos y es menor la resistencia a la reinfección.

La muerte de los animales tratados puede ser debida también a bacteriemia (ZAIMAN y col.,¹³⁵) pues incluso la cortisona sólo puede occasionar bacteriemia en ratones no infestados (STONER y GODWIN,¹²¹).

LORD,⁷² en animales experimentalmente infestados demuestra que el tratamiento con ACTH favorece el curso de la enfermedad. ADAMCZYC y OSUCH¹ y RACHON y JANUSZKIEWICZ,⁹⁷ siguen aconsejando el tratamiento con hormonas del sistema hipofisario-adrenal, en el primer período de la enfermedad. OLIVIER y CHEEVER,⁹¹ en infestaciones dobles con *T.s.* y virus de la encéfalomiocarditis, tratando con cortisona, demostraron mayor número de parálisis, y su aparición más temprana, en los animales testigos que en los tratados. PLOTNOKOV y OZERESTKOWSKA-YA,⁹⁴ afirman que clínicamente la ACTH y los corticoesteroides poseen un alto grado de eficacia en la supresión de los síntomas y que previenen las complicaciones habituales de la enfermedad. KOZAR y KOZAR,⁶³ ensayan en ratones y en infestaciones humanas los efectos del Azulen SN/III, viendo que es tan efectivo como los corticoesteroides en la disminución de los efectos alérgicos del parasitismo.

ZAIMAN y col.,¹³⁶ repitieron sus experiencias de 1962 y volvieron a confirmar las conclusiones desfavorables que hemos resumido más arriba. Se mantiene por lo tanto la discusión entre los éxitos de la clínica humana y las experiencias con animales. Como apunta KUZMICKI,⁶⁶ se sabe que en el hombre la cortisona y ACTH, debido a sus efectos antialérgicos y antiinflamatorios, producen una remisión rápida de los síntomas agudos de la enfermedad y no se tiene la certeza de que ocasionan los mismos efectos desfavorables sobre el hombre, por otra parte hoy existe la posibilidad de combinar sus efectos con los de antihelmínticos que actúan sobre los adultos intestinales, piperazinas, ditiazina, methiridina, etc.

2. *Antihelmínticos.*

a. *Piperazinas.*

El Hetrazán (Dietilcarbamazina, Benozide, Carizide 84 L. etc.), clorhidrato de 1-dimetilcarbamilo-4-metilpiperazina, fue utilizado por OLIVER-GONZALEZ y HEWITT⁹²; MACATH y THOMPSON⁷⁹ y por MINNING y DING.⁸⁶ Parece ser que este derivado piperazinico, a grandes dosis, actúa sobre los adultos intestinales, tanto machos como hembras y también sobre larvas circulantes, aunque en menor grado.

CHAN y BROWUN,³² experimentaron el efecto del clorhidrato de piperazina, WARDA¹³¹ ensayó el hidrato, citrato y adipato sobre adultos

de *T.s.* en experiencia "in vitro" e "in vivo" en el ratón, KUZMICKI⁶⁶ emplea el adipato contra adultos simultáneamente con cortisona, SCHANZEL y HEGEROVA¹⁰⁸ ensayan la combinación del citrato con la Methiridina, SCHOOP¹¹¹ el hexahidrato. Parece ser en resumen, que las sales de piperazina actúan sobre los adultos de *T.s.*, fundamentalmente sobre los machos. No parecen tener acción alguna sobre las larvas musculares encapsuladas.

b. *Fosforados orgánicos.*

El Neguvón (0-0-dimetil-hidroxi-2,2,2-triclorofosfonato) de Bayer fue empleado por SCHOOP y LAMINA,^{112,113} SCHABLIZKI,¹⁰⁷ GELDBACH,⁴⁵ ZIMMERMANN,¹³⁹ bien como profiláctico o como fármaco para el tratamiento de la triquinelosis experimental, sobre todo cuando se potencia aplicando simultáneamente o en pretratamiento, los antídotos correspondientes, ha demostrado ser uno de los productos más eficaces, afectando en mayor o menor grado todas las formas de desarrollo de *T.s.*

El Asuntol (3-cloro-4-metil-7-oxicumarin-0,0 ester del ácido dietil-tiofosfónico de Bayer, (BERGMANN);⁵ el Ruelene (4-terbutil-2-clorofenil-metil-fosforamidato) de Dow Chemical Company (JANITSCHKE,⁵⁷ ZIMMERMANN,¹³⁹); Dimetoato (0,0-dimetil S (N-metilcarbamoilmetil)-fenil ester), ZIMMERMMNN¹³⁹ y el Famofos (American Cyanamid CL 38023, 0,0-dimetil-0-p (dimetilsulfamoil)-fenilfosforotriato), ZIMMERMANN¹³⁹ han sido empleados contra los diversos estadios de *T.s.* encontrándose como más activos contra adultos y larvas emigrantes el Asuntol y el Ruelene, y sólo sobre adultos el Dimetoato y el Famofos.

c. *Ditiazina iodada.*

Ha sido empleada por McCOWEN y col. (1958) y WARD (1961) (citados por KUZMICKI,⁶⁶ KROTOV y col.,⁶⁷ KUZMICKI,⁶⁶ ZIMMERMANN,¹³⁹) tiene una acción profiláctica marcada si se administra junto con el pienso, como tratamiento es efectiva contra los preadultos y algo menos contra adultos, no contra larvas emigrantes o enquistadas.

d. *Otros productos.*

OLIVER-GONZALEZ y BUEDING⁹³ lograron una reducción del número de adultos intestinales de *T.s.* en la rata tratando con naftoquinonas.

Soo-Hoo¹¹⁶ empleó un compuesto arsenioso, el clorhidrato de (N-(p-arsenosobenzil) glicin amida), que a la dosis máxima tolerada de 500 mg/kg muestra una cierta acción contra los adultos intestinales.

LARSH, GOULSON y YARINSKY⁷⁰ encontraron que el óxido de cadmio, a la dosis de 0,015 por 100 en el alimento, previene en el ratón el establecimiento de la triquinelosis. Fue éste uno de los primeros productos con propiedades profilácticas en la triquinelosis.

3. *Antibióticos y sulfamidas*

No se ha encontrado ninguna sulfamida con efecto sobre *T.s.* tanto adulta como larvaria. Tampoco existen antibióticos efectivos.

STONER¹²⁰ aplica Bristacilina y Dihidroestreptomicina notando una disminución en el número de ratones que morían en el curso de la triquinelosis. Atribuye el efecto a la supresión de una causa secundaria, la bacteriemia que comprobó en la sangre cardíaca y líquido peritoneal del 76,4 por 100 de los ratones. STONER y GODWIN¹²² también aplican antibióticos para combatir la bacteriemia que la administración de cortisona y ACTH provoca en los animales infestados.

ZIMMERMANN¹³⁹ ensaya la Higromicina B en cerdos infestados sin encontrar ningún tipo de efectos.

4. *Otros procedimientos*

Son numerosísimas las experiencias que se han hecho con *suecos*, intento de vacunaciones, etc., sin resultado (GOULD⁴⁸)

STEFANSKI y PREYJALKOWSKI¹¹⁸ estudiaron la acción de algunos gérmenes entéricos sobre los adultos de *T.s.*, viendo que el *Bacillus m-enteroides* inhibe las formas intestinales y por ende las musculares. Asimismo aislaron una cepa de *Lactobacillus acidophilus* de estómago de rata de cinco días, que inhibía también el crecimiento de los preadultos de *T.s.*

5. *Fármacos utilizados en el trabajo*

a. *Methiridina*

Es el producto activo del preparado comercial PROMINTIC (Imperial Chemical Industries, Inglaterra) y tiene por fórmula, es



dicir 2-(beta-metoxietil) piridina. Se trata de un alcaloide de la piridina, incoloro, oloroso, de densidad a 20° C. 0,988; completamente soluble en agua y solvente en cualquier proporción, débilmente alcalino, capaz de formar clorhidratos, bromhidratos y pícratos solubles en agua (BROOME y GREENHALCH¹³).

BROOME y GREENHALCH¹⁴ investigaron por primera vez los efectos antihelmínticos del preparado contra infestaciones experimentales del ratón con *Heterakis spumosa*, *Nippostrongylus muris* y *Nematospiroides dubius* en comparación con la fenotiazina y el befenium, demostrándose que es más efectivo contra las formas adultas de estos nemátodos y actúa con actividad similar a la del befenium contra las formas larvarias.

Ensayaron las vías digestiva, subcutánea e intraperitoneal, comprobando que se aumentaba la eficacia de una a otra disminuyendo, sin embargo, el margen de seguridad entre dosis tóxica y terapéutica, en la misma medida.

Actúa sobre los parásitos produciendo una parálisis por inhibición neuromuscular que no puede ser antagonizada por la acetilcolina, esto sugiere que ejerce un bloqueo de la placa motora del tipo del decametonium, hecho que también produce la sobredosis en los vertebrados. A pesar de esta actividad puede ser empleada como antihelmíntico debido a la diferencia cuantitativa de sensibilidad del sistema neuromuscular a la droga existente, entre un nemátodo y un vertebrado (entre parásito y hospedador) BROOME.¹²

En cuanto a la acción tóxica local (THORPE,¹²⁵) investigó las lesiones anatomo-patológicas e histopatológicas sucesivas a la inoculación por las distintas vías parenterales en rata, oveja y vaca. Produce una necrosis del tejido muscular, por lo que no se puede utilizar esta vía. Subcutáneamente y a dosis altas, ocasiona edema y congestión. Microscópicamente se observa necrosis coagulativa de epidermis y dermis, más extensa cuanto más alta sea la dosis; al cabo de unos cuatro días se observa una ulceración marcada en todos los niveles de dosificación. La lesión cura por organización conjuntiva al cabo de 16-20 días.

Aunque la Methiridina tiene el núcleo de la piridina en su estructura no posee las propiedades hepato y nefrotóxicas de la piridina.

Tampoco existe problema de acúmulo farmacológico tóxico, por lo que el tratamiento puede seguirse durante días.

La Methiridina tuvo una gran aceptación como antihelmíntico de animales domésticos. WALLEY,¹²⁹ la utilizó en experiencias extensivas sobre ovejas y vacas comprobando su eficacia sobre nemátodos de la superfamilia Trichostrongylidea.

Experiencias similares fueron llevadas a cabo en vacas y ovejas, utilizando la vía subcutánea por HAMILTON⁵³; MACRAE⁷⁷; GROVES⁵¹; en cerdos GRACEY y KERR⁵⁰ y en cerdos y ovejas por la misma vía YOUNG.¹³³ WALLEY¹³⁰ ensayó la vía intraperitoneal sobre las formas emigrantes.

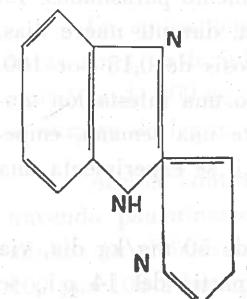
JANITSCHKE⁵⁷ ensayó la Methiridina en cobayos experimentalmente infestados a dosis de 180 mg/kg contra fases adultas (días 2, 3 y 4.^o de p.i.), contra fases emigrantes (días 8, 10 y 12.^o de p.i.) y contra larvas enquistadas (16, 18 y 20.^o de p.i.), encontrando un marcado efecto contra los adultos intestinales, un 94 por 100, disminuyendo notablemente contra formas hemáticas y musculares, un 59 por 100.

SCHANZEL y HEGEROVA¹⁰⁸ ensayaron en ratones experimentalmente infestados, la dosis subcutánea de 200 mg/kg comprobando que tiene una eficacia grande si se realiza el tratamiento entre el 5.^o y 15.^o día p.i., no reduciendo el número de larvas ni antes ni después de este período.

No conocemos más trabajos sobre el particular.

b. Thiabendazol (Mk —360. Thiabenzole)

Este antihelmíntico registrado con el nombre de Thiabenzole por Meck Sharp and Dohme, tiene por fórmula,



es decir, 2-(4'-tiazolil)-benzimidazol. Se trata de un polvo cristalino, poco soluble en agua (al nivel del 0,05 por 100 a pH 2), soluble en dietil-formamida, muy estable tanto en polvo como disuelto. Su espectro de absorción cae entre 304 y 243 milímicras, con una fluorescencia característica a 370 milímicras. Se identifica con Fe por formar con él un complejo coloreado.

Es muy poco tóxico, siendo la DL 50, por vía oral, 3,81 g/kg, para el ratón; 3,33, para la rata; y 3,85, para el conejo. Su índice terapéutico es muy alto, dado que la dosis medicamentosa para la oveja es de 50 - 100 mg/kg. No produce acúmulo farmacológico.

Se metaboliza rápidamente eliminándose en forma hidroxilada, por orina, en un 75 por 100, y por las heces, en un 14 por 100; sólo 1-5 por 100 es excretado como tal. Alcanza su máximo nivel en sangre a las 4-8 horas de ser administrado (BAYO ⁴).

Comenzó a utilizarse como antihelmíntico en ovejas (ECKERT, ³⁹) en ovejas, cabras, vacas, caballos, cerdos, perros y aves (BROWN y col., ¹⁵) especialmente contra los Trichostrongylidea de ovejas por administración oral (GORDON ⁴⁷; GARDINER y GRAIG, ⁴⁴ BAILEY y col., ³); en el pienso en cerdos, (EGERTON ⁴⁰). En trabajos comparativos con otros antihelmíntico en équidos (EGERTON y col., ⁴¹).

Su actividad contra *T.s.* se conoce desde los trabajos de BROWN y colaboradores. ¹⁵

CAMPBELL ¹¹⁷ comprobó los efectos profilácticos del Thiabendazol en la dieta de ratones infestados con *T.s.* Una dieta conteniendo 0,1 por 100, administrada desde cuatro días antes, a dos después de la infestación, protegió a los ratones de una dosis letal de larvas. La misma experiencia repetida con 0,05 por 100 en la dieta obtuvo un éxito notable en cuanto a la reducción de adultos.

Afirma que una dosis sola de 250 mg./kg. administrada el día siguiente de la infestación previene el establecimiento de la parasitosis.

CAMPBELL y CUCKLER ^{18, 19, 20} experimentaron el Thiabendazol en cerdos infestados, viendo que la proporción de 0,01 por 100 en el pienso, durante nueve días, previene la muerte de los cerdos infestados con una dosis letal de larvas aunque permanecen altamente parasitados. En la proporción de 0,1 por 100, en otra experiencia, durante nueve días, casi previene absolutamente la parasitación. La dosis de 0,15 por 100, durante siete días a partir del 5.º p.i., no erradicó una infestación moderada. En la proporción de 0,3 por 100 durante una semana, empezando a partir de la segunda o séptima semana p.i. se experimenta una reducción del 90 por 100 de larvas.

Administrando dos dosis de Thiabendazol de 50 mg/kg día, vía oral, durante cinco o diez días, comenzando a partir del 14 p.i., se

produce una reducción del 82 y 97 por 100 respectivamente, estando muchas de las larvas muertas.

CAMPBELL y CUCKLER (1962) (citado por CAMPBELL y col. ²¹) observaron que el Thiabendazol a la dosis de 150 mg/kg, un solo día, en ratones, 20-24 horas p.i., produce una reducción del 95-100 por 100. En la proporción de 0,5 por 100 en la dieta, desde el 14 al 21 p.i. reduce el 99 por 100 de larvas. Los autores, en el trabajo citado, logran inmunizar ratones, cortando repetidamente la infestación con Thiabendazol a las veinticuatro horas.

SCHOBERT ¹⁰⁹ demuestra que el Thiabendazol en ratones infestados con *T.s.* es efectivo a dosis de 100 mg/kg contra los adultos intestinales, pero ineficaz contra larvas emigrantes y enquistadas.

ZIMMERMANN ¹³⁹ ensaya el Thiabendazol como profiláctico en cerdos, a la dosis de 0,1 por 100 en el pienso, desde el segundo al vigésimo octavo día, mostrando ser altamente eficaz; de cinco cerdos infestados sólo uno tenía siete larvas en el diafragma.

SPHAETH y col. ¹¹⁷ y STONE y col. ¹¹⁹ han estudiado la posibilidad del tratamiento en el hombre con este producto.

CAMPBELL y CUCKLER ²² en un trabajo extenso, de publicación posterior a la realización del nuestro, resumen los efectos del Thiabendazol sobre las distintas fases del ciclo biológico de *T.s.*

Acción profiláctica.—En ratones, la dieta de 0,1 por 100 tanto de producto base como de clorhidrato, previene el establecimiento de la infestación.

En conejos, sin embargo, dietas de 0,1 ó 0,5 por 100 no suprimen la infestación.

En aplicaciones inyectables de una sola inoculación 72, 24 y 2 horas antes de la infestación, se comprobó que la dosis de 1 g/kg en agua y la de 500 mg/kg en aceite de sésamo, reducen en un 100 por 100 el número de larvas, no así las dosis menores.

Acción contra adultos intestinales.—El Thiabendazol va disminuyendo paulatinamente su eficacia a medida que se desarrollan los adultos en el intestino, v.gr., 50-100 mg/kg oral es efectivo en un 90-100 por 100 a las dos horas, a las ocho horas su eficacia disminuye un

80 por 100. Los adultos intestinales, pasado el tercer día de infestación son difícilísimos de erradicar. El proceso anterior se repite en las inoculaciones parenterales.

En ratas se encontraron efectos similares; 250 mg/kg a las veinticuatro horas p. i., eliminan la infestación, pero dosis de aun dos gramos/kg. a los seis días p.i., no reducen la población intestinal.

En el conejo, la dosis de 1 g/kg oral, elimina todos los adultos a los siete días, produciendo narcosis a los animales tratados. Una dosis de dos gramos/kg. es ya letal.

Acción contra las fases emigrantes.—Se produce un proceso similar, a medida que avanza la infestación disminuye la eficacia, por lo que hay que aumentar la dosis.

Acción contra las fases musculares.—Comprobaron que sólo es eficaz una medicación continua y a dosis altas, disminuyendo los efectos a medida que se instaura más la larva en el músculo, aunque llega a producirse una estabilización cuando las larvas están perfectamente enquistadas, pero la dosis necesaria es ya tóxica o cerca.

En la tabla II resumimos los antihelmínticos empleados recientemente en el tratamiento de la triquinelosis y los autores, dispuestos por orden cronológico.

TABLA II
TRATAMIENTO DE LA TRIQUINELOSIS
CUADRO RESUMEN DE AUTORES Y ANTIHELMINTICOS DESDE
1945 a 1965

Año	Autor (s)	Producto (s)
1947	OLIVER-GONZALEZ y HEVITT	Hetrazán
1948	OLIVER-GONZALEZ y BEUDIN	Naftoquinonas
1951	MINNING y DING	Hetrazán
1952	MAGATH y THOMPSON	Hetrazán
1952	Soo-Hoo	Compuesto aresinioso
1954	CHAIN y BROWN	Piperazina (clorhidrato)
1958	McCOWEN	Diatizina iodada
1958	LARSH y GOULSON	Oxido de cadmio
1959	SCHOOP y LAMINA	Neguvón
1960	WARDA	Piperazina (hidrato, citrato y adipato)
1961	CAMPBELL	Thiabenzadol
1961	DICKEL	Neguvón-Pam y Atropina
1961	CAMPBELL y CUCKLER	Thiabenzadol
1962	GELDBACH	Neguvón
1962	JANITSCHKE	Promintic y Ruelene
1962	KUZMICKI	Ditiazina iodada, piperazina (adipato)

TABLA II (Continuación)

Año	Autor (s)	Producto (s)
1962	SCHOOP y LAMINA	Neguvón
1962	SCHABLITZKI	Neguvón
1962	WARDA	Ditiazina yodada, piperazina (adipato).
1963	CAMPBELL y CUCKLER	Thiabenzadol
1963	SCHANZEL y HEGEROVA	Promintic y Piperazina (citrato)
1963	SCHOBERT	Thiabenzadol
1963	WEISSENBURG	Famofos
1964	SCHOOP	Piperazina (hexahidrato)
1964	SPEATH y col.	Thiabendazol (en el hombre)
1964	STONE y col.	Thiabendazol (en el hombre)
1964	ZIMMERMANN	Ditiazina, Thiabendazol, Neguvón, Ruelene, Dimetoato, Famofos.
1964	CAMPBELL y CUCKLER	Thiabendazol

B. Técnicas

1. Animales de experimentación

Para los estudios de triquinelosis se han preferido ratas, ratones, conejos, cobayos y cricetos. KAGAN (1960) cita veinte autores que han trabajado con ratas, dieciocho con ratones, diez con conejos, dos con cobayos, dos con cricetos, dos con monos, uno con perros y uno con vacas.

En los trabajos sobre ensayos de antihelmínticos que nosotros hemos recogido, diecisiete han sido realizados con ratón blanco, cuatro con cobayos, cuatro con cerdos y tres con ratas.

En Methiridina sólo THORPE¹²⁵ ha trabajado con ratas y no en ensayos de tratamiento, sino estudiando las lesiones histopatológicas.

En Thiabendazol, sólo CAMPBELL y CUCKLER²² hacen un breve trabajo con ratas.

En cuanto a los cricetos se refiere hay en la bibliografía muy pocos trabajos. Han sido empleados como hospedadores con el fin de estudiar el ciclo de la *T.s.* por BOYD y HUSTON⁹, HUMES y AKERS⁵⁶; CHUTE³³ y en comparación con el criceto chino (*Cricetulus griseus*) por RITTERSON⁹⁹.

No conocemos ningún trabajo sobre quimioterapia de triquinelosis llevado a cabo en cricetos.

En cuanto a las dosis infestantes (D. I.) y dosis letal (D.L.) de larvas de *T.s.*, recogemos la revisión de KAGAN⁵⁹ para la rata y el criceto. Para la rata albina la dosis infestante, D.I. = 15 larvas/g (ZAIMAN, 1953).—10-20 larvas/g MATOFF (citado por BORCHERT⁸). La D.L. = a 40 larvas/g en 12 a 35 días (McCoy⁸³): 60 larvas/g para RAPPAPORT⁹⁸.

Para el criceto, D.I. = 100-500 larvas animal (BOYD y HUSTON⁹). La D.L. para hembras de ocho semanas es estimada por SADUN y NORMAN¹⁰⁶ en 3.000 a 4.000 larvas, estableciendo una relación previa entre volumen del material infestante y el número de animales que mueren en cada grupo o tiempo de muerte.

En resumen, pueden tomarse como dosis infestantes de trabajo, 1.000-1.500 larvas para las ratas machos jóvenes (unos 40-45 días), 100 a 500 para el criceto de edad similar.

2. *Infestación experimental*

Para provocar una triquinelosis experimental es necesario administrar a los animales larvas infestantes. Todos los autores están de acuerdo en que deben ser larvas bien enquistadas, de uno a tres meses de edad, no excesivamente jóvenes (menores de 18-20 días) ni muy viejas, con procesos de calcificación, etc.

Los autores europeos prefieren realizar la infestación con larvas en carne, contadas mediante compresión, o dislacerando las fibras que las contienen con el auxilio de agujas, bajo el estereomicroscopio. Se utilizan ratas o ratones fuertemente infestados y se toman los meséteros o los músculos de la pierna, calculándose el volumen de carne que contenga el número de larvas preciso. Se mantiene a los animales veinticuatro horas antes sin comer y se les da la carne, individualmente en recipientes de vidrio, mezclada con galleta, SCHABLIDZKI¹⁰⁷ o sola (BERGMANN⁵; KUZMICKI⁶⁶; GELDBACH⁴⁵; GONZALEZ CASTRO y col.⁴⁶).

La mayoría de los autores, sobre todo los americanos, prefieren la administración de las larvas liberadas de la carne mediante digestión con pepsina y clorhídrico, tripsina o papaína.

En la tabla III resumimos los autores y los jugos digestivos artificiales utilizados para realizar la digestión.

Una vez hecha ésta, se separan las larvas mediante el aparato de Baermann (en el que ha podido hacerse la digestión), o mediante sedimentación, lavándolas con agua o sol. sal. las veces necesarias, o con centrífuga. Una vez las larvas aisladas y limpias, sin muchas impurezas, se concentran, cuentan y administran con sonda bucogástrica (con los animales anestesiados o no); o con una jeringa y aguja roma a estómago (ZAIMAN y col.¹³⁴); o con pipeta provista de bulbo de goma a esófago (ZAIMAN y col.¹³⁶).

Una variante de la administración es la aportada por LARSH y colaboradores (1935), y RITTERSON⁹⁹ que consiste en suspender las larvas aisladas en gelatina bacteriológica y administrarlas de esta manera.

TABLA III

TECNICAS DE DIGESTION

Autor (s), año	Técnica resumida
BACHMAN, 1928	0,4 % de pepsina, 0,3 % ClH.; 12 h a 37° C.
McCoy, 1932	1,0% pepsina, 1,0% ClH; 25 c c/g.
BOZICEVICH, 1938	0,5 % pepsina, 0,7 ClH; 15-18 h. en Baermann, a 37° C.
DORIN, 1946	1,5 % pepsina, 0,5 % ClH.
GURSCH, 1946	1,0 % pepsina, 0,5 % ClH; 16-18 h. a 37° C.
BRAND y col., 1952	0,5% pepsina, 0,7% ClH; en sol. sal.; 3 h. a 37° C.
STONER y HANTES, 1955	1,0 % pepsina, ClH hasta pH 2,5; 3 h. a 37° C.
TRAWINSKI, 1960	0,04 % pepsina, 0,25 % CiH.
ZAIMAN y col., 1960	1,0 % pepsina, 0,5 % ClH; 12 hr.
CAMPBELL, y col, 1963	0,7 % pepsina, 1,0 % ClH.
BERNTZEN 1965	2,0 % pepsina (1:10.000), 0,1 % ClH 4 h. a 37° C.
BERNTZEN, 1965	1.000.000 U. de tripsina, 2 g pancreatina, 2 g tauroglicolato sódico; en 100 c c; 2 hr. a 37° C. agitando.
MEEROVITCH, 1965	0,66 % pepsina, 0,5 % ClH; 3-4 h. a 37° C.; agitación mecánica.

3. *Valoración de los resultados*

La eficacia de un tratamiento y, de forma parecida, la comprobación de la utilidad de un hospedador experimental para la T.s., se puede hallar estudiando el número de adultos que se forman en el intestino y el número de larvas enquistadas en el músculo.

a. *Adultos en el intestino.*

McCoy⁸³ emplea la siguiente técnica, usada también por CAMPBELL y col.,²¹: tratamiento del intestino (la mucosa) con 0,04 por 100 de sosa en solución salina durante una hora a 37° C.; refrigeración y separación de los vermes con un cedazo, mediante el auxilio de chorros de agua. Llevar el sedimento a un volumen conocido y contar alícuotas.

PODHÁGECKY⁹⁵ divide el intestino en cuatro partes, lava la mucosa con agua sobre un vidrio de reloj, la examina en compresor y el líquido de lavado en un estereomicroscopio.

ROTH¹⁰³ toma el intestino en pequeñas porciones lo abre sobre un portaobjetos que sumerge en sol. sal., examinando al estereomicroscopio y separando los gusanos con pinzas.

Otra forma de recuperar adultos (BERNTZEN,⁶) consiste en colocar el intestino abierto sobre un dispositivo de Baermann con líquido Tyrode, o con sol. sal. y ponerlo en estufa a 37° C. durante dos horas. El mismo autor, en otro procedimiento, fija el intestino en líquido de Schaudinn y tiñe con hematoxilina de Harris, examinando después.

b. *Larvas musculares.*

A partir de los 30-35 días de la infestación en que se encuentran enquistadas.

Los autores europeos, en los trabajos sobre quimioterapia, prefieren analizar el número de larvas mediante técnicas de compresión. BERGMAN⁵ toma de cada animal tres muestras de 100 mg. de los músculos del muslo (extremidad posterior de los músculos cuadriceps femoral, biceps femoral y gastronemios). JANITSCHKE⁵⁷ prefiere examinar 250 miligramos de músculos de la pierna (muslo). SCHABLITZKI¹⁰⁷ analiza los resultados por compresión de tres muestras de 100 mg. de músculo de la pierna por animal. GELDBACH⁴⁵ sigue un procedimiento similar al del autor antes citado.

La mayor parte de los autores, y desde luego todos los americanos, prefieren analizar el número de larvas por digestión de la canal eviscerada. Se pica en un molino de carne, se homogeniza bien y se digiere una o varias alícuotas. Se emplea uno de los métodos de digestión descritos (véase antes). Cuando se trata de animales pequeños, ratón por ejemplo, puede hacerse una mezcla con la carne del lote y digerir una parte. Una vez hecha la digestión se separan las larvas y se cuentan, refiriendo las halladas al peso de carne del que se partió.

Un caso particular de análisis dentro de la digestión, que dio a los autores una gran exactitud y reproductibilidad, es el empleado por CAMPBELL y CUCKLER.²² Consiste en digerir el tórax, diafragma incluido, de cada animal o alícuotas de un "pool" de tórax del lote. El número de larvas hallado multiplicado por el factor 4,5 les da el número total de larvas de la canal, para el ratón. El cálculo se basa en suponer que el tórax es el 18 por 100 del peso de la canal y alberga un 22 por 100 de las larvas totales.

Las larvas recientemente llegadas al músculo se ven bien por compresión. Aparecen en el líquido que a modo de halo rodea a la preparación comprimida entre las placas de vidrio. No es fácil verlas por digestión, pues se pueden destruir durante el proceso y desde luego mueren, lo que significa que se pierden en gran número al realizar la sedimentación NELSON y MUKUNDI.⁸⁷

En las investigaciones epidemio y epizootiológicas, la mayoría de los autores prefieren la digestión, por el gran volumen de tejido muscular que se pueden tratar (BOZICEVICH,¹⁰; ZIMMERMANN,¹³³), pues estiman que la compresión tiene poco valor, salvo en las infestaciones fuertes. El método de la digestión tiene limitaciones; es bueno, cuando las larvas permanecen vivas, no así cuando están calcificadas, en cuyo caso se liberan difícilmente quedando en los residuos de la digestión que se eliminan al filtrar. Por esta razón, aun tratándose de infestaciones ligeras con larvas muertas, dará mejor resultado la compresión que la digestión.

Parece ser que, en volúmenes iguales de carne examinada, se encuentra mayor número de larvas por compresión que por digestión MATTOFF.⁸ MAZZOTTI (citado por LEINATI y col.,⁷¹) asegura que el examen triquineloscópico de 10 g de carne da cifras de larvas mayores que la digestión de 30 g.

En el análisis de los resultados en los ensayos farmacológicos de tratamiento de la triquinelosis es injustificado utilizar uno solo de los procedimientos. Ambos son útiles y se complementan.

INVESTIGACIONES PERSONALES

III. MATERIALES Y METODOS

A. Datos generales

1. Animales experimentales.

Se han utilizado cricetos (hamster sirio o hamster dorado). *Mesocricetus auratus*) procedentes de la Sección de animales de experimentación de la Cátedra de Zootecnia 1.^o de la Facultad de Veterinaria de León. Asimismo se han utilizado ratas blancas (*Rattus norvegicus* var. Wister) de la misma procedencia que los cricetos y del ratario de la Fábrica de Antibióticos, S. A.

Los animales se mantuvieron durante toda la experiencia en grupos de seis a ocho individuos, en jaulas de paredes de malla de alambre galvanizado y suelo de bandeja de cinc amovible. Las jaulas estaban dispuestas sobre anaqueles, levantadas del suelo y formando en conjunto un solo piso, para evitar posibles infestaciones cruzadas entre lotes, por las haces.

La alimentación de los animales se hizo a base de pienso granulado, fabricado por la Cátedra de Alimentación de esta Facultad, según las normas para animales de experimentación del N.R.C. (1962) (Consejo Nacional de Investigaciones de EE. UU.), suplementada con lechuga. Inmediatamente después de la infestación se les suministró además una ración de alto poder nutritivo, semejante a la que se aplica en el destete precoz de cerditos de seis a doce kilogramos de peso, así como leche fresca. El agua se suministro siempre "ad libitum".

La temperatura del local estuvo regulada en todo momento dentro de los márgenes fisiológicos de estas dos especies. La calefacción, en invierno, se logró con lámparas de infrarrojos.

Cuando se nos presentó en algunos animales, antes de la infestación, una neumonía desencadenada por el transporte, se trató con clor

hidrato de Tetraciclina en el agua de bebida, no empezando las experiencias hasta que clínicamente y mediante autopsias y siembras comprobamos que había desaparecido el proceso.

Por escasez de animales se utilizaron indistintamente, a veces, machos y hembras. Se prefirió no obstante, siempre que se pudo, utilizar solamente machos.

La edad de los animales empleados en cada experiencia se especifica en las mismas. Por norma general, se infestaron sólo animales jóvenes, a 10-15 días del destete.

El número de animales por lote, tanto experimental como testigo, fue de seis, siempre que fue posible. Los lotes de animales que tenían testigos comunes se procuró que fueran de camadas uniformes, hijos de hermanos y distribuidos lo más homogéneamente posible.

2. Cepa de *Trichinella spiralis*

La cepa de *T.s.* utilizada fue aislada de gato montés y nos fue remitida por el veterinario don Manuel Rodríguez García, de Pola de Lena (Oviedo).

Durante cuatro meses previos al comienzo de la experiencia, se pasó cada treinta y cinco días por ratas y cricetos con el fin de adaptarla perfectamente a las condiciones de hospedador en las que realizamos el trabajo. Al mismo tiempo, como reserva de la cepa, se infestaron gatos.

3. Fármacos ensayados

Methiridina en solución estéril al 90 por 100 (PROMINTIC) que nos fue cedida amablemente por los Laboratorios ZELTIA, S. A.. La aplicación se hizo de la siguiente manera: Se tomaron 1,1 c c de Methiridina al 90 por 100 y se llevaron a 20 c c de agua estéril libre de pirógenos, de tal forma que en cada 0,1 c c había 5 mg. de producto activo. A continuación se confeccionó una tabla de pesos, mg. de producto y c c de preparado, aplicándose según el peso individual hallado inmediatamente antes del tratamiento. Para la inoculación subcutánea, la inyección en esta forma, aplicada con jeringa de insulina, estuvo de acuerdo con las normas previstas en los estudios sobre toxicidad (véase antes), pues, por ejemplo, para dosificar a razón de 200 mg/kg., en ratas pesando 120 g (la media aritmética en el momento del tratamiento)

el volumen recibido fue de 0,48 c.c. Para aplicación de 800 mg/kg se hizo la dilución llevando 1,1 c.c (1 g de Methiridina) a 5 c.c de agua estéril.

Las ratas se marcaron en el momento del tratamiento con una solución concentrada de ácido pírico, con lo cual podíamos identificarlas en todo momento. Los cricetos dorados se marcaban mediante cortes especiales del pelo de la cabeza y los cricetos albinos igual que las ratas.

Thiabendazol en forma de polvo cristalino, 100 por 100 de producto activo, que nos fue cedido por la Compañía Española de Penicilina, S. A. Se suministró sólo en la primera experiencia en forma de polvo envuelto con galleta sobre patata cocida. En las restantes suspendido en agua destilada. No se disolvió en agua acidulada, pues dada la baja proporción de solubilidad, era necesario aplicar grandes volúmenes por rata. Por esta razón, la cantidad de Thiabendazol por animal, de acuerdo con su peso, se suspendió en 2 c.c de agua destilada templada con lo que, agitando, se logró una suspensión aceptable. La aplicación se hizo con jeringa, aguja corta, y como sonda un tubo de plástico. En ningún caso se anestesió a los animales, pues creemos que son más fáciles los accidentes. Con el animal sujeto por un ayudante, que lo coge con la mano izquierda por la piel del cuello-dorso y con la derecha por el rabo, o por las extremidades posteriores en el criceto, presentándolo al operador de cara y en posición vertical. De esta manera se puede sondar a los animales sin peligro.

La sonda va provista de un tubito de vidrio que impide que el animal la muerda durante la operación. Una vez administrado el fármaco se toma de 0,5 a 1 c.c de agua con la misma jeringa y se aplica, con lo que se arrastran los residuos de producto que quedan en la jeringuilla y sonda. Para mantener la suspensión, el líquido es agitado constantemente.

4. Técnicas.

a. Dosis infestante

Las ratas se infestaron con 1.500 larvas de carne, en los cuatro primeros lotes de seis animales, y 1.000 en todos los restantes.

Para cricetos, después de una experiencia previa de infestación con dosis crecientes desde 300 a 800, se eligió la dosis de 500 larvas. En todo caso se aplicaron con sonda.

b. Infestación con carnes parasitadas

A partir de las ratas fuertemente infestadas 35-40 días antes, se tomó tejido muscular que se picó en un molinillo especial para cortar carne (marca EIMA), homogeneizándose bien después. Del conjunto se tomaron muestras suficientes, que se contaron por compresión en placa, una vez sabido el número de larvas por gramo, se pesaron las dosis necesarias; que se dieron a las ratas en forma de albóndigas envueltas en polvo de galleta. Los animales, que estaban sin comer desde la tarde anterior, se pusieron en recipientes de vidrio individuales, dándoles la carne en placas de Petri pequeñas. El método resultó tedioso, por lo que a continuación se hizo con larvas liberadas de la carne por digestión.

c. Infestación con larvas obtenidas previa digestión de la carne.

Se siguió la técnica de BRAND y col.¹¹ adaptada a nuestras condiciones de trabajo de la siguiente forma: Se parte de ratas infestadas como en el caso anterior. Se les quita la piel y evisceran, pasando la canal entera en la máquina ya citada. La digestión se hace sobre 500 c.c de sol. sal. al 0,4 por 100, con 5 g de pepsina (1:100) Riser y 3 c.c de ácido clorhídrico Merck de d = 1,12, en un erlenmeyer de 500 c.c, poniendo 10 g de carne bien repicada con la tijera, sobre la misma cápsula de plástico en la que se hizo la pesada. Se pone sobre un agitador magnético diez minutos y se lleva a estufa durante seis horas a 37,5° C. Dos veces durante la digestión se vuelve a agitar durante 10-15 minutos, y al final del proceso, si fuera necesario. Una vez completa la digestión, se sifona más de la mitad del líquido sobrenadante y el resto agitado se pasa a una copa de 1.000 c.c, filtrando por un colador de los habitualmente utilizados en coprología. Con sol. sal. se completa hasta los 1.000 c.c., se deja reposar durante dos horas, se sifona el líquido sobrenadante y se vuelve a restituir volumen. La vez siguiente se dejan 100 c.c y sobre ellos se realiza el recuento del número de larvas. Este se hace mediante una cámara coprológica de McMASTER-WETZEL, la cual consta de tres compartimentos que albergan bajo cada una de las cuadrículas, un volumen de 0,15 c.c. Como quiera que se hacen dos recuentos por muestra, se llena homogeneizando previamente, y cuentan seis alícuotas de 0,15 c.c. La cantidad de larvas halladas se refiere al volumen de 100 c.c del que se partió. Cuando, para obtener un volu-

men conveniente, hubo necesidad de proceder a una reducción del mismo o a una dilución, aunque se hiciera de la forma más correcta, se volvía a realizar el recuento mediante la cámara. El llenado de la cámara se hizo con una pipeta de grueso calibre provista de bulbo de goma, procurando no llenar excesivamente la celdilla, más bien quedándose corto para evitar se derrame líquido al colocar sobre ellas el cubreobjetos provisto de las cuadrículas, con lo que, al quedar las larvas sedimentadas se producirá un error de volumen. Este y otros cuidados se tuvieron muy en cuenta para prevenir, en lo posible, los errores inherentes al método.

Mediante jeringa y sonda bucogástrica se infestó a los animales, procurando que el volumen del inóculo no fuera mayor de 2 c.c por animal. Una vez introducidas las larvas en el estómago se cargaba en la jeringa 0,5 c.c de agua con el fin de lavar ésta y la sonda.

Las infestaciones se hicieron siempre por la tarde, a las 19,00-20,00 horas. Después de la infestación observamos a los animales en prevención de vómitos, no habiéndose apreciado a lo largo de las experiencias ningún caso, ni en ratas ni en cricetos.

d. Recuperación de adultos

Se hizo con el fin de comprobar la viabilidad, en un test rápido, de las larvas recuperadas de los lotes que habían sufrido el tratamiento con Thiabendazol en diferentes momentos del ciclo biológico.

Se siguió la técnica de McCOY,⁸³ CAMPBELL y col.²¹ que, en nuestras condiciones, se hizo de la siguiente forma: Se sacrificaron los animales al sexto-séptimo día p.i., se separó el intestino delgado, y sobre un erlenmeyer de boca ancha, se abrió longitudinalmente, cortándole en trozos de 2-3 cm., añadiéndose al matraz, 50 c.c de sol. sal. con 0,04 por 100 de hidróxido sódico. Se agitaron suavemente durante tres a cuatro minutos con agitador magnético y se llevaron a estufa durante una hora a 37° C. Al sacarlos de la estufa se volvían a agitar y se llevaban a nevera durante la noche. A la mañana siguiente se vertía sobre un colador en una copa de 1.000 c.c, lavando los trozos de intestino que quedaban sobre la malla con agua corriente a presión, hasta completar los 1.000 c.c. Dejadas en reposo durante dos horas para sedimentar, al cabo de las mismas se sifonó el líquido sobrenadante, observándose el sedimento al esteromicroscopio en placas de Petri, provistas de un re-

tículo pintado en el fondo externo. De esta forma se contaron todos los adultos existentes en el sedimento.

Tanto para el recuento de las larvas, como de los adultos, se empleó un contador automático de mano.

5. Análisis de los resultados.

El número de larvas de cada animal tratado o testigo se halló, tanto por digestión como por triquineloscopia, siempre a partir de los treinta y cinco días p.i., y diez o más días después del último tratamiento.

a. Triquineloscopia en diafragma

Cada animal de cada lote, una vez acabada la experiencia, se sacrificó por golpe en la cabeza. Se quitó la piel y las vísceras. Sobre pequeños pocios de vidrio numerados se tomó una muestra de diafragma, cortada siempre en forma de cuña, de la porción superior izquierda que llevaba parte tendinosa y muscular. Cada porción fue pesada en una balanza de precisión y cortada en trozos longitudinales al sentido de las fibras, comprimiéndola entre las placas de triquineloscopia para contar el número de larvas a 35 aumentos. El número hallado fue referido al peso de la muestra y gramo de diafragma.

Aunque a primera vista parece innecesario realizar la triquineloscopia, si se hace también digestión, no es así porque la observación de las larvas en fresco, enquistadas o no, nos informa sobre la "condición" de las mismas. De esta manera se pueden apreciar el grado de enquistamiento, o que están lesionadas, o que los quistes se encuentran invadidos, calcificados, etc.

Aunque el número de larvas hallado por compresión y el encontrado por digestión difieren, como el proceder se sigue tanto en los tratados como en los testigos, se puede saber en todo caso, el por ciento de reducción por cualquiera de los métodos.

b. Digestión de la canal

Una vez aislada la muestra de diafragma, se separó éste, y el resto de la canal se picó en el molino descrito, recogiendo la carne picada sobre placas de Petri, en las que se homogeneizaba con tijera cur-

va para que toda la canal quedara uniformemente distribuida. Del total, tomando de varias partes de la placa, se pesaban 10 g que una vez repicados se digerían en 500 c.c de agua con 1 por 100 de pepsina y 0,6 por 100 de clorhídrico, agitando magnéticamente durante quince minutos al comienzo, llevándose a estufa a 40° C. durante la noche. A la mañana siguiente se repetía el agitado si la digestión no era completa. Al terminar éstas, cada una se ponía en una copa de vidrio de 1.000 c.c, haciendo pasar el digerido por un colador y completando el volumen con agua corriente. Al cabo de dos horas se decantaba por sifonado la mayor parte del líquido y se volvía a restituir volumen. La sedimentación y lavado se hacían tantas veces como fuera necesario para dejar las larvas limpias.

El recuento se llevaba a cabo sobre un volumen de 100 c.c, en una cámara de McMASTER-WETZEL, como en el caso de la infestación. La cantidad media de larvas encontrada en seis muestras de 0,15 c.c se refería a 100; la cantidad de larvas así halladas divididas por diez nos proporcionaba la cantidad de larvas gramo de canal.

Al realizar el recuento se distinguía entre larvas vivas (las que se encontraban perfectamente enrolladas, o que sin estarlo tenían movimiento al poner la cámara sobre platina caliente a 30-40° C. o calentarla por otro procedimiento cualquiera) y larvas muertas, estiradas, adoptando la forma típica de seis abierto o inmóviles al calentamiento. Asimismo observamos el grado de madurez de las larvas apreciando su tamaño, estructura y demás datos.

c. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en cada experiencia fueron sometidos a pruebas de significación según los métodos de la t de Student y análisis de la varianza, siguiendo en cada caso particular las normas señaladas por SNEDECOR.¹¹⁵

d. Técnicas histológicas.

Sobre aquellas muestras en que se encontraron, al realizar la triquineloscopia, lesiones en larvas, o anormalidades en los quistes, se siguió el procedimiento histológico de fijación, cortes en parafina y tinción por hematoxilina eosina o picroíndigo de carmín (método de Gállego). En la interpretación histológica se siguió a SZEKY y NEMÉSERY.¹¹⁶

c. Fotomicrografía

Las fotografías tanto en preparaciones en frasco como histológicas se hicieron con cámara Orthomat sobre microscopio Ortholux de Leitz y película Adox-KB-14°Din.

B. Experiencias realizadas

En la exposición de las mismas no se sigue el orden cronológico de elaboración.

I. Con ratas y *Methiridina*

Constó de tres lotes experimentales y un lote testigo. La Methiridina se aplicó subcutáneamente, como se ha descrito, en el dorso de las ratas.

Todas las ratas se infestaron el mismo día con 1.000 larvas por sonda bucogástrica.

a. Experiencia número 1

Lote de seis ratas hembras de 40 días de edad, en buen estado de salud, de 52,5 g de peso medio.

Tratamiento.—Contra *T.s.* en fase adulta. Reciben la primera dosis de 800 mg/kg el tercer día p.i., sin que se observe ningún síntoma anormal. El sexto y noveno día reciben 200 mg/kg.

b. Experiencia número 2

Lote de cinco ratas machos de 50 días de edad, con un peso medio de 134 g en el momento del tratamiento.

Tratamiento.—Contra larvas emigrantes. Reciben una primera dosis de 800 mg/kg el 11.^o día p.i. y dos de 200 mg/kg los días 16-19.^o

El tratamiento va encaminado a combatir las larvas circulantes. En la rata permanecen los adultos, hembras sobre todo, hasta el día 16.^o p.i. Desde el 11.^o al 19.^o en que se hizo el tratamiento, además de los adultos, se actúa sobre larvas en II estadio juvenil que comienza a ma-

nifestarse a partir del 11.^o día y sobre el IV estadio (larvas totalmente desarrolladas, como las que se encuentran en el interior de los quistes) que comienzan a formarse a partir del 15.^o día post infestación.

c. *Experiencia número 3*

Lote de tres ratas machos de 50 días de edad, con un peso medio de 127,5 g en el momento de la infestación. En origen el lote era de cinco ratas, como en el anterior; dos de ellas murieron, una al día siguiente de la infestación por accidente mecánico y otra segunda después de ser tratada, por un error de dosificación de fármaco.

Tratamiento.—Contra larvas circulantes y enquistadas. Como en los dos casos anteriores reciben una primera dosis alta de 800 mg/kg al 17.^o p.i., y dos de 200 mg/kg los días 19 y 21.^o

El tratamiento, como en la experiencia número dos, va dirigido contra las larvas emigrantes, en este caso un poco más avanzadas, centrándose sobre el III estadio juvenil y el IV. Los posibles efectos sobre el II estadio están ya muy disminuidos, pues en el 21.^o día p.i. quedan pocos sin haber mudado.

2. *Con ratas y Thiabendazol*

(*Efectos sobre la descendencia*)

a. *Thiabendazol 50 mg contra preadultos.*

Lote de seis ratas machos, de 40 días de edad con un peso medio de 111,1 g.

Infestación.—Con 1.500 larvas administradas en carne por el procedimientos descrito.

Tratamiento.—Contra preadultos intestinales, 50 mg/kg los días 1-2 y 3.^o p.i., dando el fármaco juntamente con polvo de galleta.

b. *Thiabendazol 50 mg contra larvas enquistadas*

Lote de seis ratas machos con las mismas condiciones de edad del grupo experimental anterior y un peso medio en el momento de la infestación de 105 g.

Infestación.—Con 1.500 larvas de carne.

Tratamiento.—Contra larvas enquistadas (IV estadio), 50 mg/kg diarios durante cinco días del 22 al 26.^o p.i., administrado suspendido en agua con sonda bucogástrica.

Lote testigo de las dos experiencias anteriores formado por seis ratas de la misma procedencia, infestado simultáneamente con 1.500 larvas, que no recibe ningún tratamiento.

Lote de cuatro ratas machos al destete, comprobantes de la viabilidad de las larvas recuperadas de a. Thiabendazol 50 mg, como prueba de adultos. Infestadas con 1.000 larvas y sacrificadas a los siete días.

Lote de cuatro ratas al destete, machos comprobantes de la viabilidad de las larvas procedentes de la experiencia b. Thiabendazol 50 milígramos. Infestadas con 1.000 larvas y sacrificadas a los siete días.

c. *Thiabendazol 100 mg contra larvas enquistadas*

Lote de seis ratas machos infestados con 1.500 larvas a partir de digestión de ratas reserva, con sonda bucogástrica.

Tratamiento.—Contra larvas enquistadas con 100 mg/kg día desde el 35 al 39.^o p.i. (Total cinco días con una dosis doble a la ensayada en los dos casos anteriores).

Lote de cuatro ratas machos, siete días después del destete, comprobantes de la viabilidad de las larvas del lote tratado mediante prueba de adultos. Se infestan con mil larvas vivas mediante sonda y se sacrifican a los ocho días p.i., simultáneamente al grupo anterior con 1.000 larvas y se sacrifican a los 35 días p.i.

Lote mixto de seis ratas, tres machos y tres hembras, del mismo tiempo que las del grupo anterior. Comprobante de la viabilidad mediante pruebas de larvas. Se infestan simultáneamente al grupo anterior con mil larvas y se sacrifican al 35 día p.i.

d. *Thiabendazol 250 mg/kg.*

Las experiencias anteriores tenían por fin comprobar la viabilidad de las larvas (la disminución de las posibilidades de reinfección a consecuencia del tratamiento contra preadultos y larvas enquistadas). Las presentes tuvieron por fin comprobar la eficacia en este sentido cuando el tratamiento se realiza contra adultos intestinales y larvas emigrantes (II y III estadio juvenil).

La experiencia constó de dos lotes experimentales y cuatro lotes comprobantes de la viabilidad de las larvas obtenidas en los dos primeros.

Lote A.—Cinco ratas mixtas, tres machos y dos hembras, diez días después del destete se infestan con 1.000 larvas procedentes de la reserva, mediante sonda.

Tratamiento.—Al tercer día p.i. reciben 250 mg/kg de Thiabendazol suspendido en agua con sonda.

Prueba de adultos.—Se hace de la forma habitual infestando seis ratas machos con 1.000 larvas procedentes de digestión de "pool" de las canales del lote A. El sacrificio se realiza a los siete días p.i., y se recuperan los adultos del intestino delgado solamente.

Prueba A-1 (Prueba de larvas).—Lote de cinco ratas machos, una semana después del destete, inoculadas con 1.000 larvas simultáneamente al grupo anterior. Sacrificio a los 35 días p.i.

Lote B.—Seis ratas hembras, de la misma procedencia que el lote A, se infestaron simultáneamente a aquél con 1.000 larvas, mediante sonda.

Tratamiento.—Con 250 mg/kg día, el 13-14-16.^o p.i., con lo cual se actuó contra las larvas emigrantes (II y III estadio juvenil fundamentalmente). El Thiabendazol se aplicó en agua mediante sonda.

A partir de las larvas recuperadas mediante digestión de un "pool" de las canales, se realiza como en el caso anterior, las dos pruebas de viabilidad de las larvas.

Prueba de adultos.—Se infestan seis ratas machos, en condiciones óptimas, con 1.000 larvas vivas mediante sonda, sacrificándose a los siete días.

Prueba de larvas (Prueba B-1).—Lote de seis ratas machos infestadas con 1.000 larvas al mismo tiempo que el lote anterior. Sacrificio a los 35 días p.i.

3. Con ratas y Thiabendazol 250 mg

(Efectos reductores sobre el número de larvas)

Se estudian los efectos reductores sobre el número de larvas de tres dosis coincidiendo con tres momentos distintos del ciclo biológico.

La experiencia constó de cinco lotes de seis ratas distribuidos de la siguiente manera: Lote C, contra adultos intestinales, y D, contra larvas emigrantes, con un testigo común, y, lote E, contra larvas enquistadas, y su testigo.

Primera parte.—Infestación simultánea de tres lotes de seis ratas. Cada lote está formado por cuatro machos y dos hembras.

Se infestan con 1.000 larvas procedentes de la reserva de ratas y se distribuyen de la siguiente manera:

a. Lote E (Contra larvas enquistadas).

Recibe los días 3, 4 y 5.^o p.i., 250 mg/kg según el peso individual de cada rata, de Thiabendazol suspendido en agua con sonda.

b. Lote D (Contra larvas emigrantes)

Recibe los días 13, 15 y 17.^o p.i. 250 mg/kg de Thiabendazol. en las mismas condiciones que el lote anterior.

c. Lote testigo común

No recibe ningún tratamiento.

Segunda parte.—Infestación de dos lotes de seis ratas con 1.000 larvas procedentes de una segunda reserva, distinta a la anterior.

a. Lote E (Contra lasvas enquistadas)

Recibe los días 42, 43 y 44.^o p.i. 250 mg/kg de Thiabendazol suspendido en agua.

b. Lote testigo

Infestado simultáneamente con el anterior no recibe ningún tratamiento.

c. Pruebas de viabilidad

Se hicieron también a partir de las larvas recuperadas del lote E. Consistió en una prueba doble, de adultos (lote de cuatro ratas infestadas con 1.000 larvas y sacrificadas a los siete días p.i.) y de larvas (lote E-1), compuesto por siete ratas infestadas con 1.000 larvas y sacrificadas a los treinta y cinco días.

4. *Con cricetos y Thiabendazol 500 mg.*

Tuvieron como finalidad comprobar la eficacia del producto en la infestación experimental de esta especie.

La infestación de los cricetos se hace con 500 larvas animal, mediante sonda.

El tratamiento consiste en una sola dosis de 500 mg/kg., suspendido en agua destilada.

Cada lote experimental constó de seis animales machos, a los quince días del destete, procurando que fueran lo más uniformemente posible, combinando albinos con dorados, etc. Por cada lote experimental había un lote testigo que se infestaba simultáneamente. Las tres experiencias se hicieron con independencia una de la otra.

a. *Prueba F. (Contra adultos)*

Formada por seis cricetos experimentales y cuatro testigos. Tiene como fin comprobar la eficacia de 500 mg/kg. contra *T.s.* adultos en el intestino, el tercer día de infestación.

El lote testigo no recibe ningún tratamiento.

b. *Prueba G. (Contra larvas emigrantes)*

Constituída por seis cricetos experimentales y cuatro testigos. Tuvo como finalidad comprobar la eficacia de 500 mg/kg de Thiabendazol contra larvas emigrantes, once días p.i.

El lote testigo no recibe ningún tratamiento.

c. *Prueba H. (Contra larvas enquistadas)*

La componen cinco cricetos experimentales y cuatro testigos. La finalidad de la experiencia fue comprobar la eficacia de la dosis de 500 mg/kg contra larvas perfectamente enquistadas, retrasando consideradamente el sacrificio, para facilitar al organismo hospedador el tiempo suficiente de eliminación de aquellas larvas por el tratamiento.

El lote testigo se sacrificó a los 44 días de infestación, comprobando en él el estado de enquistamiento de las larvas, que se retrasa con respecto a las ratas. A los 44 días se trató el lote experimental.

5. *Experimentación comparativas de Thiabendazol y Methiridina*

Aunque no se pretendió lograr la erradicación de una infestación experimental con ambos productos, se hizo para comprobar los efectos de los dos fármacos contra larvas emigrantes a dosis medias (dentro de las empleadas en el trabajo), y con cricetos.

Constó de tres lotes infestados simultáneamente con 500 larvas. Uno para tratamiento con 400, 200 y 200 mg/kg de Methiridina subcutánea los días 17, 18 y 21.^o de p.i. Otro para tratamiento con 250 mg/kg de Thiabendazol los mismos días, y un tercer lote testigo de los dos anteriores.

IV. RESULTADOS

1. *De experiencias con ratas y Methiridina*

a. *Contra T.s. en fase adulta (experiencia primera)*

Se sacrifica el lote a los 45 días, sin que por triquineloscopia de más de 100 mg de cada diafragma ni por digestión se encontraran larvas.

b. *Contra larvas emigrantes (experiencia segunda)*

El sacrificio del lote se realiza a los 60 días de infestación. Todas las ratas presentaban lesionada la zona de inoculación subcutánea, aunque en estado de franca regresión cicatrizal.

El cuadro I, refleja el resultado del examen triquineloscopio sobre los diafragmas. El cuadro II, trata de ilustrar la distribución de los tres tipos fundamentales de larvas, que por el simple examen triquineloscopio se consideran anormales. El cuadro III, muestra el número de larvas por gramo de canal, vivas y muertas.

c. *Contra larvas al final de la emigración (experiencia tercera)*

El sacrificio del lote se realizó a los 60 días de infestación. Como en el caso anterior, aún no se notaban las lesiones subcutáneas producidas por la Methiridina. El cuadro IV, muestra el resultado del examen triquineloscópico. El cuadro V, la distribución de las larvas anormales. El cuadro VI, el número de larvas por gramo de canal, vivas y muertas.

Al comparar las medias de los lotes experimentales con el lote testigo (cuadro VII), se aprecia una eficacia 100 por 100 contra los adultos intestinales.

La eficacia disminuye notablemente en la experiencia segunda, contra el II y III estadio juvenil, que se evalúa respecto a las medias aritméticas en un 34,7 por 100 de reducción en el diafragma y 32,6 por 100 en la canal.

En la experiencia tercera, contra larvas más avanzadas, la reducción es menos constante, aunque en la canal alcanza un 48,6 por 100 (véase cuadro VIII).

Por otra parte, en la triquineloscopia de la experiencia segunda (cuadro I), el 23,3 por 100 de las larvas son anormales y en la digestión (cuadro III), el 43,5 por 100 están muertas. En la experiencia tercera, en la triquineloscopia (cuadro IV), son anormales el 22,7 por 100, y en la digestión (cuadro VI), el 31,2 por 100 se encuentran muertas.

2. De experiencias con ratas y Thiabendazol.

(Efectos sobre la descendencia).

a. Thiabendazol 50 mg contra preadultos

Se sacrificó el lote a los 40 días de la inoculación. El análisis de los resultados se hizo mediante triquineloscopia de diafragma y digestión de diez gramos de canal (cuadro IX). Al compararlo con el lote testigo (cuadro X) no se aprecia reducción en el diafragma, al contrario, hay menos larvas en el testigo que no recibió tratamiento; en cuanto a la canal, la reducción apreciada es muy pequeña: un 2,5 por 100.

b. Thiabendazol 50 mg contra larvas enquistadas.

El cuadro XI muestra el número de larvas encontradas por triquineloscopia en el diafragma y digestión en la canal. La experiencia terminó a los 45 días de la infestación. Comparando los resultados obtenidos con los del lote testigo (cuadro X) se aprecia una ligera reducción en el diafragma, 6,5 por 100 y una notable en la canal, 62,5 por ciento.

No se encontró reducción práctica en el número de adultos en la prueba realizada a partir de larvas procedentes de "a. Thiabendazol 50". A los siete días se recuperó una media de 235 vermes por rata,

recuperación de 23,5 por 100 de las larvas inoculadas, próxima a la obtenida en los testigos.

La prueba de adultos realizada a partir de "b. Thiabendazol 50 mg" mostró el efecto secundario del Thiabendazol pues al cabo de siete días se recuperó del intestino delgado una media de 30,6 adultos, lo que significa que solamente un 1,8 por 100 de las larvas inoculadas fueron viables, frente a un 24,8 por 100 que es el número medio que se recupera en los testigos.

c. Thiabendazol 100 mg contra larvas enquistadas

Se sacrificaron a los 45 días p.i., seis días después de haber cesado el tratamiento. Mediante digestión se obtuvieron el número suficiente de larvas vivas para infectar los dos lotes comprobantes de la viabilidad.

Prueba de larvas.—Se recuperan una media de 19,6 adultos de *T.s.* por rata, lo que significa que la viabilidad de las larvas sólo alcanza a 1,9 por 100.

Prueba de larvas.—Se sacrifica el lote a los 35 días p.i., obteniéndose los resultados que se muestran en el cuadro XII, que comparados con los obtenidos en un lote testigo (cuadro XIII) que se obtuvo mediante infestación de seis ratas machos con larvas procedentes de la reserva, demuestra, en cuanto a las medias aritméticas se refiere, una diferencia de 5.238,01 larvas en el diafragma, que significa un 72,4 por 100 de reducción y 2.543,08 larvas en la canal, un 85,48 por 100 de reducción. En la lámina tercera se ilustran los tantos por ciento de reducción con respecto al testigo.

4. Thiabendazol 250 mg

Lote A, contra adultos.

Se sacrifica a los 35 días p.i. obteniéndose los resultados que se pueden ver en el cuadro XIV.

Prueba de adultos.—El promedio de adultos obtenido es de 84,6 por rata, lo que significa que se recuperan un 8,4 por 100 de individuos (de cada 100 larvas administradas, 8,4 llegaron a adultos).

Prueba A-1 (de larvas).—Se sacrificaron a los 35 días p.i. obteniéndose los resultados que se indican en el cuadro XV.

Al comparar el número de larvas obtenido en el diafragma y canal con los hallados en el lote testigo, (cuadro XIII) vemos que existe una diferencia en diafragma de 3.663,9 larvas, lo que significa un 50,7 por 100 de reducción y 588,9 en la canal, un 19,8 por 100 de reducción.

Lote B, contra larvas emigrantes.

Se sacrifica a los 35 días p.i. obteniéndose los resultados que se pueden ver en el cuadro XVI.

Prueba de adultos.—A los siete días se obtuvo una media de 44 vermes por rata, lo que representa un 4,4 por 100 de recuperación.

Prueba B-1 (de larvas).—Se sacrifica a los 35 días p.i., resumiéndose los resultados en el cuadro XVII.

Al comparar el número de larvas obtenido en diafragma y canal con las halladas en el lote testigo (cuadro XIII) vemos que existe una diferencia en diafragma de 6.272,1 larvas, lo que significa un 86,7 por ciento de reducción y 2.661,9 en la canal, que representa una reducción del 89,4 por 100.

3. *De experiencias con ratas y Thiabendazol 250 mg.*

(Efectos reductores sobre el número de larvas).

Primera parte.

a. *Lote C. (Contra adultos).*

Se sacrifica a los 40 días de infestación, obteniéndose los resultados que se resumen en el cuadro XVIII. Dada la escasez de larvas en el diafragma se procede al examen de muestras de 100 mg o peso superior.

Al comparar los resultados obtenidos con el testigo (cuadro XX), se aprecia, tanto en el diafragma como en la canal, una reducción del 99,5 por 100 de larvas (véase cuadro XXI). La mitad de las ratas tratadas estaban exentas de larvas.

b. *Lote D. (Contra larvas emigrantes)*

Se sacrifica a los 42 días de infestación, resumiéndose los datos obtenidos en el cuadro XIX.

En comparación con el lote testigo se aprecia una reducción del 72,5 por 100 en el diafragma y 73,5 por 100 en la canal, resultados notablemente inferiores a los obtenidos en la experiencia anterior.

Segunda parte.

a. *Lote E. (Contra larvas enquistadas)*

Se sacrifica a los 75 días p.i., 31 días después del tratamiento, hallándose los resultados que resumimos en el cuadro XXII.

Al comparar los datos obtenidos en la prueba, con los del testigo (cuadro XXIII) apreciamos que no sólo no se produjo reducción sino que es mayor el número de larvas en el lote tratado.

Parece ser que la única huella aparente del tratamiento es la presencia de algunos quistes invadidos con larvas afectadas (figura 9) y degeneradas totalmente, no apreciándose la larva en su interior (figura 10).

Es evidente la ineficacia directa del Thiabendazol a las dosis ensayadas contra larvas perfectamente enquistadas. No obstante, ante la posibilidad demostrada de acción indirecta de dosis menores, contra larvas en parecidas circunstancias (del 22 al 26.^o, 50 mg/kg; del 35 al 39.^o, 100 mg/kg), realizamos a partir de las larvas recuperadas por digestión de un "pool" las correspondientes pruebas de adultos y larvas, cuyos resultados fueron:

Prueba de adultos.—Se recuperaron 19 vermes por individuo, lo que representa un 1,9 por 100 de larvas inoculadas.

Lote E-1 (prueba de larvas).—Se sacrifica a los 35 días p.i. resumiéndose los resultados en el cuadro XXIV.

Al comparar éstos con el lote testigo de prueba de larvas se aprecia una reducción del 72,6 por 100 en el diafragma y un 74,3 por 100 en la canal.

4. *De experiencias con cricetos y Thiabendazol 500 mg*

a. *Prueba F. (Contra adultos)*

Se sacrifica a los 5 días de infestación, obteniéndose los resultados que se resumen en el cuadro XXV, que incluye también los del lote testigo.

Al comparar los dos grupos de resultados apreciamos una reducción del 73,4 por 100 en el diafragma y 74,6 por 100 en la canal, de número de larvas, cuadro XXVI.

Por triquineloscopia de lote experimental se observó que un 16,4 por 100 de las larvas/g eran anormales, frente a un 3,5 por 100 en el lote testigo. La anormalidad (figura 11) consistió en una deformación de los quistes que se encuentran invadidos, con la larva o los restos de la misma totalmente lisados. Realizados cortes histológicos a partir de las muestras de diafragmas se comprobó cómo en los quistes afectados se había perdido la cápsula, y las células reaccionales se disponían en una organización circular en torno a los restos larvarios (figuras 12 y 13). A cien diámetros, se aprecia cómo rodeando al resto de larva se encuentran aún núcleos degenerados del sarcolema con corpúsculos acidófilos en su interior (figura 14).

Por digestión de la canal, seguida de una sedimentación prolongada, de doce horas, se encontraron muertas el 86 por 100 de las larvas procedentes del lote tratado, frente a un 44,2 por 100 en el testigo.

b. *Prueba G. (Contra larvas emigrantes)*

Se sacrifica el lote total a los 49 días de infestación, resumiéndose los resultados en el cuadro XXVI.

Al comparar los obtenidos en el lote experimental con respecto al testigo, vemos cómo los efectos de la misma dosis que se aplicó contra vermes adultos, produce contra larvas emigrantes unos efectos mucho menores, 24,2 por 100 y 44,6 por 100 de reducción en diafragma y canal respectivamente (cuadro XXVIII).

c. *Prueba H. (Contra larvas enquistadas)*

Los resultados de la prueba en conjunto se pueden ver en el cuadro XXVII.

En comparación con el lote testigo la reducción alcanza el 95,9 por 100 en el diafragma y el 78,2 en la canal.

En el diafragma del grupo tratado se encontraron numerosas larvas afectadas, unas con destrucción del quiste y lisis de la larva, parecidas a las encontradas en cricetos el tercer día (figura 12) y otras, que aún conservando la larva, parece como si hubiera sobre los quistes o en su interior, un fino depósito graso (figura 15).

Con las larvas recuperadas por digestión se infestó un lote de ratones, con 200 larvas cada uno, para prueba de viabilidad. A los seis días de infestación se recuperó un 4,5 por 100 de adultos solamente, frente a 15 por 100 que se recuperó en ratones inoculados con larvas testigo. Se produce también, como nos demuestra esta experiencia, la acción secundaria del Thiabendazol en cricetos.

5. *Experiencias comparativas de Thiabendazol y Methiridina.*

Todos los animales se sacrificaron a los 41 días de infestación, resumiéndose los resultados en el cuadro XXIX.

El análisis comparativo de los grupos con el testigo común se resume en el cuadro XXX. En estas condiciones el Thiabendazol tiene una eficacia, con respecto a los testigos, de 23,8 por 100 en el diafragma y 10,6 por 100 mayor que la Methiridina.

Comparando el lote de Methiridina con el de Thiabendazol, vemos cómo en el diafragma se recuperan 4.887,8 larvas menos en el lote de Thiabendazol, lo que representa una disminución del 27,2 por 100. Por gramo de canal, las diferencias ascienden a 1.705,0 larvas, que significa una disminución del 14,8 por 100.

V. DISCUSION

1. *De experiencias con ratas y Methiridina.*

En todas las experiencias aplicamos el fármaco comenzando con una dosis desencadenante fuerte, 800 mg.

En el período de tratamiento de la experiencia primera (según la interpretación del ciclo biológico de *T.s.* en la rata, dada por BERNTZEN⁶ y la terminología de HYMAN⁶, que es la que hemos seguido en todo momento) desde el tercero al noveno día, se actuó sobre adultos totalmente desarrollados, alcanzando el momento de cópula, formación de huevos, I estadio juvenil dentro del huevo, II estadio aún dentro del huevo y eclosión y salida del mismo. Desde el séptimo al noveno día también se actúa sobre II estadio juvenil ya libre y en emigración.

En la segunda y tercera experiencia se actuó sobre larvas emigrantes (II y III estadio juvenil en la segunda experiencia y III y IV

estadio, fundamentalmente, en la tercera). El decrecimiento demostrado en la eficacia, aparenta tener por lo tanto, un paralelismo con la progresión del ciclo.

Sometiendo los resultados a estudio estadístico (cuadro XXXI) mediante análisis de la varianza del número total de larvas en diafragma entre el testigo y los grupos experimentales, el valor $F = 1,90$ expresa que no existen poblaciones distintas. El análisis de la varianza entre el número de larvas totales en la canal (cuadro XXXII) da un valor de $F = 3,8$ que, aunque roza la significación, indica que tampoco en este caso existen poblaciones distintas, de lo que se concluye que estadísticamente no existe reducción de número total de larvas encontradas tanto en la canal como en el diafragma.

El análisis de la varianza entre el número de larvas diafragmáticas de los testigos y el número de larvas *normales* de los dos grupos experimentales, (cuadro XXXIII) da un valor $F = 7,09$, indicando la presencia de poblaciones distintas ($P < 0,05$). El "intervalo fiducial" hallado ($t_{0,05} \cdot Sx = 11,4$) permite deducir que la diferencia entre los grupos tratados con Methiridina es significativa al nivel del 5 por 100, si excede de $\pm 22,4$, lo que se cumple para las poblaciones del lote de ratas de la experiencia segunda.

El análisis de la varianza entre el número de larvas en la canal de los testigos y el número de larvas *vivas* de los grupos experimentales (cuadro XXXIV), proporciona un valor de $F = 12,04$ altamente significativo ($P < 0,01$), indicando como en el caso anterior, que existen grupos que pertenecen a poblaciones distintas. Calculado el "intervalo fiducial" ($t_{0,05} \cdot Sx = 2,59$) se puede deducir que cualquier diferencia en el número de larvas vivas encontradas es significativa al nivel del 1 por 100, si excede de $\pm 5,18$. Esto nos lleva a la conclusión de que los grupos que recibieron Methiridina en el momento de la emigración de las larvas, en cuanto al número de larvas vivas encontradas en la canal mediante digestión, pertenecen a poblaciones distintas.

Del estudio estadístico total se sigue que la Methiridina aplicada en estas condiciones no produce una reducción estadísticamente apreciable en cuanto al número total de larvas encontradas, pero sí en cuanto al número de larvas viable (normales en el diafragma, vivas en la canal).

La anormalidad de las larvas en el diafragma, consistente en la ausencia de movilidad cuando se las observaba comprimidas a tempe-

ratura corporal y a 100 \mathcal{Q} y, el tamaño anormal de larvas pertenecientes a una infestación de 50 días, nos hace pensar que se trata de estadios juveniles muertos a su llegada al músculo, o lesionados lo suficiente para que no pudieran continuar desarrollándose, por lo que los encontramos adoptando forma de hendidura y sin quiste (figuras 1 y 2). Cuando el tamaño se aproxima al de las larvas normales de IV estadio y no se encuentran enquistadas, inmóviles y de un diámetro un poco más grande también se consideran anormales, así como cuando, aun estando enquistadas, parecen estar vacías, sin estructura interna, o el quiste se encuentra invadido, muestra gran opacidad y tiene aspecto granuloso o magma intraquistico.

En las preparaciones histológicas que se siguieron con las muestras de diafragma (inclusión en parafina y tinción por hematoxilina-eosina y Gallego), se confirmó lo observado en las preparaciones en fresco. Se aprecia intensa miositis y la presencia de larvas muertas de posición extraquistica rodeadas de una intensa granulación (fig. 3 y 4). Las paredes de los quistes parecen más finas de lo normal y son muy abundantes los núcleos degenerados del sarcolema en el interior de los quistes.

Todo lo anteriormente expuesto parece confirmar que los efectos de la Methiridina a las dosis ensayadas en las presentes experiencias, no sólo se centran sobre los adultos, sino también, sobre las larvas de II y III estadio juvenil, siendo menor, si es que existe, el efecto sobre las larvas enquistadas.

2. De experiencias con ratas y Thiabendazol.

(Efectos sobre la descendencia).

a. y b. de Thiabendazol 50 mg.

La experiencia en conjunto nos demostró la falta de eficacia del Thiabendazol a la dosis de 50 mg/kg contra los preadultos y que la acción contra las larvas infestadas era, asimismo, muy poco marcada.

Hecho el estudio estadístico mediante t de Student no hay significación aun en el caso más favorable, entre larvas en diafragma de los testigos y del grupo experimental "b. contra larvas enquistadas", ($t = 0,97$) y tampoco entre número de larva en la canal ($t = 1,06$) de la misma experiencia.

La prueba de viabilidad realizada nos demuestra que la dosis de 50 mg/kg diaria durante cinco días del 22 al 26 p.i. no ocasiona la muerte de las larvas enquistadas pero actúa sobre ellas impidiendo en gran manera su establecimiento en un nuevo hospedador.

c. *Thiabendazol 100 mg.*

La consecución de la prueba total nos demostró que el fármaco tiene una verdadera acción profiláctica, que supone una reducción de más del 70 por 100 en cuanto al número de larvas en la reinfección.

Realizada una prueba de significación por medio de la *t* de Student, entre el número de larvas recuperadas en la prueba de viabilidad y el testigo, tanto la diferencia del número contado en la canal como el número en el diafragma fue altamente significativa ($p < 0,01$).

d. *Thiabendazol 250 mg.*

Se comprueba parcialmente la acción profiláctica (secundaria) del Thiabendazol cuando actúa sobre adultos.

Realiza una prueba de significación por medio de la *t* de Student entre el número de larvas en gramo de diafragma en el lote A-1 de la prueba de larvas y el lote testigo, apreciamos que esta diferencia es significativa ($p < 0,01$). Realizada la misma prueba estadística con los números de larvas recuperadas mediante digestión, la diferencia con el testigo no es significativa al nivel de ($p < 0,05$).

Parece comprometido aventurar una opinión concluyente sobre los efectos profilácticos del Thiabendazol cuando se aplica contra los adultos intestinales a dosis, 250 mg/kg/día en ese caso, que sin matar a los adultos, reduce, como veremos más adelante, el número de larvas producidas.

La prueba de adultos parece confirmarnos esta acción, sin embargo no está clara en la prueba de larvas. La reducción en la canal es prácticamente insignificante.

La acción secundaria de tres dosis de Thiabendazol 250/mg/kg contra larvas emigrantes es notable.

Realizada la prueba de significación por medio de *t* de Student entre el número de larvas gramo en los diafragmas del lote B-1 y el lote testigo, apreciamos que la diferencia es altamente significativa

($p < 0,01$). Hecha la misma prueba estadística comparando el número de larvas obtenido en ambos grupos en la canal, también resultó ser altamente significativa ($p < 0,01$).

Al comparar los lotes A y B entre sí, apreciamos que los efectos de una sola dosis (250 mg/kg) contra los adultos intestinales, tiene un efecto reductor de larvas, mayor que tres dosis de la misma proporción contra larvas emigrantes.

Sometiendo los lotes a una prueba estadística de significación, *t* de Student, resulta altamente significativa la reducción que se observa en el lote A respecto al B, en las larvas totales (sin distinción de anomalías, 11,7 por 100 de larvas gramo) en el diafragma. La misma prueba aplicada al número de larvas en la canal no es significativa. Pensamos que este hecho se debe a la circunstancia de que en la digestión se pierde un gran número de larvas muertas o disminuidas en su vitalidad como consecuencia del tratamiento que las afectó en el período de emigración; esto mismo no se produce en el lote A porque la acción del Thiabendazol se ejerció sobre los adultos y estadios juveniles I y II que no llegaron por lo tanto a establecerse en el músculo.

Sometiendo las pruebas de larvas A-1 y B-1 a un test estadístico, *t* de Student, entre sí, se aprecia que las diferencias entre número de larvas en la canal y en el diafragma son altamente significativas ($p < 0,01$).

Estas diferencias ascienden en las medias aritméticas a 2.608,2 larvas menos en el diafragma de la prueba B-1 respecto a la A-1, que representa una disminución del 73,2 por 100, y en la canal 2.073,07 larvas menos, que significa una reducción del 86,8 por 100.

De todo lo anteriormente expuesto se concluye que los efectos profilácticos son mucho mayores cuando se actúa sobre larvas emigrantes, que cuando se hace sobre adultos, aunque la reducción del número de larvas es mayor a dosis menores cuando se actúa sobre los adultos.

3. *De experiencias con ratas y Thiabendazol 250 mg.*

(Efectos reductores sobre el número de larvas).

Primera parte.

Lote C (contra adultos).—La reducción en el número de larvas en el diafragma del lote experimental C respecto al testigo sometido a

una prueba estadística, t de Student, resultó altamente significativa ($p < 0,01$). En cuanto a la reducción de larvas en la canal, la significación es también notable ($p < 0,02$).

Los resultados obtenidos en esta prueba son los mejores entre todos los hallados con Thiabendazol.

Lote B (contra larvas emigrantes).—Es curioso resaltar el hecho de que, a pesar de que el sacrificio se realizó a los 42 días de infestación, una gran proporción (más del 50 por 100) de las larvas encontradas en el diafragma, no habían llegado al IV estadio ni se habían enquistado (fig. 5 y 6) aunque permanecían vivas, hecho que se comprobó por la movilidad. El recuento realizado en estas condiciones es fácil que no sea exacto, pues las larvas no enquistadas se distinguen mal entre las fibras, aprediéndose bien sólo aquellas que la compresión empuja fuera de la muestra de músculo, quedando en el halo que rodea a la preparación.

En los testigos sacrificados dos días más tarde, no se encontraron más que larvas de IV estadio, más o menos avanzadas en el proceso de enquistamiento.

A primera vista parece como que el Thiabendazol hubiera bloqueado el proceso de desarrollo de las larvas, impidiendo el crecimiento normal de los estadios juveniles. No es probable una permanencia de las hembras adultas, pues dado lo avanzado del tiempo del tratamiento (13, 15 y 17º p.i.) y la eficacia que 250 mg/kg demuestra sobre ellas, no se concibe tal permanencia. Da la impresión de que el fármaco actúa de más o menos según los distintos estadios de desarrollo; así, la acción que viene reflejada por una reducción de más del 70 por 100 respecto a los testigos, se ejerció sobre adultos y estadios juveniles I y II intra y extrauterinos, o lesionándolos lo suficiente para impedir su posterior desarrollo.

Aplicando la t de Student con el fin de comprobar la eficacia del tratamiento en el lote D, resulta altamente significativa ($p < 0,01$) la reducción hallada en el diafragma, pero no lo es, aunque roza la significación ($t = 2,18$ siendo el valor de t al nivel de 0,05 para 10 grados de libertad, 2,2) en la canal. Esto último corrobora lo apuntado más arriba. No es significativa la diferencia hallada en las digestiones de muestras de canal haciendo el recuento, en el lote tratado, de las larvas totales (como tampoco lo sería la determinación sobre diafrag-

má si el recuento fuera exacto, larvas fundamentalmente enquistadas). Ocurre que la mayor parte de las larvas recuperadas en la digestión están muertas al acabar el proceso; examinándolas comparativamente con las larvas sometidas a las mismas condiciones, procedentes de testigos, se aprecia como una gran mayoría de las tratadas tienen menor tamaño, parecen carecer de organización interna, y, aunque muertas, no adoptan la forma típica de las larvas normales una vez muertas (figuras 7 en comparación con la fig. 8).

Segunda parte.

Lote E (contra larvas enquistadas).—Como dijimos, al comparar los resultados obtenidos en la prueba con el testigo, apreciamos que no sólo no se produjo reducción, sino que es mayor el número de larvas en el lote tratado. Aplicando la t de Student entre ellos (número de larvas en el diafragma y número en el canal) vemos que en ningún caso resulta ésta significativa, lo que indica que el aumento de larvas en el lote tratado no es debido precisamente al tratamiento.

Prueba de viabilidad.

Lote E-1 (de larvas).—Realizada una prueba de significación entre el lote E-1 y el testigo, mediante t de Student, se aprecia que la reducción observada es altamente significativa, tanto en el diafragma como en la canal ($p < 0,01$).

De todo esto se deduce que el decrecimiento de los efectos de la dosis de 250 mg/kg durante tres días, que se observó al paso de la aplicación contra adultos a contra larvas emigrantes, culmina en una acción inaparente contra larvas enquistadas, aunque se conserva el efecto indirecto sobre la viabilidad del parásito, como nos lo demuestran los resultados de las precedentes pruebas de adultos y larvas a partir del lote E.

Analizando estadísticamente el decrecimiento de la acción del Thiabendazol mediante t de Student entre los diversos grupos, vemos que la diferencia entre C y D es significativa ($p < 0,02$) en el diafragma y $p < 0,05$ en la canal. Entre C y E, tanto en la canal como en el diafragma, las diferencias son altamente significativas ($p < 0,01$). Pero entre E y D no hay significación alguna.

Todo lo anterior ratifica lo expuesto más arriba: existe diferencia significativa entre el número de larvas en el lote tratado contra adultos y los lotes tratados contra larvas emigrantes y larvas enquistadas, pero no entre lote tratado contra larvas emigrantes y el de enquistadas.

Las pruebas de larvas, resumidas en el cuadro XXXV, ilustradas en la lámina 1, demuestran que la acción secundaria del Thiabendazol sobre la viabilidad de las larvas, en esta serie de pruebas, es distinta según se actúe sobre adultos, acción más baja, sobre larvas emigrantes, acción máxima y sobre larvas enquistadas, acción menor que sobre el caso anterior pero mayor que sobre adultos.

Hecho el estudio estadístico mediante análisis de la varianza del número de larvas contadas en los diafragmas de las pruebas A-1, B-1 y E-1 (cuadro XXXVI) el valor $F = 8,64$ encontrado, indica que existen poblaciones distintas ($p < 0,01$). Calculado el "intervalo fiducial" ($t_{0,05} \cdot S \bar{x} = 8,6$) se deduce que las diferencias en el número de larvas de los tres grupos son significativas al nivel del 1 por 100 si excede de $\pm 17,2$, lo que se cumple para las poblaciones del lote A-1 con respecto al lote B-1, pero no con el E-1; ni del B-1 con el E-1.

El análisis de la varianza (cuadro XXXVII) entre el número de larvas recuperadas de la canal en las pruebas anteriores, nos da un valor de $F = 10,35$, altamente significativo ($P < 0,01$). El "intervalo fiducial" hallado ($t_{0,05} \cdot S \bar{x} = 6,7$) indica que las diferencias de número de larvas son significativas si exceden de $\pm 13,4$, lo que se cumple para las poblaciones del grupo A-1 con respecto al B-1, y E-1, y no las de éstos entre sí. Por lo tanto, la reducción es real con respecto a las larvas procedentes de tratamiento contra adultos. Las diferencias existentes entre las pruebas realizadas con larvas procedentes de tratamiento en fase de emigración y en fase de enquistamiento no son significativas entre sí, el efecto secundario del Thiabendazol, parece por lo tanto, similar en ambos casos.

4. De experiencias con cricetos y Thiabendazol 500.

Prueba F (contra adultos).—La reducción experimentada, como ya se dijo, fue una de las mayores encontradas.

Sometidas las diferencias a una prueba estadística de significación mediante t de Student, encontramos que en ambas determinaciones es significativa, el nivel del 5 por 100 en el diafragma y del 1 por 100 en la canal.

Parece ser, por lo tanto, que el producto actúa destruyendo una parte considerable de los adultos, que se ve reflejada en una disminución de las larvas totales de más del 70 por 100 y que, además, una parte considerable de las larvas que llegan a establecerse están debilitadas de tal manera que son víctima de la activa defensa celular del criceto, mayor, como se sabe, que en otras especies frente a *T.s.*

Prueba G (contra larvas emigrantes).—En los resultados hemos visto cómo la acción de 500 mg/kg al 11.º día p.i., es mucho menor que la encontrada al tercer día.

Aplicando t de Student entre el número de larvas encontrado por las dos técnicas, entre el grupo experimental que nos ocupa y el testigo, vemos que la reducción no es significativa. Por lo tanto los resultados de esta dosis, en un solo día, contra larvas emigrantes, nos demuestra el excaso efecto del Thiabendazol.

Prueba H (contra larvas enquistadas).—En esta prueba encontramos la reducción más alta obtenida por el Thiabendazol en cricetos.

Pensamos que la reducción es más marcada debido al hecho del gran espacio habido entre el tratamiento y el sacrificio.

Las diferencias entre testigos y tratados son, aplicando t de Student, significativas ($p < 0,05$) en el diafragma y ($p < 0,02$) en la canal.

Resumiendo las tres pruebas realizadas con cricetos notamos el decrecimiento, ya confirmado en las ratas, cuando se actúa con una misma dosis sobre adultos, larvas emigrantes y larvas enquistadas. Ocurre que el criceto tiene una gran capacidad natural de recuperación frente a la triquinelosis, por lo que, cuando se trata de un producto que afecta a las larvas de *T.s.*, y se deja tiempo suficiente, las defensas del animal acentúan la reducción debida al fármaco.

En resumen, la experiencia nos ha demostrado que la eficacia de una sola dosis, aunque sea considerablemente alta, es menor que varias dosis en días sucesivos, aunque éstas sean más bajas, es decir, parece que una dosificación capaz de mantener durante un largo tiempo un nivel determinado en fármaco, tendría una eficacia mayor que una gran dosis de una sola vez.

5. Experiencias comparativas de Thiabendazol y Methiridina.

Aunque se ven diferencias a favor del Thiabendazol éstas no son significativas.

Sometiendo a t de Student las diferencias entre los lotes tratados y testigo no se encuentra significación en ningún caso, tampoco al comparar los dos lotes tratados entre sí.

6. De métodos utilizados.

Aunque en las experiencias se han seguido los dos procedimientos habituales, infestación en carne y mediante sonda de larvas aisladas de la carne por digestión péptica, hemos preferido este segundo método aunque puede estar sujeto a un número mayor de posibilidades de error. Dos son los momentos en que, a nuestro parecer, es necesario esmerar el cuidado: uno, al realizar la digestión y la sedimentación subsiguiente. La digestión debe ser rápida y protectora y la sedimentación con sol. sal. y sin someter a las larvas a cambios bruscos de temperatura al hacer la restitución de volumen; esto tiene particular interés cuando se realiza la primera sedimentación, pues el líquido digerido sale de la estufa a 37° C. En resumen, suprimir en lo posible los choques térmicos y osmóticos a las larvas. De esta forma se evita casi totalmente que mueran durante la digestión y lavado.

Cuando la procedencia de las larvas no es segura, debido a que llevan demasiado tiempo en la reserva, es mejor hacer la digestión en condiciones que podemos calificar de poco cuidadosas, prolongar el tiempo de digestión, hacer la sedimentación con agua, choque térmico, prolongar la sedimentación, etc., pues de esta forma se logra eliminar, porque mueren, todas las larvas defectuosas o con baja viabilidad.

El segundo momento fundamental, y con posibles máximos errores, es el del contaje. El recuento doble en cámara de McMASTER-WETZEL, empleando siempre el mismo par y haciendo lo más uniformemente posible el llenado (siempre con la misma pipeta y refiriéndonos siempre a un mismo volumen base, en un recipiente contrastado, evita el error).

Además de todo lo anterior la infestación debe hacerse sólo con larvas comprobadamente vivas, lo que se sabe por sus movimientos en platina caliente y por encontrarse perfectamente enrolladas.

La apreciación de los resultados se debe hacer, bien por compresión sobre muestras de determinados músculos de elección, o por digestión de una parte representativa de la canal pícada. Ninguno de los dos métodos se basta a si mismo. Somos de la opinión de que lo ideal es utilizar los dos. En algunos casos la información que buscamos nos

la da uno o el otro. Nosotros hemos elegido el diafragma para la determinación triquineloscópica del número de larvas. Cuando la infestación cuyo grado se quiere determinar, es notable, lo que se ve a simple vista, pesábamos una cantidad cualquiera de músculo siempre tomado de la misma manera y el número encontrado se refería a gramo de diafragma; cuando la infestación es muy pequeña se toma una cantidad fija, 100 mg. por ejemplo, pues así, de no encontrar ninguna larva en este peso, es difícil encontrarlas en el resto. No obstante, cuando aún este muestreo resultó negativo examinamos, aunque más groseramente, el diafragma total comprimido (caso de la experiencia primera con Methiridina o de la experiencia D con Thiabendazol).

Mediante la determinación triquineloscópica con la que se examinaron los diafragmas de todos los individuos de los grupos experimentales o testigos, pudimos confirmar efectos de los fármacos que hubiesen pasado casi desapercibidos por la sola digestión, ejemplo, los efectos de la Methiridina contra larvas emigrantes —presencia de larvas en estado juvenil de preenquistamiento, muertas al llegar al músculo, no enquistadas o imperfectamente enquistadas, etc.; así como las anomalidades encontradas en las larvas que sufrieron el tratamiento en período de emigración por el Thiabendazol, o en período de enquistamiento en la rata. Igualmente en los ensayos realizados con cricetos la triquineloscopia nos informó muchas veces de la situación en que se encontraban las larvas, situación que se contrastó con la presentada por las larvas en los testigos.

La exactitud de la triquineloscopia estamos convencidos, es mayor que la de la digestión cuando se trata de larvas normales o anormales pero de vieja instauración muscular (encapsuladas propiamente dicho o rodeadas más o menos por la defensa celular). Cuando las larvas son de reciente instauración muscular muchas de ellas se escapan a la observación, por lo que los recuentos pueden ser bastante erróneos, las larvas están entre los fascículos y apenas se distinguen de las fibras. No obstante, para un diagnóstico de la presencia temprana de las larvas en el músculo, da mejores resultados que la digestión, pues aunque no se aprecie bien el número total de ellas, sí que se ven algunas en el halo líquido que rodea a la muestra comprimida.

La digestión además de darnos idea cierta del número de larvas, sobre todo aquellas que estaban enquistadas en el momento de la di-

gestión, también, en muchos casos, nos informa sobre la viabilidad de las larvas encontradas: por ejemplo, una prolongación del tiempo de lavado y sedimentación matará a todas aquellas larvas que estaban de alguna manera lesionadas, incluso sin esto, a la observación detenida, se puede distinguir entre las larvas vivas distinto grado de vitalidad y entre las muertas aquellas que lo estaban antes de la digestión, pues ahora, también ellas parcialmente digerida estarán rotas o vacías, como si solo persistiera la cutícula externa. Por lo general la mayor parte de los estadios juveniles III y IV no enquistado, se recuperan en su mayoría por digestión cuidadosa si estaban vivos en el momento de la digestión. Si están muertos, aun los estados larvarios perfectamente enquistadas pueden perderse en la digestión, fundamentalmente debido a que no sedimentan con el mismo impulso activo y menor peso que las vivas, por lo que se eliminan al recuento con el líquido sobrenadante de la sedimentación.

Todo lo anterior justifica el empleo de los dos métodos, pues ambos juntamente con el histológico, imprescindible en ciertos casos, se complementan entre sí.

VI. CONCLUSIONES.

1.^a La Methiridina, aplicada por vía subcutánea a las ratas, a dosis de 800, 200 y 200 mg/kg., los días tercero, sexto y noveno p. i., respectivamente, ha resultado eficaz en un 100 por 100 contra *T. spiralis*.

2.^a Las mismas dosis, administradas los días 11.^o, 16.^o y 19.^o p. i., son parcialmente eficaces, destruyendo las larvas en el músculo, o bloqueándolas en un estadio de desarrollo previo al enquistamiento.

3.^a La acción de idénticas dosis, aplicadas más tarde (en 17.^o, 19.^o y 21.^o días p. i.), es inferior.

4.^a La Methiridina, aplicada en las condiciones aludidas en las dos conclusiones precedentes, no proporcionó una reducción estadísticamente apreciable en cuanto al número de larvas halladas, pero sí en cuanto al número de larvas viables.

5.^a En ratas, el Thiabendazol a la dosis de 250 mg/kg., administradas los días 3.^o, 4.^o y 5.^o p. i., consiguieron una reducción del 99,5 por 100 de larvas; en los días 13.^o, 15.^o y 17.^o, solamente propor-

cieron una reducción de 72,5 por 100 (larvas en el diafragma) o 73,5 por 100 (larvas en la canal) y en los días 42.^o, 43.^o y 44.^o resultaron ineficaces. Consecuentemente, se deduce que la eficacia terapéutica del producto desciende a medida que avanza el desarrollo del verme.

6.^a Exceptuada una prueba (tratamiento con 50 mg/kg. los días 1.^o, 2.^o y 3.^o p. i.) todas las experiencias con Thiabendazol en ratas demostraron que el producto menoscaba de algún modo la vitalidad de las larvas (emigrantes o enquistadas) indicando una eficacia secundaria, puesto que la proporción de las que llegan a adultos en el pase siguiente, se redujo entre el 19 y el 85 por 100 según las dosis y el momento de su aplicación.

7.^a En relación con la conclusión anterior, se ha comprobado que la eficacia secundaria fue mínima cuando el tratamiento se realizó al tercer día p. i., máxima en los días 13.^o, 14.^o y 16.^o y prácticamente constante entre los días 22.^o y 44.^o, puesto que ambos extremos la recuperación de adultos a partir de las larvas tratadas fue del 1,8 por 100 y 1,9 por 100 respectivamente.

8.^a Los efectos del Thiabendazol parecen ser más favorables y constantes con dosis medias y reiteradas, que con una sola dosis alta.

9.^a En cricetos, los resultados óptimos con Thiabendazol se lograron con dosis de 500 mg/kg. el 44.^o día de p. i., 95,9 por 100 de reducción en diafragma y 78,2 por 100 en la canal, apreciándose, paradójicamente, que la acción con dosis iguales fue menor en el día 11.^o (contra larvas emigrantes) y tercero (contra adultos).

10.^a Comparando en cricetos la acción de dosis de 400, 200 y 200 mg/kg. de Methiridina por vía subcutánea, aplicadas los días 17.^o, 18.^o y 21.^o p. i., frente a dosis de Thiabendazol de 250 mg/kg, en los mismos días, los resultados parecían que eran superiores con este fármaco, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa.

11.^a Tanto en ratas como en cricetos, el tratamiento con Thiabendazol frente a las larvas musculares (a partir del 22.^o día p. i.) ejercieron siempre algún tipo de actividad, pudiendo concluirse que este producto es activo frente a todas las fases de desarrollo de *Trichinella spiralis*.

CUADRO I

Expresa los resultados de la triquineloscopia sobre diafragma del lote experimental número 2 de Methylridina.

LARVAS EN MUESTRAS			LARVAS POR G. DE DIAFRAGMA				
Rata n.º	mg. diafrag.	n.º de normal.	n.º de anorma.	n.º/g. de normales	n.º/g. de anormales	n.º/g. totales	Relación nor./anor.
1	35	44	7	1.257,1	200,0	1.457,1	15,9
2	48	98	30	2.041,6	625,0	2.666,6	30,6
3	29	99	50	3.413,7	1.324,1	5.137,9	38,7
4	39,4	77	44	1.954,3	1.116,7	3.071,0	57,1
5	43,4	36	38	829,4	875,5	1.705,0	104,3
Media	39,9	70,8	33,8	1.899,2	908,2	2.807,5	49,3

CUADRO II

Distribución convencional de las larvas anormales encontradas en el diafragma.

Rata n.º	LARVAS ANORMALES DEL TIPO A		LARVAS ANORMALES DEL TIPO B		LARVAS ANORMALES DEL TIPO C	
	n.º	n.º/g.	n.º	n.º/g.	n.º	n.º/g.
1	2	57,1	0	0	4	114,2
2	1	20,0	2	41,6	28	583,3
3	1	34,4	9	310,3	40	1.379,3
4	1	25,3	31	786,8	22	558,3
5	1	23,0	8	184,3	28	645,1
Media	1,2	31,4	10	264,6	24,4	656,0

Interpretación.—Tipo A. Larvas no enquistadas, 50 días post infestación.

Tipo B. Larvas enquistadas de tamaño normal pero de aspecto vacío, como si carecieran de estructura.

Se incluyen también en este grupo los quistes con invasión celular y aquellos invadidos con larva lisada.

Tipo C. Larvas de tamaño inferior al normal, semejantes unas al segundo y otras al tercero estadio juvenil. Como si hubieran sido bloqueadas por las defensas o muertas a su llegada al músculo.

CUADRO III

Resultados de la digestión de 10 g. de canal, 12 h. a 40° C., con sedimentación durante seis horas.

Rata n.º	n.º/g. de larvas vivas	n.º/g. de larvas muertas	n.º/g. total de larvas
1	266,6	22,0	228,6
2	886,6	220,0	1.106,6
3	400,0	366,6	766,6
4	553,3	640,0	1.193,3
5	153,3	486,6	639,9
Media	449,9	347,0	397,0

CUADRO IV

Indica los resultados de la triquineloscopia sobre diafragma del lote experimental núm. 3 de Methylridina.

		LARVAS EN MUESTRAS		LARVAS POR G. DE DIAFRAGMA			
Rata n.º	mg. diafrag.	n.º de normal.	n.º de anorma.	n.º/g. de normales	n.º/g. de anormales	n.º/g. totales	Relación % n./an.
1	59,2	112	28	1.891,8	472,9	2.364,8	24,9
2	51	226	103	4.431,3	2.019,6	6.450,9	45,5
3	51	223	28	3.779,6	474,5	4.253,2	12,5
Media	56,4	187,0	53,0	3.367,6	989,0	4.356,6	27,6

CUADRO V

Distribución convencional de las larvas anormales encontradas en el diafragma.

Rata n.º	LARVAS ANORMALES DEL TIPO A		LARVAS ANORMALES DEL TIPO B	
	n.º	n.º/g.	n.º	n.º/g.
1	8	135,1	20	337,8
2	27	596,4	76	1.490,1
3	9	152,5	19	322,0
Media	14,6	272,3	38,3	716,6

Interpretación.—Tipo A. Larvas de tamaño normal sin estructura. Quistes invadidos.

Tipo B. Larvas de tamaño inferior al normal, semejantes al segundo y tercer estadio juvenil. No enquistadas, de situación interfascicular.

CUADRO VI

Resultados de la digestión de 10 g. de canal, 12 h. a 40° C, con sedimentación durante seis horas.

Rata n.º	n.º/g. de larvas vivas	n.º/g. de larvas muertas	n.º/g. de larvas total
1	466,6	66,6	533,3
2	486,6	106,6	493,3
3	306,6	400,0	706,6
Media	419,9	191,1	611,1

CUADRO VII

Lote testigo de las experiencias con Methylridina. Cuadro conjunto de triquineloscopia y digestión.

Rata n.º	mg. diafragma	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION
		n.º de larvas	n.º/g. de larvas	n.º/g. de larvas total
1	76,6	304	3.968,6	1.510,6
2	42,8	133	3.107,4	688,6
3	36,6	128	3.497,2	1.055,3
4	62,6	315	5.031,9	1.232,6
5	43,8	202	4.611,8	1.277,3
6	29,4	165	5.612,1	1.312,8
Media	48,6	207,8	4.304,9	1.182,9

CUADRO VIII

Ánálisis comparativo de las medias de los lotes experimentales con los testigos.

EXPERIENCIAS	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION	
	Diferencia absoluta/g.	% de reducción	Diferencia absoluta/g.	% de reducción
1.º Methyl. 3, 6 y 9.º	4.304,9	100 %	1.182,9	100 %
2.º Methyl. 11, 16 y 19.º	1.495,3	34,7 %	413,8	32,6 %
3.º Methyl. 17, 19 y 21.º	no existe	no existe	571,8	48,3 %

CUADRO IX

Resultados conjuntos del lote experimental 1.º de Thiabendazol 50 mg/kg. días 1, 2 y 3.º p.i.

Rata n.º	mg. diafragma	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION
		n.º de larvas	n.º/g. de larvas	n.º/g. de larvas total
1	—	—	—	12.297,6
2	35,4	594	16.779,6	2.239,9
3	26,6	638	23.985,7	3.686,6
4	20,0	336	15.585,3	1.906,6
5	26,6	585	21.828,3	2.506,6
6	18,0	539	29.944,4	13.153,3
Media	25,3	537,8	20.070,2	6.870,6

CUADRO X

Lote testigo de las experiencias con Thiabendazol 50 mg/kg. Cuadro conjunto de triquineloscopia y digestión.

Rata n.º	mg. diafragma	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION
		n.º de larvas	n.º/g. de larvas	n.º/g. de larvas total
1	35,3	—	—	7.036,0
2	—	—	—	21.565,6
3	—	—	—	16.304,3
4	—	—	—	7.409,0
5	23,2	290	12.500,0	6.173,3
6	23,2	458	19.741,3	3.593,4
Media			14.092,9	7.045,4

CUADRO XI

Resultados conjuntos del lote experimental 2.º de Thiabendazol
50 mg/kg., días 22 al 26 p.i.

Rata n.º	TRIQUINELOSCOPIA			n.º g. de larvas total	DIGESTION
	mg. diafragma	n.º de larvas	n.º/g. de larvas		
1	33,6	514	15.297,6	2.732,6	
2	30,2	382	12.649,0	2.221,9	
3	34,2	193	5.643,2	977,3	
4	22,4	449	20.044,6	4.533,3	
5	27,8	460	16.546,7	3.795,3	
6	53	467	8.811,3	1.586,6	
Media	25,5	410,8	13.165,4	2.641,2	

CUADRO XII

Resultados conjuntos de la prueba de larvas, procedentes del lote de ratas tratadas con Thiabendazol 100 mg/kg., día del 35 al 39 p.i.

Rata n.º	TRIQUINELOSCOPIA			n.º/g. de larvas total	DIGESTION
	mg. diafragma	n.º de larvas	n.º/g. de larvas		
1	44	42	954,5	200,0	
2	58,5	81	1.382,2	400,0	
3	47,8	152	3.179,9	886,6	
4	49,2	46	934,9	200,0	
5	34,8	145	4.166,6	600,0	
6	48,6	64	1.316,8	306,6	
Media	47,1	88,3	1.989,2	432,2	

CUADRO XIII

Resultados conjuntos del lote testigo de las pruebas de larvas.

Rata n.º	TRIQUINELOSCOPIA			n.º/g. de larvas total	DIGESTION
	mg. diafragma	n.º de larvas	n.º/g. de larvas		
1	29,4	207	7.040,8	3.555,3	
2	36,0	192	5.333,3	2.800,0	
3	34,0	292	8.588,2	2.222,0	
4	30,2	161	5.331,1	3.733,3	
5	26,2	174	6.641,2	2.588,6	
6	21,0	219	10.428,5	2.955,5	
Media	29,4	207,5	7.227,2	2.975,3	

CUADRO XIV

Resultados conjuntos del lote experimental A, tratado con Thiabendazol 250 mg/kg., 3.º día p.i.

Rata n.º	TRIQUINELOSCOPIA			n.º/g. de larvas total	DIGESTION
	mg. diafragma	n.º de larvas	n.º/g. de larvas		
1	72,0	329	4.569,4	1.875,3	
2	34,8	268	7.701,1	1.795,3	
3	53,4	379	6.928,8	3.126,6	
4	28,6	244	8.531,4	5.328,6	
5	43,4	616	14.193,3	1.710,6	
6	39,4	172	4.365,4	1.433,3	
Media	45,2	334,1	7.714,9	2.544,9	

Nota complementaria.—En el diafragma se encontró una media de 28,1 larvas anormales/g.

En la digestión, luego de una sedimentación de 2 horas, 91,6 largas/g. recuperadas estaban muertas.

CUADRO XV

Resultados conjuntos del lote A₁. Prueba de larvas de Thiabendazol 250 mg/kg., 3.^o día p.i.

Rata n. ^o	mg. diafragma	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION
		n. ^o de larvas	n. ^o /g. de larvas	
1	23,8	73	3.067,2	2.222,0
2	21,0	78	3.714,2	3.088,6
3	19,6	81	4.132,2	2.433,3
4	26,2	112	4.274,8	2.877,3
5	27,4	72	2.627,7	1.210,6
Media	29,4	83,2	3.563,2	2.386,3

CUADRO XVI

Resultados conjuntos del lote experimental B. Tratamiento con Thiabendazol 250 mg/kg., días 13, 14 y 16.^o p.i.

Rata n. ^o	mg. diafragma	TRIQUÍNELOSCOPIA		DIGESTION
		n. ^o de larvas	n. ^o /g. de larvas	
1	33,0	347	8.636,3	2.899,9
2	26,2	371	12.328,2	2.230,6
3	28,6	465	13.881,1	5.432,6
4	46,4	413	8.566,0	1.921,9
5	41,0	488	10.756,0	5.454,6
6	29,8	379	12.046,9	5.010,6
Media	34,1	410	11.034,1	3.825,1

Nota complementaria.—En el diafragma se encontró una media de 43 larvas anormales/g., que representa un 11,7 por 100 de las larvas/g. de diafragma.

En el recuento de larvas de las digestiones se encontró una media de 586,7 larvas muertas/g., lo que representa un 17,9 por 100 de las larvas/g. de canal.

CUADRO XVII

Resultados conjuntos del lote B₁. Prueba de larvas de Thiabendazol 250 mg/kg., días 13, 14 y 16.^o p.i.

Rata n. ^o	mg. diafragma	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION
		n. ^o de larvas	n. ^o /g. de larvas	
1	38,2	29	759,1	413,3
2	26,0	28	1.076,9	266,6
3	31,2	13	416,6	88,8
4	25,2	33	1.309,5	322,2
5	24,4	28	1.147,5	411,0
6	29,4	30	1.020,4	377,7
Media	29,0	26,8	955,0	313,3

CUADRO XVIII

Resultados totales del lote experimental C. Tratamiento con Thiabendazol 250 mg/kg. días 3, 4 y 5.^o p.i.

Rata n. ^o	mg. diafragma	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION
		n. ^o de larvas	n. ^o /g. de larvas	
1	101,9	0	0	0
2	100,0	2,8	28,1	27,6
3	100,0	2,4	24,8	110,6
4	100,0	14,4	144,0	333,0
5	115,1	0	0	0
6	120,1	0	0	0
Media	106,1	3,2	32,8	78,4

Nota complementaria.—El recuento en los diafragmas se hizo sobre muestras de 100 mg. o más.

CUADRO XIX

Resultados totales del lote experimental D. Tratamiento con Thiabendazol 250 mg/kg. días 13, 15 y 17º p.i.

Rata n.º	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION	
	mg. diafragma	n.º de larvas	n.º/g. de larvas	n.º/g. de larvas total
1	67,7	94	1.388,4	477,3
2	137,1	226	1.648,4	933,3
3	176,0	961	5.460,2	214,0
4	131,3	242	1.843,1	933,3
5	89,7	468	521,7	148,8
6	128,7	226	2.066,8	68,6
Media	121,7	376,1	3.154,7	462,6

Nota complementaria.—A pesar de que el sacrificio del lote se realizó a los 42 días de infestación, más del 50 por 100 de las larvas contadas en el diafragma pertenecían al segundo y tercero estadio juvenil.

CUADRO XX

Resultados conjuntos del lote testigo de las pruebas experimentales C y D (Thiabendazol 250 mg/kg., 3 días).

Rata n.º	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION	
	mg. diafragma	n.º de larvas	n.º/g. de larvas	n.º/g. de larvas total
1	65,4	534	14.255,3	2.506,6
2	44,0	769	17.477,2	4.277,3
3	58,7	350	4.258,9	822,0
4	51,2	178	3.476,5	777,3
5	51,6	203	3.934,1	1.088,6
6	66,9	249	3.721,9	1.022,0
Media	56,3	347,1	7.854,0	1.748,9

CUADRO XXI

Analisis comparativo de las pruebas C, D y E de Thiabendazol con los testigos.

EXPERIENCIAS	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION	
	Diferencia absoluta/g.	% de reducción	Diferencia absoluta/g.	% de reducción
Prueba C	7.821,2	99,5 %	1.706,5	99,5 %
Prueba D	5.699,2	72,5 %	1.286,3	73,5 %
Prueba E	no existe	no existe	—	0 %

CUADRO XXII

Resultados totales de la prueba experimental E. Tratamiento con 200 mg/kg. días 42, 43 y 44º p.i.

Rata n.º	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION	
	mg. diafragma	n.º de larvas	n.º/g. de larvas	n.º/g. de larvas total
1	27,6	256	9.275,3	3.911,0
2	43,2	247	5.717,5	2.944,0
3	22,0	150	6.818,1	1.366,6
4	40,0	301	7.525,0	1.455,3
5	31,1	93	2.990,3	2.210,6
6	47,7	116	2.431,8	700,0
Media	35,2	198,3	5.793,0	2.097,9

CUADRO XXIII

Resultados totales del lote testigo de la prueba experimental E.

Rata n.º	mg. diafragma	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION
		n.º de larvas	n.º/g. de larvas	n.º/g. de larvas total
1	76,6	304	3.968,6	1.510,6
2	42,8	133	3.107,4	688,6
3	36,6	128	3.497,2	1.055,3
4	62,6	315	5.031,9	1.232,6
5	43,8	202	4.611,8	1.277,3
6	29,4	165	5.612,2	1.312,8
Media	48,6	207,8	4.304,9	1.182,9

CUADRO XXIV

Resultados totales del lote E₁. Prueba de larvas de Thiabendazol 250 mg/kg. días 42, 43 y 44.º p.i.

Rata n.º	mg. diafragma	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION
		n.º de larvas	n.º/g. de larvas	n.º/g. de larvas total
1	82,2	192	2.335,7	910,6
2	82,6	55	665,8	288,6
3	95,2	76	829,8	355,3
4	81,4	184	2.297,2	1.088,6
5	105,8	124	1.172,0	466,6
6	74,1	338	4.561,4	1.466,6
Media	86,8	162	1.977,0	762,7

CUADRO XXV

Resultados totales de la experiencia F de cricetos con su grupo testigo (Thiabendazol 500 mg/kg., tercer día p.i.)

CRICETO n.º	mg. diafragma	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION
		n.º de larvas	n.º/g. de larvas	n.º/g. de larvas total
1	28,6	20	699,3	866,6
2	36,2	47	1.298,3	773,3
3	42,2	79	1.872,0	819,9
4	41,9	64	1.527,4	560,0
5	41,4	50	1.207,7	486,6
6	41,6	69	1.658,6	1.360,0
Media	88,6	54,8	1.377,2	707,7

TESTIGOS

1	34,8	32	919,5	933,3
2	24,8	154	6.209,6	2.806,6
3	23,3	118	5.064,3	3.144,4
4	32,5	272	8.461,5	3.277,7
Media	28,8	144,0	5.163,6	2.790,5

Nota complementaria.—En el lote tratado el 16,4 por 100 de las larvas/g eran anormales frente a un 3,5 por 100 en los testigos (diafragma). En la canal (digestión y sedimentación de doce horas) se encontraron muertas el 89 por 100 en los tratados frente a 44,2 por 100 en los testigos.

CUADRO XXVI

Resultados totales de la experiencia G de cricetos con su grupo testigo (Thiabendazol 500 mg/kg. 11.º día p.i.).

CRICETO n.º	mg. diafragma	TRIQUINELOSCOPIA		n.º/g. de larvas total	DIGESTION
		n.º de larvas	n.º/g. de larvas		
1	23,2	0	0	59,7	
2	38,4	55	1.432,2	888,6	
3	30,8	94	3.051,9	1.721,9	
4	33,2	13	3.436,1	1.666,6	
5	42,2	84	1.990,5	1.133,3	
6	36,6	21	573,7	232,6	
Media	34,0	61,1	1.747,7	917,0	
TESTIGOS					
1	18,6	71	3.817,2	3.643,9	
2	11,2	28	2.500,0	377,3	
3	48,0	15	312,5	199,3	
4	46,0	119	2.586,9	2.444,0	
Media	20,6	58,2	2.304,1	1.666,1	

CUADRO XXVII

Resultados totales de la experiencia H de cricetos con su grupo testigo (Thiabendazol 500 mg/kg., 44 día p.i.).

CRICETO n.º	mg. diafragma	TRIQUINELOSCOPIA		n.º/g. de larvas total	DIGESTION
		n.º de larvas	n.º/g. de larvas		
1	29,2	13	441,4	395,3	
2	17,8	1	56,1	86,6	
3	35,2	10	284,0	240,0	
4	20,2	7	346,5	219,0	
5	22,1	9	407,2	356,6	
Media	24,9	8	307,4	260,3	
1	—	—	11.967,2	2.067,9	
2	—	—	2.277,0	671,0	
3	—	—	11.376,2	1.388,0	
4	—	—	4.553,2	660,1	
Media	—	—	7.553,2	1.196,7	

CUADRO XXVIII

Analisis comparativo de las pruebas F, G y H de cricetos con sus testigos respectivos.

EXPERIENCIAS	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION	
	Diferencia absoluta/g.	% de reducción	Diferencia absoluta g.	% de reducción
Prueba F (3.º día)	3.787,3	73,4	2.082,7	74,6
Prueba G (11.º día) ...	556,4	24,2	746,0	44,6
Prueba H (44.º día) ...	7.245,7	95,9	936,4	78,2

CUADRO XXIX

Resultados de la prueba comparativa de tratamiento contra larvas emigrantes con Thiabendazol 250 mg/kg. y Methiridina 800, 200 y 20 mg/kg los días 17, 18 y 21.º p.i.

CRÍCETO n.º	mg. diafragma	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION n.º/g. de larvas total
		n.º de larvas	n.º/g. de larvas	
METHIRIDINA				
1	38,8	813	20.953,6	18.622,1
2	30,6	471	15.392,1	9.911,0
3	31,2	607	19.455,1	17.933,3
4	20,6	302	14.660,1	5.997,3
5	29,6	383	12.939,1	5.777,3
6	29,0	707	24.379,3	10.620,0
Media	25,6	397,1	17.963,2	11.476,8
TESTIGOS				
1	24,7	595	24.089,0	21.399,9
2	33,8	573	16.952,6	10.710,6
Media	29,2	594	20.520,8	16.055,2
THIABENDAZOL				
1	39,8	1.106	27.788,9	21.866,6
2	20,8	333	16.009,6	9.440,0
3	14,8	191	6.148,6	7.686,6
4	18,8	114	6.063,8	3.355,3
5	14,2	133	9.366,1	7.510,6
Media	21,6	355,4	13.075,4	9.771,8

CUADRO XXX

Análisis comparativo de las pruebas de tratamiento contra larvas emigrantes con Thiabendazol y Methiridina en cricetos, con el grupo testigo común.

EXPERIÉNCIAS	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION	
	Diferencia absoluta/g.	% de reducción	Diferencia absoluta/g.	% de reducción
Methiridina	2.557,6	12,7	4.578,4	28,5
Thiabendazol	7.445,4	36,2	6.283,4	39,1

CUADRO XXXI

Análisis de la varianza entre número de larvas totales en el diafragma de testigos y grupos experimentales 2.º (11, 16 y 19) y 3.º (17, 19 y 21).

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio
MEDIAS	2	7.317.739,5	3.659.886,9
INDIVIDUOS	11	21.091.275,7	1.917.388,7
TOTALES	13		
F = 1,90 no significativa			

CUADRO XXXII

Análisis de la varianza entre número de larvas totales en la canal de testigos y grupos experimentales 2.º (11, 16 y 19) y 3.º (17, 19 y 21).

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio
MEDIAS	2	631.740,8	315.870,4
INDIVIDUOS	11	896.070,1	81.460,9
TOTALES	13		
F = 3,8 no significativa para p < 0,05			

CUADRO XXXIII

Análisis de la varianza entre número de larvas de los testigos en el diafragma y número de larvas *normales* de los grupos experimentales 2.^o y 3.^o

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio
MEDIAS	2	1.801,6	900,8
INDIVIDUOS	11	1.396,7	129,9
TOTALES	13		
$F = 7,09$ significativa ($P < 0,05$)			

CUADRO XXXIV

Análisis de la varianza entre el número de larvas en la canal de los testigos y el número de larvas *vivas* de los grupos experimentales 2.^o y 3.^o

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio
MEDIAS	2	175,8	87,9
INDIVIDUOS	11	81,0	7,3
TOTALES	13		
$F = 12,04$ altamente significativa ($P < 0,01$)			

CUADRO XXXV

Análisis comparativo de las pruebas de larvas A₁, B₁ y E₁.

EXPERIENCIAS	TRIQUINELOSCOPIA		DIGESTION	
	Diferencia absoluta/g.	% de reducción	Diferencia absoluta/g.	% de reducción
Prueba A ₁	3.663,9	50,7	588,9	19,8
Prueba B ₁	6.272,1	86,7	2.661,9	89,4
Prueba E ₁	5.250,1	72,6	2.212,5	74,3

CUADRO XXXVI

Análisis de la varianza entre número de larvas contadas en diafragma en las pruebas de larvas A₁, B₁ y E₁.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio
MEDIAS	2	1.630,3	815,1
INDIVIDUOS	14	1.321,1	94,3
TOTALES	16		
$F = 8,64$ altamente significativa ($P < 0,01$)			

CUADRO XXXVII

Análisis de la varianza entre número de larvas contadas en la canal de las pruebas A₁, B₁ y E₁.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio
MEDIAS	2	1.243,7	621,8
INDIVIDUOS	14	841,1	60,0
TOTALES	16		
$F = 10,35$ altamente significativas ($P < 0,1$)			

VII. RESUMEN

Se ensaya la eficacia terapéutica de la Methiridina y del Thiabendazol en ratas y cricetos, frente a *Trichinella spiralis*.

La Methiridina a dosis de 800, 200 y 200 mg./kg demostró una eficacia del 100 por 100 cuando se administró contra vermes adultos, en los días 3.^o, 6.^o y 9.^o p. i. Su eficacia disminuyó al ser aplicada contra larvas emigrantes, pero ha demostrado destruir las mismas o impedir su desarrollo.

El Thiabendazol se empleó a dosis que va desde 50 a 250 mg./kg. en la rata y 500 mg./kg. en el criceto. El máximo efecto conseguido, (99,5 por 100 de reducción) se obtuvo con 250 mg./kg. tres días, contra vermes adultos en el intestino. Salvo en la experiencia de 50 mg./kg. tres días, contra triquinelas preadultos, en todas las otras experiencias se comprobó el efecto secundario del Thiabendazol (sobre la segunda generación). La máxima eficacia en este sentido la obtuvo el tratamiento de 250 mg./kg. tres días, contra larvas emigrantes. Cuando se ensayó una misma dosis, en distintos momentos del ciclo biológico, se comprobó cómo los efectos directos del fármaco sobre los vermes van disminuyendo progresivamente con el ciclo, conservándose, no obstante, la acción secundaria sobre la generación siguiente. Esto, que fue la norma en las ratas, no se demostró en los cricetos.

VII. SUMMARY

Some tests have been carried out on the therapeutic efficiency of Methiridine and of Thiabendazol in rats and in hamsters against a *Trichinella spiralis*.

Methiridine at a dosage of 800, 200 and 200 mg./kg. showed a 100 % efficiency when administered against adult intestinal worms at 3rd., 6th., and 9 th. days *post infestatio*. Its efficiency diminished when administered against emigrant larvae, but it has been shown that it kills said larvae or prevent their growth.

Thiabendazol was administered at a dosage between 50 and 250 mg./kg. in rats and of 500 mg./kg. in hamsters. The maximum effect

obtained (99.5 % of reduction or increase) was reached with 250 mg./kg., 3 days, against adult intestinal worms. In all the experiments or tests, except in that using 50 mg./kg., 3 days, against *Trichinella* in preadult worms, a secondary effect of Thiabendazol was shown (on the second generation). The maximum efficiency was obtained by administering 250 mg./kg., 3 days, against emigrant larvae. When testing a same dosage at different time of biological cycle it was observed that the direct effects of the product on intestinal worms diminished in a progressive way with the cycle though it maintained its secondary action upon the next generation. This was observed in the rats but not in the hamsters under test.

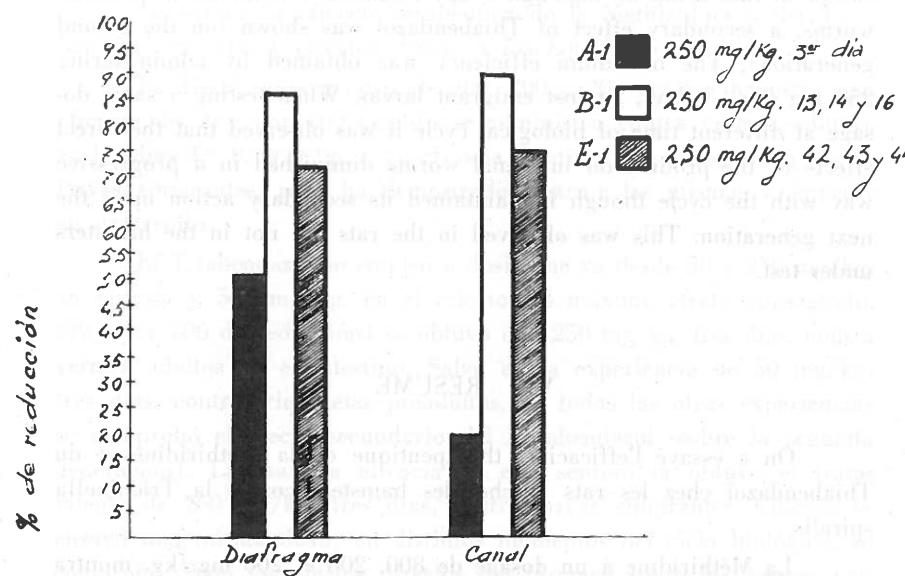
VII. RESUME

On a essayé l'efficacité thérapeutique de la Méthiridine et du Thiabendazol chez les rats et chez les hamsters contre la *Trichinella spiralis*.

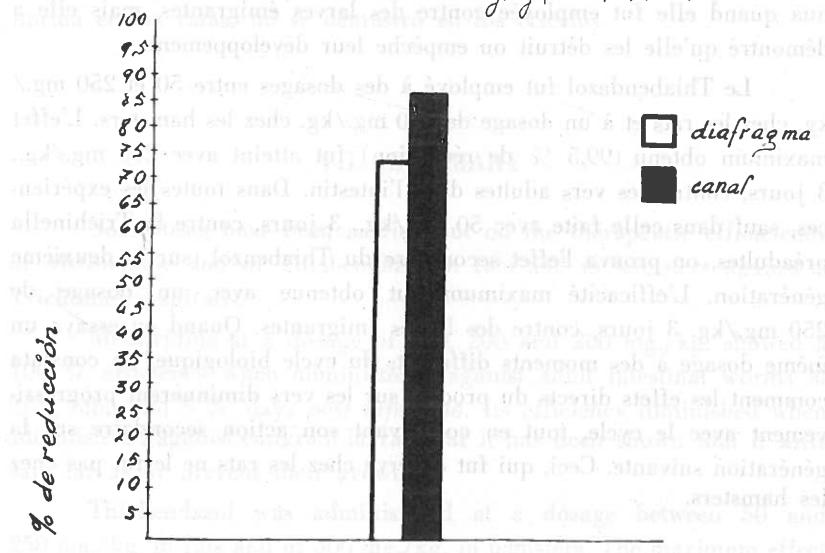
La Méthiridine à un dosage de 800, 200 et 200 mg./kg. montra une efficacité du 100 % lorsqu'elle fut administrée contre des vers adultes le 3^{ème}, le 6^{ème} et le 9^{ème}. jour *post infestatio*. Son efficacité diminua quand elle fut employée contre des larves émigrantes, mais elle a démontré qu'elle les détruit ou empêche leur développement.

Le Thiabendazol fut employé à des dosages entre 50 et 250 mg./kg. chez les rats et à un dosage de 500 mg./kg. chez les hamsters. L'effet maximum obtenu (99,5 % de réduction) fut atteint avec 250 mg./kg., 3 jours, contre des vers adultes dans l'intestin. Dans toutes les expériences, sauf dans celle faite avec 50 mg./kg., 3 jours, contre la *Trichinella* préadultes, on prouva l'effet secondaire du Thiabenzol (sur la deuxième génération). L'efficacité maximum fut obtenue avec un dosage de 250 mg./kg. 3 jours, contre des larves émigrantes. Quand on essaya un même dosage à des moments différents du cycle biologique, on constata comment les effets directs du produit sur les vers diminuèrent progressivement avec le cycle, tout en conservant son action secondaire sur la génération suivante. Ceci, qui fut observé chez les rats ne le fut pas chez les hamsters.

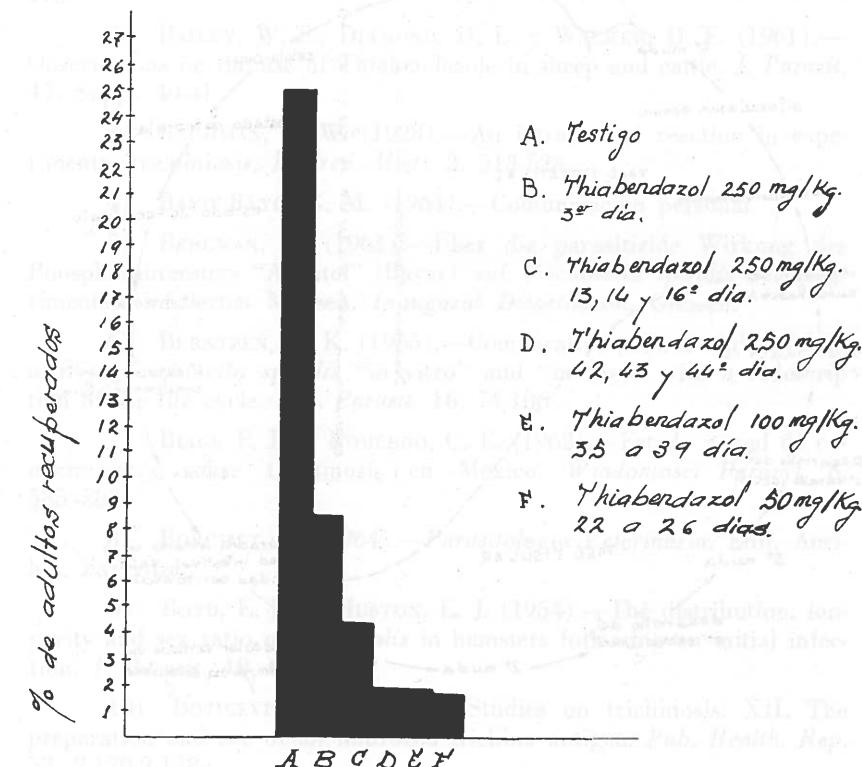
LAMINA I. Viabilidad de larvas
Ratas Thiabendazol



LAMINA II. Viabilidad de larvas
Ratas Thiabendazol. 100 mg/kg., días 35 a 39



LAMINA III. Viabilidad. Prueba de adultos.
Ratas Thiabendazol



LAMINA IV

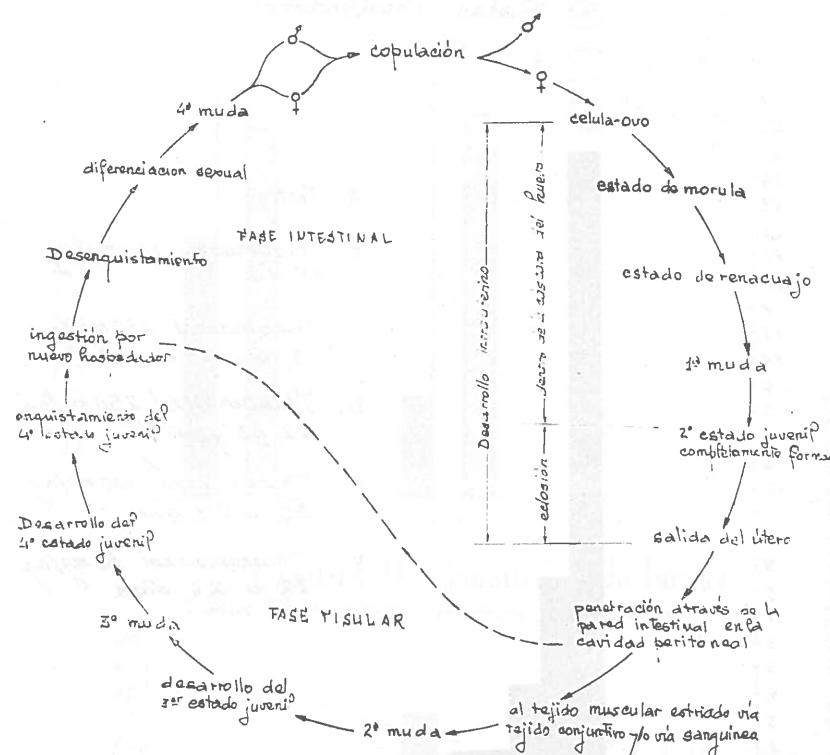


Diagrama de BERNTZEN (1965) con la terminología de HYMAN (1951)

VIII. BIBLIOGRAFIA

- 1) ADAMCZYK, J. y OSUCH, T. (1961).—Leczenie wlosnicy ACTI i hormonami nerczy z uwzglodnieniem przebiegu klinicznego e niektórych prob diagnostycznych. *Przeglad Empidemiol. Varsovia*, 15, 399-410.
- 2) BAILEY, W. S., DIAMOND, D. L. y WALKER, D. E. (1961).—Observations on the use of Thiabendazole in sheep and cattle. *J. Parasit.*, 47, Suppl. 40-41.
- 3) BACHMAN, G. W. (1928).—An intradermal reaction in experimental trichiniasis, *J. Prev. Med.*, 2, 513-523.
- 4) BAYO BAYO, G. M. (1964).—Comunicación personal.
- 5) BERGMAN, R. (1961).—Über die parasitizide Wirkung des Phosphosaüreesters "Asuntol" (Bayer) auf *Trichinella spiralis* bei experimentell infizierten Mäusen. *Inaugural Dissertation*. Giessen.
- 6) BERNTZEN, A. K. (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.
- 7) BIAGI, F. F. y ROBLEDO, C. E. (1962).—Estado actual de conocimientos sobre triquinosis en México. *Wiadomosci Parazyty.* 8, 585-588.
- 8) BORCHET, A. (1964).—*Parasitología Veterinaria*. Edit. Acribia, Zaragoza.
- 9) BOYD, E. M. y HUSTON, E. J. (1954).—The distribution, longevity and sex ratio of *T. spiralis* in hamsters following an initial infection. *J. Parasit.* 40, 686-690.
- 10) BOZICEVICH, J. (1938).—Studies on trichinosis. XII. The preparation and use of an improved trichina antigen. *Pub. Health. Rep.* 53, 2130-2138.
- 11) BRAND, T. von, WEINSTEIN, P. P., MEHLAN, B. y WEINBACH, E. C. (1952).—Observation on the metabolism of bacteria free larvae of *T. spiralis*. *Expert. Parasit.* 1, 245-255.
- 12) BROOME, A. W. J. (1961).—Preliminary observation on the method of action of Methylidine. *Vet. Rec.*, 73, 168.
- 13) BROOME, A. W. J. y GREENHALGH, N. (1961).—A new anthelmintic of unusual properties, *Nature (Lond)* 189, 59-60.
- 14) ———. (1961 b.).—Anthelmintic activity of Methylidine against experimental nematode infection in mice. *Brit. J. Pharmacol.* 17, 321-326.

- 15) BROWN, H. D. MARZUK, A. R., ILVES, I. R., PETERSON, L. H. HARRIS, S. A., SARET, L. H., EGERTON, J. R., YAKSTIS, J. J., CAMPBELL, W. C. y CUCKLER, A. C. (1961).—Antiparasitic drugs. IV: 2(4-thiazolyl) benzimidazole, a new anthelmintic. *J. Amer. Soc.*, 83, 1.704.
- 16) CAMERON, T. W. C. (1961).—Trichinellosis in Canadá. *1st. Inst. Conference on Trichinellosis*. Varsovia, 1960. Proceeding, 76-79.
- 17) CAMPBELL, W. C. (1961).—Effect of thiabendazole upon infections of *T. spiralis* in mice, and upon certain other helminthiasis. *J. Parasit.*, 27, suppl. 37.
- 18) CAMPBELL, W. C. y CUCKLER, A. C. (1962 a).—The chemoterapy of experimental trichinosis in swine. *J. Parasit.*, 48, sec., 2, 28.
- 19) ———. (1962 b).—Effect of Thiabendazole upon experimental trichinosis in swine. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 10, 124-128.
- 20) ———. (1962 c).—Thiabendazole treatment of the invasive phase of experimental trichinosis in swine. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 56, 500-505.
- 21) CAMPBELL, W. C., HARTMEN, R. K., y CUCKLER, A. C. (1963).—Induction of immunity to trichinosis in mice by means of chemically abbreviated infections. *Exp. Parasitol.*, 14, 29-36.
- 22) CAMPBELL, W. C., y CUCKLER, A. C. (1964).—Effect of Thiabendazole upon the enteral and parenteral phases of trichinosis in mice. *J. Parasit.*, 50, 481-488.
- 23) CIRONEANU, I. (1963).—Factori care conditioneaza epidemiologia si epizootologia trichinelozei in regiunea Arges. *Microbiol. Parazit. Epidemiol.*, 8, 345-351.
- 24) ———. (1964).—L'epizootiologie de la trichinelose du porc et des autres animaux domestiques et sauvages en Roumanie. Comunicación al *I. Cong. Int. Parasit.* Roma, resumen: 21-26.
- 25) COLELLA, F. y CIFUNI, F. (1962).—La trichinosis de la volpe e del lupo in Provincia de Matera. *Vet. Ital.*, 13, 955-958.
- 26) COKER, C. M. (1955).—Effects of cortisone on *Trichinella spiralis* infections in non-immunized mice. *J. Parasit.*, 41, 498-504.
- 27) ———. (1956 a).—Some effects of cortisone in mice with acquired immunity to *T. spiralis*. *J. Infec. Dis.*, 98, 39-44.
- 28) ———. (1956 b).—Cellular factors in acquired immunity to *T. spiralis* as indicated by cortisone treatment of mice. *J. Infec. Dis.*, 98, 187-197.
- 29) ———. (1956 c).—Effects of cortisone on cellular inflammation in the musculature of mice given one infection with *T. spiralis*. *J. Parasit.*, 42, 476-484.
- 30) CORDERO, M. (1965).—Datos sobre epizootiología de la trichinelosis en animales silvestres. (No publicado).
- 31) CRUZ, S. A. da (1962).—Triquinelosis en Portugal. *1st. Int. Conf. on Trichinellosis*. Varsovia, 1960. Proceeding, 94-95.
- 32) CHAN, K. F. y BROWN, H. W. (1954).—Treatment of experimental Trichinosis in mice with piperazine hydrochloride. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 3, 746-749.
- 33) CHUTE, R. M. (1961).—Infections of *Trichinella spiralis* in hibernating hamsters. *J. Parasit.*, 47, 25-29.
- 34) DAVIS, W. M., y MOST, H. (1951).—Trichinosis, case report with observations of the effect of adrenocorticotrope hormone. *Am. J. Med.*, 11, 639-644.
- 35) DELIC, S. (1964).—Trichinellosis of dog in the Sarajevo and Zenica regions. *Veterinaria*. (Yugoslavia), 12, 559-561.
- 36) DICKEL, G. H. (1961).—Die Wirkung des Phosphosäureesterpräparates Neguvon (Bayer) unter Praemedikation der antidote PAM und Atropin auf experimentelle Trichinose bei Mäusen. *Inaug. Dissertation*. Giessen.
- 37) DORIN, R. P. (1946).—The preparation and demonstration of an antiserum for *T. spiralis*. *J. Parasit.*, 32, 83-86.
- 38) DRUDGE, J. E. y ELAM, G. (1961).—Comparison of Thiabendazole, Ruelene and phenothiazine for anthelmintic activity in sheep. *J. Parasit.*, 47, Suppl. 39-40.
- 39) ECKERT, J. (1959).—Zur Therapie des Trichostrogylidenebefalles beim Rind. *Ponencia al XVI C. M. de Veterinaria*. Hannover. 6/a 134/725.
- 40) EGERTON, J. R. (1961).—The effect of Thiabendazole upon *Ascaris* and *Stephanurus* infections. *J. Parasit.*, 47, Suppl. 37.
- 41) EGERTON, J. R., CUCKLER, A. C., AMES, E. F., BRAMEL, R. C., Grichtenback, G. E. y WASHKO, F. V. (1962).—Citado por GIBSON, T. E. (1964).—Recent advances in the anthelmintic treatment of the domestic animals. *Advances in Parasit.*, 2, 221-257.
- 42) EL-AFINI, A., y EL SAWAH, H. M. (1962).—Trichinosis in the United Arab Republic. *J. Arab. Vet. Med. Ass.*, 22, 341-344.
- 43) FORRESTER, A. T. T. (1964).—Human Trichinosis in Kenya. *Comunicación al I Cong. Int. Parasit.* Roma.

- 44) GARDINER, M. R. y GRAIG, J. (1961).—Sheep drenching trials with M. K. 360. *J. Agric. Western Australia.*, 2, 737-746.
- 45) GELDBACH, G. F. (1962).—Über den Zeitpunkt der Schädigung der Trichinen durch den Phosphonsäureester Neguvon (Bayer) bei experimentell infizierten Mäusen. *Inaug. Dissertation. Giessen.*
- 46) GONZALEZ CASTRO, J., LIZCANO HERRERA, J. y MARTOS, M. L. (1959).—Comportamiento de la prueba de Suessenguth y Kline en cerdos sometidos a infecciones triquinosas de diverso grado e intensidad. *Rev. Ibér. Parasit.* 19, 3-23.
- 47) GORDON, H. Mc. (1961).—Thiabendazole: a highly effective anthelmintic for sheep. *Nature. (London).* 191, 1.409-1.410.
- 48) GOULD, J. (1952).—*Triquinosis (triquinellosis).* Biblioteca de Biología aplicada. Madrid.
- 49) ———. (1961).—Triquinosis. Capítulo actual. *Coloquios Médicos de actualidad*, 3: Suppl. científico de la Hora XXV.
- 50) GRACEY, F. J. y KERR, J. A. M. (1961).—Some observations on the action of Methyridine in Lambs. *Vet. Rec.* 73, 171-172.
- 51) GROVES, T. W. (1961).—A summary of anthelmintic and toxicity results from field trials with Methyridine. *Vet. Rec.* 73, 196-201.
- 52) GURSCH, D. F. (1948).—Effects of digestion and refrigeration on the ability of *T. spiralis* to infect rats. *J. Parasit.* 35, 19-26.
- 53) HAMILTON, J. (1961).—Some observations on the use of Methyridine in the field. *Vet. Rec.*, 73, 169-170.
- 54) HOLCH, S. N. (1964).—The distribution of the *T. spiralis* in countries in Southeast Asia and the Far East. *Comunicación al I Cong. Int. Parasit. Roma.*
- 55) HORNING, B. (1961).—Un nouveau foyer de trichinellose en Suisse. *Bull. Off. Internat. Epizoot.* 55, 1796-1802.
- 56) HUMES, A. G. y AKERS, R. P. (1952).—Vascular changes in the cheek pouch of the golden hamster during infection with *T. spiralis* larvae. *Anat. Rec.* 114, 103-113.
- 57) JANITSCHKE, B. (1962).—Untersuchungen an Meerschweinchen über die Wirkung von Promintic und Ruelene auf larven von *Trichinella spiralis* und *Toxocara canis*. *Inaugural Dissertation. Berlin (Freie Universität).*
- 58) JARVINEN, K. A. J., y col. (1961).—*T. spiralis* in a autopsy series. A hundred cases without a single positive finding in Helsinki *Ann. Med. Int. Fenniae*, 50, 303-306.
- 59) KAGAN, I. G. (1960).—Trichinosis: A review of biologic, serologie and immunologic aspects. *J. Infec. Dis.* 107, 65-93.
- 60) KAMPELMACHER, E. H. y STREEKER, C. W. (1964).—Experiments with a latexside test for the serodiagnosis of trichinosis. Preliminary Report. *Comunicación al I Congr. Int. Parasit. Roma.*
- 61) KENNEDY, R. C. (1955).—Experimental bovine trichinosis: and attempt to produce eosinophilic myositis of cattle. *Cornell. Vet.*, 45, 127-252.
- 62) KOZAR, Z. y WARD, L. (1960).—Further investigations on the incidence of *T. spiralis* in animals in Poland. *Wiadomosci Parazyty.* 6, 310-311.
- 63) KOZAR, Z. y KOZAR, M. (1963).—Studies on the possibility to make use of pharmacological properties of azulenes for the treatment of acute and chronic trichinellosis. *Parazyty.* 9, 419-434.
- 64) KOZAR, Z. (1964).—Investigations on host-parasite relationships in trichinellosis. *Comunicación al I Congr. Int. Parasit. Roma.*
- 65) KULLMAN, E. (1965).—Über der ersten Nachweis von *Trichinella spiralis* (OWEN) in Afghanistan. *Z. Parasitenk.* 25, 393-398.
- 66) KUZMICKI, R. (1963).—Studies on the action of cortisone administered with Diathiazanine or with piperazani adipate on the course of the invasion with *T. spiralis*. (Owen, 1835) in mice *Wiadomosci Parazyty.* 8, 81-96.
- 67) KROTOV, A. I., KOLOSOWA, M. C. y TIMOSHYN, D. G. (1960).—Izuchenije antygelmintnoj aktiwnosti otiechestwiennogo i zaraebieinogo diatiazanina (3, 3' -dietyltdiakarbozianinyodida) pri gelmin-tozach laboratorniych zhiwothykh. *Med. Parast. i Paraz. Bolezna.*, 29, 647.
- 68) LARSH, J. E., Jr. y RACE, G. J. (1954).—A histopathologic study of the anterior small intestine of immunized and non-immunized mice infected with *T. spiralis*. *J. Infec. Dis.*, 94, 262-272.
- 69) LARSH, J. E. y GOULSON, H. T. (1957).—The effectiveness of cadmium oxide against *T. spiralis* in mice. *J. Parasit.* 43, 440-445.
- 70) LARSH, J., Jr. GOULSON, H. T. y JARINSKY, A. (1958).—The control of repeated infection with *T. spiralis* in mice by the use of feed containing cadmium oxide. *J. Elisha Mitchell Sc. Soc.*, 74, 137-140.
- 71) LEINATI, L., MARAZZA, V., GRIMALDI, E. y PERSIANI, (1963).—Le elminiasi dell'uomo da alimenti di origine animale. Estrato da "La clinica veterinaria". 86, 173-217, 242-257 y 356-404. Trichinosis, 69.
- 72) LORD, R. A. (1958).—Studies on the use of cortisone and ACTH in trichinosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 7, 611-617.

- 73) LUKASHENKO, N. P. y BRZESKY, W. W. (1962).—Trichinellosis in wild animals in Siberia, Arctic and Far East U. S. S. R. *Wiadomosci Parazyty.* 8, 589-597.
- 74) LUKASHENKO, V. A. y RIVALTOUSKI, O. V. (1963).—Distribution of triquinelliasis among carnivores and murid rodent. *Trudi Wsesoyuzni Nauchno-Issledovatelski Inst. Sanit.* 22, 178-179.
- 75) LUONGO, M. A., REID, D. H. y WEISS, W. W. (1951).—The effect of ACTH in trichinosis. A Clinical and experimental study. *New England J. Med.*, 245, 757-760.
- 76) LUPU, A. y CIRONEANU, I. (1962).—La trichinellose chez les aminaux dans la R. P. Rommaine (historique, frenquence, diffusión, épidémiologie et combat contre cette zoonose). *Ist. Int. Conf. on Trichinellosis.* Varsovia, 1960. Proceeding p.p. 99-107.
- 77) MACRAE, R. R. (1961).—A clinical evaluation of Methyridine in normal veterinary practice. *Vet. Rec.*, 73, 193-195.
- 78) MADSEN, H. (1962).—On trichinæ in wild-living carnivores. *Ist. Int. Conf. en Trichinellosis.* Varsovia, 1960. Proceeding, 87-93.
- 79) MAGATH, T. B. y THOMPSON, J. H. (1952).—Diethylcarbamazine (Hetzaran) in experimental trichinosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1, 307-313.
- 80) MARKELE, E. K. y LEWIS, W. P. (1957).—Effect of cortisone treatment on immunity to subsequent reinfection with *Trichinella* in the rat. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 6, 553-561.
- 81) MAYAUDON, T. y PAREDA, O. (1960).—Nueva investigación sobre triquinelosis en Venezuela. *Rev. Med. vet. Parasit.* (Maracay). 18, 31-34.
- 82) MAYNARD, J. E. y KAGAN, I. G. (1963).—Trichinosis. *The Practitioner.*, 191, 622-629.
- 83) MCCOY, O. R. (1931).—Immunity of rats to reinfection with *T. spiralis*. *A. J. Hyg.* 14, 484-494.
- 84) MEEROVITCH, E. (1965).—Studies on the "in vitro" axenic development of *Trichinella spiralis*. I. Basic culture techniques, pattern of development and the effects of the gaseous phase. *Canad. J. of. Zool.* 43, 70-79.
- 85) MERKUSNEV, A. V. (1963).—Triquinelliosis in the Soviet Arctic. *Wiadomosci Parazyty.* 9, 493-495.
- 86) MINING, W. y DING, P. Ch. (1951).—Hetzaranwirkung bei Mäusetrichinose. *Zeche. Tropenmed Paras.* 8, 163-168.
- 87) NELSON, G. S. y MUKUNDI, S. (1953).—A strain of *T. spiralis* from Kenya of low infectivity to rats and domestic pigs. *J. of Helminth.* 37, 329-338.
- 88) NELSON, G. S., CUGGISBERG, C. W. A. y MUKUNDI, J. (1963).—Animal hosts of *Trichinella spiralis* in East Africa. *Ann. trop. med. Parasit.* 57, 332-343.
- 89) NEMESERI, L. (1964).—Trichinellosis in Hungary. Comunicación personal.
- 90) NENOV, S. (1962).—Triquinosis en Bulgaria. *Ist. Int. Conf. on Triquinellosis.* Proceeding., 108-123.
- 91) OLIVER, L. y CHEERVER, A. W. 1963).—Comparison of the effect of cortisone and of *T. spiralis* infection on injury to rats by encephalomyocarditis virus infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 12, 675-677.
- 92) OLIVER-GONZALEZ, J. y HEWITT, R. J. (1942).—Treatment of experimental intestinal Trichinosis with 1-dyetylcarbamyl-4-Methylpiperazine hidrochloride (Hetzaran). *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 66, 254-255.
- 93) OLIVER-GONZALEZ, J. y BEUDING, E. (1948).—Reduction in the number of adult *Trichinella spiralis* in rats after treatment with naphthoquinones. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 69, 569-571.
- 94) PLOTNIKOV, N. N. y OZERETSKOVSKAYA, N. N. (1964).—Treatment of trichinellosis with steroid hormones and complications attending it Separata del Inst. de Parasit Ef. Trop. Min. Salud Pública de la U. R. S. S., Moscú.
- 95) PODHAGECKY, K. (1962).—Localization of the intestinal trichinellæ in the small intestine of mice in their intestinal phase. *Wiadomosci Parazyty.* 9, 633-636.
- 96) POZO LORA, R. (1963).—Primeros resultados españoles de la investigación de triquinelosis en los perros. *Bol. Cons. Gen. Col. Vet. España.* (Sup. Científ.). 9, 131-135.
- 97) RACHON, K. y JANUSZKIEWICZ, J. (1962).—Corticoesteroïds and ACTH blood, plasma and amino acids in the treatment of trichinellosis. *Inst. Int. Conf. on Trichinellosis.* Varsovia, 1960. Proceeding. 236-244.
- 98) RAPPAPORT, I. (1943).—A comparison of three strains of *Trichinella spiralis*. I. Pathogenicity and extend of larval développement in the musculature. *Am. J. Trop. Med.* 23, 243-350.
- 99) RITTERSON, A. L. (1957).—The Chinese hamster (*Cricetulus griseus*) as an experimental host for *T. spiralis*. *J. Parasit.* 43, 542-547.

- 100) ROBINSON, H. J. (1960).—Adrenal steroids and resistance to infection. *Antibioticos and Chemotherapy*. 7, 199-210.
- 101) RODRIGUEZ GARCIA, M. (1964).—Aportación de la lucha contra la triquinelosis en Asturias. *III Semana Nacional Veterinaria*. 2, 353-355.
- 102) ROSEN, E. (1952).—Cortisone treatment in trichinosis. *Am. J. Med. Sc.*, 223, 16-19.
- 103) ROTH, H. (1938).—On the localization of adult trichinae in the intestine. *J. Parasit.* 24, 225-231.
- 104) RUCAVINA, J. y DELIC, S. (1960).—Some data on trichinellosis in wild and domestic carnivora, and other animals during the period 1957 to 1960 in the P. R. of Bosnia and Herzegovina. *Veterinaria* (Yugoslavia). 12, 589-591.
- 105) KUKAVINA, J. y DELIC, J. (1962).—Trichinellosis in Yugoslavia in the last 40 years (1920-1960). *Ist. Int. Conf. on Trichinellosis*. Varsovia. 1960. Proceeding, 124-126.
- 106) SADUM, E. H. y NORMAN, L. (1965).—Effect of single inoculation of varied size, on the resistance of hamsters to *Trichinella spiralis*. *J. Parasit.* 42, 608-612.
- 107) SCHABLITZKI, H. (1962).—Die Wirkung des Phosphorsäureesters "Neguvon" (Bayer) auf *Trichinella spiralis* in Darm und Wanderstadium bei experimentell infizierten Mäusen. *Inaugural Dissertation*. München.
- 108) SCHANZEL, H. y HEGEROVA, E. (1963).—Vliv methyrydunu na *T. spiralis* u bilych musi. *Sbovník Vysoke Skoly Zemedelske y Brne. Rada B. Spisy Fak. Vet.* 11, 501-506.
- 109) SCHOBERT, W. (1963).—Untersuchungen über die Wirkung von thiabendazol auf Magendarmwürmer des Shafes, *Inaugural-Dissertation*. Berlin.
- 110) SCHOOP, G. (1955). (Cit. LEHMENSICK, R., 1962).—Gegenwärts Problem der Trichinellose-Forschung. *Z. Parasit.* 22, 85-86.
- 111) SCHOOP, J. (1964).—Die Wirkung von Piperazin (Hexahydronaphthalen-1,2-dione) auf die verschiedenen Entwicklungsstadien der *Trichinella spiralis* (OWEN) bei experimentell infizierten Mäusen. *Zbl. Bak. Ref.* 193, 272-281.
- 112) SCHOOP, G. y LAMINA, J. (1959).—Über die vermitizide Wirkung von Neguvon auf *Trichinella spiralis* in experimentell infizierten Mäusen. *Vet. Med. Nachrichten*, 4, 256-260.
- 113) SCHOOP, G. y LAMINA, J. (1962).—Die Wirkung des Phosphorsäureesters -Neguvon auf Darm und Wandertrichinen bei experimentell infizierten Mäusen. *Ist. Int. Conf. on Trichinellosis*. Varsovia, 1960. Proceeding, 250.
- 114) SCHERWOOD, J. H. (1964).—Comunicación personal.
- 115) SNEDECOR, G. W. (1948).—*Métodos de estadística*. Acme. Agency., Soc. Resp. Ltda. Buenos Aires.
- 116) SOO-HOO, G. (1952).—Effect of an Arsenous compound on experimental *Trichinella spiralis* in mice. *Exper. Parasit.*, 1, 377-383.
- 117) SPAETH, G. L., ADANS, R. E. y SOFFE, A. M. (1964).—Treatment of trichinosis. *Arch. Ophthal.*, 71, 359-363.
- 118) STEFANSKI, W. y PRZYJAIKOWSKI, Z. (1964).—L'influence de certaines bactéries sur l'établissement de trichines dans le tube digestif de la souris. *Bull. Acad. Vétér.*, 3, 131-134.
- 119) STONE, O. J., SONTONE, C. T. y MULLINS, J. F. (1964).—Thiabendazol: A probable cure for trichinosis. *J. Am. Med. As.*, 187, 536-538.
- 120) STONER, R. D. (1950).—Experimental studies on trichinosis in Swiss mice. *Thesis*. State University of Iowa.
- 121) STONER, R. D. y GODWIN, J. T. (1953).—The effects of ACTH and cortisone upon susceptibility to trichinosis in mice. *Am. J. Pathol.* 129, 943-950.
- 122) STONER, R. D. y GODWIN, J. T. (1954).—The effects of adrenocorticotropic hormone and cortisone upon acquired immunity to trichinosis in mice. *Am. J. Path.* 30, 913-918.
- 123) STONER, R. D. y HANKES, L. V. (1960).—Incorporation of tritium-labeled Tryptophan by *T. spiralis* larvae and demonstration of non precipitating antibody to tritium-labeled *Trichinella* antigen. *Ist. Int. Conf. en Trichinellosis*, 1960 (Varsovia). Proceeding, 306-312.
- 124) SZEKY, A. y NEMESERI, L. (1960).—Beiträge zur Pathohistologie des Trichinellose auf Grund experimenteller Untersuchungen. *Acta. Vet. Acad. Scient. Hungaricae*, 6, 361-372.
- 125) THORPE, E. (1962).—Pathological effects of the administration of methyridine to rats, sheep and cattle. *J. Comp. Path.*, 72, 29-32.
- 126) TRAWINSKI, A. (1960).—Un nuevo método de control de la carne en cuanto a la presencia de larvas de triquinela, empleando el método de la reacción de flocculación en gel. *Bull. Acad. Polonaise Scien.* 8, Ref en *Ar. Vet. Prac.* Fas. 106.

- 127) UMINSKU, J. y STROCZYNSSKA, M. (1960).—Badania drobnych asakow w kiweunku wlosnicy w pow. Tomaszów Lubelski. *Wiadomoci Parazyty.* 6, 309-310.
- 128) VISKNE, A. E. (1963).—Trichinelliasis of fur-bearing and animals in the Latvian S. S. R. *Latvijas Lopkopibas un Veterinarijas Zinatniski, Petnieciska Instituta Raksti,* 15, 65-70.
- 129) WALLEY, J. K. (1961).—Methyridine-A new anthelmintic for sheep and cattle. *Vet. Rec.*, 73, 159-167.
- 130) WALLEY, J. K. (1962).—The anthelmintic activity of Methyridine by intraperitoneal injection in sheep and cattle. *Vet. Rec.*, 74, 927-932.
- 131) WARDA, L. (1960). Działanie preparatów piperazynowych na jelitowe post postacie wlosni (*Trichinella spiralis*). *Arch. Imm. i Ter. Dos wiadozalnej. Varsovia S.*, 8, 327-346.
- 132) WEISSENBURG, H. (1963).—Untersuchungen über die Wirkung von Famophos auf Magendarmwürmer bei Schafen. *Inaugural Dissertation.* Berlin.
- 133) YOUNG, J. (1961).—Observation on the use of Methyridine as an anthelmintic in practice. *Vet. Rec.*, 73, 192-193.
- 134) ZAIMAN, H., HOWARD, R. G. y MILLER, C. J. (1960).—Mortality and survival of young male mice given single massive doses of *Trichinella spiralis* larvae. *Exp. Parasit.* 10, 206-216.
- 135) ZAIMAN, H., INGALLS, J. W. Jr. y VILLAVERDE, H. (1962).—Mortality and survival times of trichinized mice treated with cortisone acetate. *Exp. Parasit.*, 12, 418-422.
- 136) ZAIMAN, H., J. INGALLS, J. W., Jr. y VILLAVERDE, H. (1964).—Survival time of trichined mice treated with cortisone acetate, ACTH, sugar solutions or water. *Exp. Parasit.* 15, 106-109.
- 137) ZEBROWSKA, D. (1960).—O nosicielstwie wlozni (*Trichinella spiralis* Owen, 1835) u kotów Warszawie i jej okolicach. *Wiadomoci Parazyty.* 6, 308-309.
- 138) ZIMMERMANN, W. J., HUMBARD, E. D. y BIESTER, J. L. (1959).—Studies on trichiniasis in Iowa wildlife (1955-56 y 1956-57). *J. Parasit.*, 45, 87-90.
- 139) ZIMMERMANN, W. J. (1964).—Efficacy of selected drugs against *Trichinella spiralis*. *J. Parasit.* 50, 415-420.

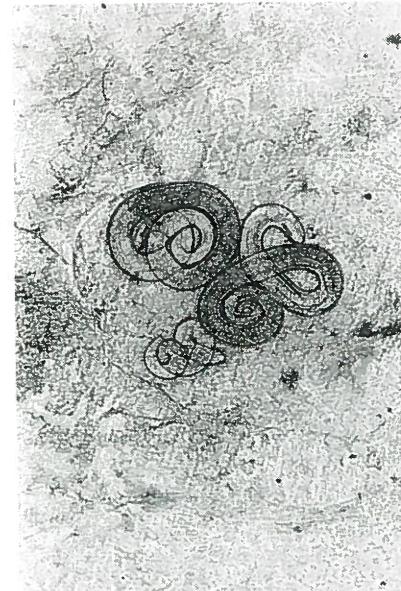


Fig. 1., 100 X c.

Preparación en fresco. Diafragma de rata tratada con Methiridina. Larva anormal.



Fig. 2., 100 X c.

Prep. en fresco Como en la fig. 1, larva anormal junto a otras normales.



Fig. 3., 100 X c.

Corte de diafragma de rata tratada con Methiridina. Larva no enquistada junto a una normal. Método Hematoxilina-cosina.

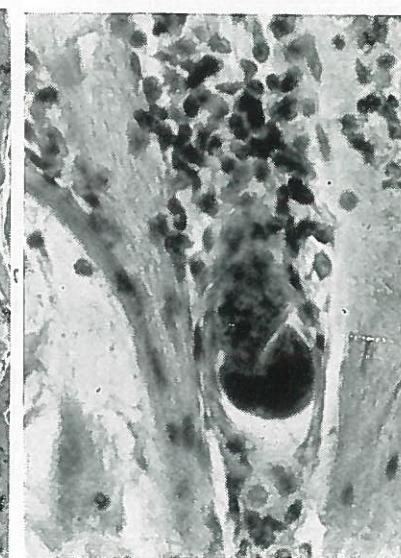


Fig. 4., 460 X c.

Detalle de la Fig. 3, larva anormal y reacción que la rodea. Preparación en fresco. Detalle. D. Parte muñeca.



Fig. 5., 100 X c.

Prep. en fresco. Diafragma. Experiencia D. Larvas de II y III estadio.

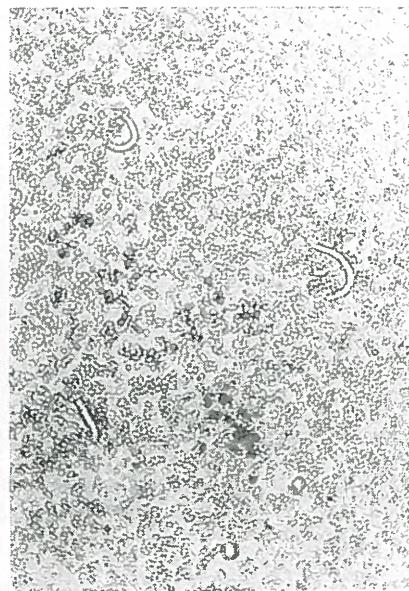


Fig. 6., 100 X c.

Preparación en fresco. Diafragma. Experiencia D. Larvas de I estadio.



Fig. 9., 100 X c.

Prep. en fresco. Diafragma de rata de experiencia E. Tratamiento contra adultos. Quiste alterado.



Fig. 10., 100 X c.

Prep. en fresco. Diafragma de rata. experiencia E. Quiste alterado.

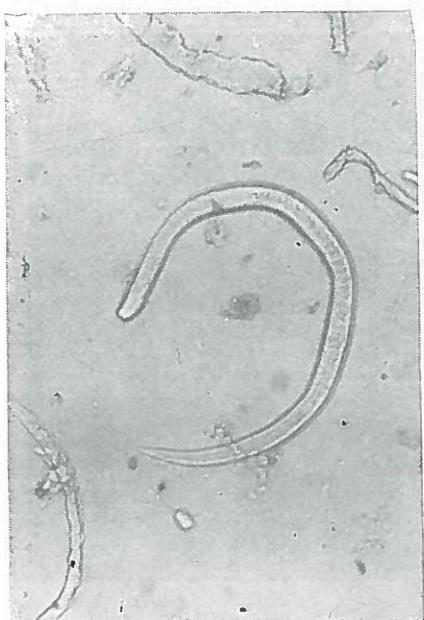


Fig. 7., 100 X c.

Preparación en fresco. Digestión. Experiencia D. Larva muerta.

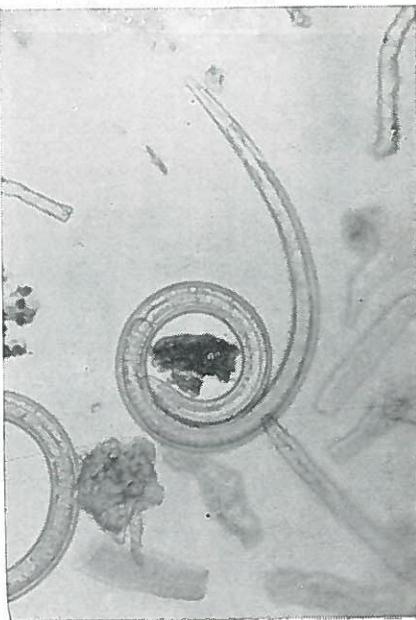


Fig. 8., 100 X

Prep. en fresco. Digestión. Testigo. Larva viva normal.



Fig. 11., 100 X c.

Prep. en fresco. Diafragma criceto. Prueba F. Quiste con larva destruida.

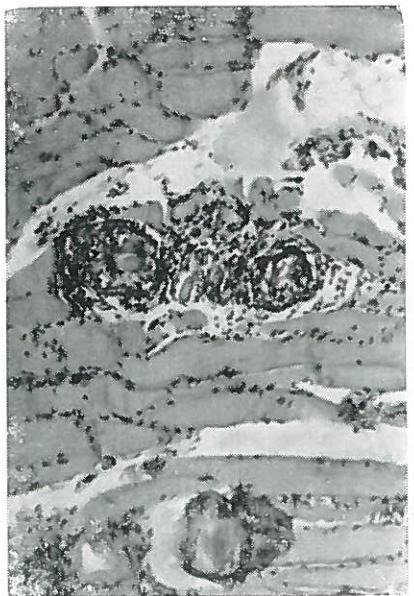


Fig. 12., 100 X c.

Prueba diafragma criceto, prueba F.
Método de Gallego. Quiste invadido.

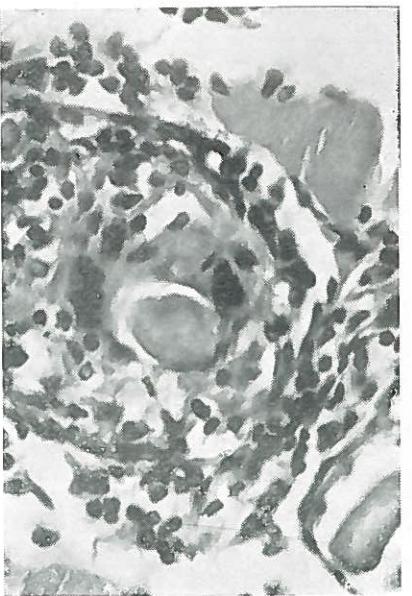


Fig. 13., 460 X c.

Detalle de la fig. 12. Resto larvario
rodeado de células reaccionales.



Fig. 14., 1.060 X c.

Detalle de la fig. 13. Núcleos dege-
nerados del sarcolema junto al resto
larvario.

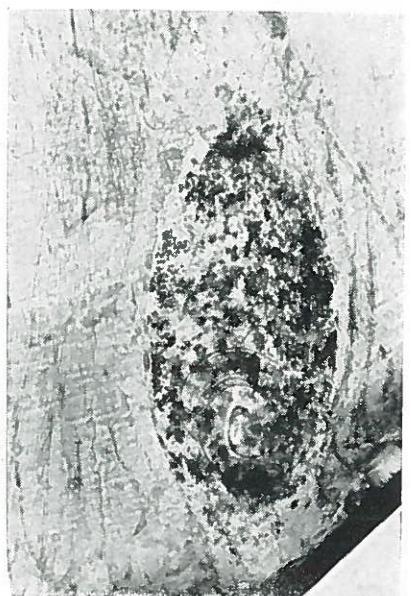


Fig. 15., 100 X c.

Prep. en fresco. Diafragma criceto
prueba H. Quiste anormal.