

Universidad de Granada

Facultad de Ciencias

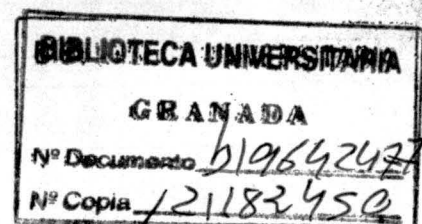


T
12
26

15/00

ASPECTOS BIOQUIMICOS Y FISIOLÓGICOS DEL CULTIVO "IN VITRO" DEL ASCARIS LUMBRICOIDES VAR. SUUM.

TESIS DOCTORAL



1977

M. SANCHEZ MORENO

A MATILDE Y LAURA.

R, 92.806

Deseo expresar mi agradecimiento, en primer lugar, al Dr. D. MIGUEL MONTEOLIVA HERNANDEZ, Director de esta Memoria DOCTORAL, por la amabilidad con que atendió todas mis consultas, y por las orientaciones y enseñanzas de él recibidas, sin cuya colaboración no hubiera sido posible este trabajo.

A la Dra. Dñ. ROSARIO HERMOSO YAÑEZ, colaborador de la Sección de Fisiología y Bioquímica del Parasitismo del Instituto "López-Neyra" de Parasitología.

Al Prof. D. DIEGO GUEVARA POZO, Director del Instituto "López-Neyra" de Parasitología, Centro en el cual se ha realizado este trabajo.

A mis COMPAÑEROS DE LABORATORIO, por la ayuda desinteresada que me han prestado en todo momento, por lo mucho que ha contribuido a mi formación personal.

Mi reconocimiento a todo el personal del Instituto "López-Neyra" de Parasitología, por la amistad que me han ofrecido.



R. 32.806

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

CONS. SUP. INVEST. CIENT:

INSTITUTO "LÓPEZ-NEYRA"

SEC. FISIOLÓGICA Y BIOQUÍMICA.

MEMORIA QUE PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS PRESENTA EL LI-
CENCIADO D. MANUEL SANCHEZ MORENO.

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE GRANADA	
FACULTAD DE CIENCIAS	
SALIDA	N.º <u>669</u>
	Fecha <u>15 ABR. 1987</u>

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
EN CIENCIAS POR EL LICENCIADO D. MANUEL SANCHEZ
MORENO.

DIRECTOR:

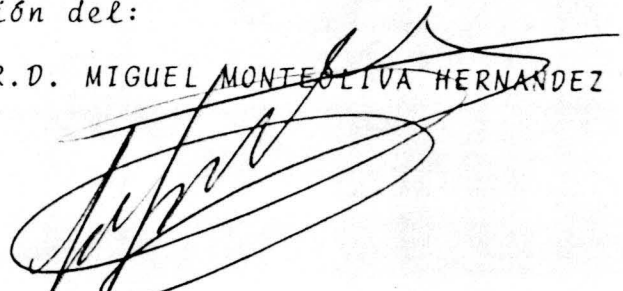
PROF. DR. D. MIGUEL MONTEOLIVA HERNANDEZ

CO-DIRECTOR:

DRA. DÑA. ROSARIO HERMOSO YAÑEZ.

Los trabajos de investigación que se exponen en la presente MEMORIA titulada: "ASPECTOS BIOQUÍMICOS Y FISIOLÓGICOS DEL CULTIVO IN VITRO DEL ASCARIS LUMBRICOIDES, VAR. SUUM", que para aspirar al GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS presente el Licenciado D. MANUEL SANCHEZ MORENO, han sido realizados bajo la dirección del:

PROF. DR. D. MIGUEL MONTEOLIVA HERNÁNDEZ

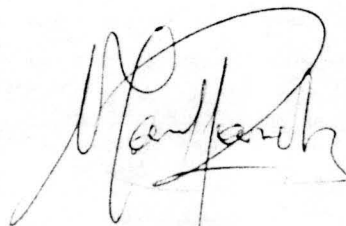


y co-dirección de la:

DRA. DN. ROSARIO HERMOSO YANEZ.



Licenciado D. MANUEL SANCHEZ MORENO
Aspirante al GRADO DE DOCTOR.



Marzo de 1977

INDICE

	PAG.
A.- INTRODUCCION.	1
B.- ANTECEDENTES.	6
B.I.- MÉTODOS DE CULTIVO DE PARÁSITOS.	7
B.I.1.- CULTIVO <i>IN VIVO</i>	7
B.I.2.- CULTIVO <i>IN VITRO</i>	7
B.II.-CULTIVO DEL <i>ASCARIS LUMBRICOIDES</i>	8
* B.III.-ASPECTOS MÁS SIGNIFICATIVOS DE SU FISIOLÓGIA Y BIOQUÍMICA.	13
B.IV.- ANTEHELMÍNTICOS.	27
B.IV.1.- SU EMPLEO EN CULTIVO <i>IN VIVO</i> E <i>IN VITRO</i> . PRINCIPALES ANTIHELMÍNTICOS.	28
B.IV.2.- MÉTODOS DE VALORACIÓN DE ANTIHELMÍNTI- COS.	38
B.IV.2.1.- MÉTODOS <i>IN VITRO</i>	39
B.IV.2.2.- MÉTODOS <i>IN VIVO</i>	48
* B.IV.3.- MECANISMOS BIOQUÍMICOS O FISIOLÓGICOS DE ACCIÓN DE ANTIHELMÍNTICOS	52
C.- MATERIAL Y METODOS	64
C.I.- MUESTRA BIOLÓGICA	65
C.II.-RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LOS PARÁSITOS	68
C.III.- DISPOSITIVO DE CULTIVO	69
C.IV.- MEDIOS DE CULTIVO	74
C.V.- DIÁLISIS DE LOS TEJIDOS	83
C.VI.- MÉTODOS ANÁLITOCOS	86

C.VI.1.- DETERMINACIÓN DE AZÚCARES POR LA ANTRONA	86
C.VI.2.- DETERMINACIÓN DEL GLUCÓGENO	93
C.VI.3.- DETERMINACIÓN DE LA HEMOGLOBINA	98
C.VI.4.- DETERMINACIÓN DE PROTEINAS	98
C.VI.5.- DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ADENÍLICOS	98
D.- RESULTADOS	100
D.I.1.- POR TEJIDOS	101
D.I.2.- CON HOMOGENADOS TOTALES	146
D.I.3.- ADICIÓN AL MEDIO DE INHIBIDORES DEL CRECIMIENTO MICROBIANO	162
D.II.1.-EFECTO DE LOS ANTIHELMÍNTICOS	209
E.- DISCUSION	240
F.- RESUMEN Y CONCLUSIONES	275
G.- BIBLIOGRAFIA	279
ÍNDICE	

A.- INTRODUCCION

A. INTRODUCCION.

IMPORTANCIA DE LA PARASITOLOGIA EN ESPAÑA.

Una de las facetas que justifica plenamente la realización de este trabajo es el dispendio económico nacional que anualmente producen esta parasitosis. De todos es conocido que normalmente las parasitosis, tanto producidas por protozoos como metazoos, no se manifiestan de forma epizoótica, y sus agobios económicos no se dejan sentir de una forma aparatosa, como sucede con las enfermedades bacterianas y virásicas, sino que la forma enzoótica que tienen de manifestarse hace que el ganadero y el país no se den cuenta de estas pérdidas, aunque, en definitiva, sean mayores que las producidas por las epizoóticas.

La traducción crematística de las parasitosis se hace en función de una serie de factores, que podemos resumir a grandes rasgos en pérdidas por motilidad, que se manifiestan por disminución de las producciones en las especies domésticas; pérdidas por decomisos en los mataderos, pérdidas por tratamientos de estas enfermedades y pérdidas por mortalidad, bastante menos cuantiosas que las tres primeras.

En la valoración económica que hace RESPALDIZA (1967) de algunas parasitosis en España, analiza sólo dieciocho de estas enfermedades, calcula la cifra de 46.000 millones de pesetas anuales de pérdidas para las distintas especies zootécnicas nacionales. De estas dieciocho parasitosis sólo tiene en cuenta diez helmintiasis, en sus diferentes manifestaciones clínicas, y suponen el 67 por

100 de las pérdidas totales. De ellas, cuatro nematodiasis intestinales dan el 30 por 100 de pérdidas. Estas cuantiosas cifras se convertirán en astronómicas si consideramos la valoración de todas las parasitosis que padecen nuestras especies domésticas, unas de las más afectadas de Europa. Podemos reseñar también que el mayor porcentaje de estas enfermedades corresponde a las helmintiasis.

En cuanto al valor sanitario que encierra el control de las parasitosis, es bien sabido. Si sólo nos ocupamos aquí de las nematodiasis intestinales, debemos tener en cuenta el papel que ocupan nuestras especies domésticas en la conservación y propagación de las trichuriasis, anquilostomiasis, triquinosis, etc., al hombre.

En la II Semana Nacional de Ganado Porcino y sus Industrias (1967), la tercera ponencia dedicada a "Los problemas patológicos en la explotación Zootécnica del cerdo y su profilaxis", señala: "Pretendemos llamar la atención a los técnicos y ganaderos, dedicados a la crianza y explotación de cerdos, sobre la importancia de las parasitosis en esta especie animal, muy superior a lo que vulgarmente se cree". Más adelante comenta, "Las principales verminosis se encuentran entre las producidas por nemathelminths, siendo de destacar, entre ellas, las producidas por *Ascaris*".

Según ROMERO R. y LIZCANO H. (1971), el índice de parasitación en Nematodiasis gastro intestinal es 58,5%; del cual un 43,9% es producido por el *Ascaris*.

Aparte del alto índice de parasitación citado, su poder patógeno es manifiesto, produciendo lesiones anatomo-patológicas, generalmente en intestino delgado, consistentes en endurecimiento de las partes intestinales, que toman color blanquecino, con zonas hemorrágicas, ocasionando fundamentalmente lesiones catarrales difusas, observándose en el sitio de implantación de los *Ascaris* pequeñas depresiones redondeadas, y más avanzado el proceso, úlceras de bordes gruesos.

Todas estas lesiones locales y las remotas migraciones larvarias (hepáticas y pulmonares), así como las toxinas, etc., demuestran la manifiesta patogeneidad citada.

El *Ascaris* es un parásito prominente en zonas templadas y tropicales, pero abunda más en países cálidos, sobre todo, donde la sanidad es deficiente.

En un informe de un comité de expertos de la O.M.S. (1967) se afirma, que de cada cuatro personas de la población mundial, una padece *Ascariasis*. Conforme se van dominando las grandes enfermedades endémicas se presta mayor atención a las helmintiasis, y se aprecia en consecuencia, de forma más clara, la acción de la *Ascariasis* sobre la sanidad de la población, no sólo en los países en vías de desarrollo sino también entre los industrializados.

La *Ascariasis* ocurre a todas las edades, pero es más frecuente en los grupos de 5 a 9 años de edad y en escolares jóvenes que están más frecuentemente expuestos al parásito en el suelo contaminado, que en los adultos. La frecuencia es aproximadamente la misma en ambos sexos. Los negros la sufren tres veces más que los blancos y la intensidad es mayor. Las clases urbanas y rurales más

pobres, por la polución de suelo y la mala sanidad, son las más afectadas.

Para resaltar la gravedad de este parasitismo en el hombre, se indicaba en el informe anteriormente citado, que en algunos países, hasta el 5% de las intervenciones quirúrgicas por abdomen agudo, son debidas a la *Ascariasis* y 6 muertos por cada 100.000 habitantes son debidas a los mismos. Sin llegar a este extremo, los organismos parasitados son más susceptibles a numerosas infecciones, y cuando la parasitación es masiva, se originan estados de desnutrición.

Los efectos graves, a veces mortales de la *Ascariasis*, se deben a la migración de los gusanos adultos.

Según GUEVARA (1971) los problemas que plantea el cultivo "in vitro" de helmintos parásitos son numerosos y difíciles de salvar pero las esperanzas que se abrigan sobre la información teorica y aplicaciones prácticas que se obtendrán, justifican plenamente los estudios que realizan bastantes cultivadores de la Parasitología, la Bioquímica y la Biología.

Aunque el cultivo "in vitro" nos resuelva una serie de interrogantes, no hay que olvidar nunca lo que dijo READ en 1955, el cual estaba convencido de que aunque el cultivo "in vitro" responderá a muchas interrogantes, ello no será una clave mágica para entrar en los secretos de las relaciones parásito-hospedador. Estamos convencidos de que algunas cuestiones, muchas, podrán abordarse y resolverse por el cultivo "in vitro", pero las relaciones parásito-hospedador son de tal índole que solamente cabe estudiarlas en el complejo que ambos forman.

Creemos, asimismo, de interés estudiar la acción que los antihelmínticos ejercen sobre los procesos metabólicos de los parásitos, utilizando pruebas "in vitro" para valorar la acción antihelmíntica global sobre la vitalidad del verme.

El *Ascaris*, por su tamaño y fácil disección, es de gran interés para realizar estudios bioquímicos y fisiológicos del parasitismo.

B.- ANTECEDENTES

B.- ANTECEDENTES.

B.I.- METODOS DE CULTIVO DE PARÁSITOS.

El cultivo de helmintos parásitos se puede realizar bajo dos vertientes: *in vivo* e *in vitro* y ambos métodos contribuyen a un mejor conocimiento de las bases fisiológicas y bioquímicas de la relación hospedador-parásito (SILVERMAN, 1965).

B.I.1.- CULTIVO *in vivo*.

Este se realiza infestando a uno de los hospedadores del parásito con él. Tal es el caso de TURTON (1969) infesta vacas - con *D. viviparus*, *O. ostertagia* y *C. oncophora*. Después de un tiempo sacrifica las reses y obtiene los parásitos.

B.I.2.- CULTIVO *in vitro*.

Intenta reproducir las condiciones óptimas para obtener el parásito en el laboratorio sin recurrir al hospedador, simulando las condiciones de él.

La meta última a alcanzar con un cultivo *in vitro* sería el sostenimiento en estado viviente de la especie en cuestión pasando por todas las fases evolutivas de su ciclo biológico natural, todo ello conseguido axénicamente fuera del hospedador, en medios cuya composición química y circunstancias físicas nos sean perfec-

tamente conocidas y controladas (GUEVARA, 1971).

Los dispositivos, ideados para el cultivo de parásitos son muy variados y normalmente los autores han ingeniado dispositivos apropiados al parásito objeto de estudio.

El medio de cultivo es un factor sumamente importante en el cultivo *in vitro* de los parásitos; según la nomenclatura propuesta por DOUGHERTY (1959) se considera:

- a) Medios Holídicos: Medios totalmente indefinidos.
- b) Medios Merídicos: Parcialmente definidos.
- c) Medios Cligúidicos: De composición íntegramente conocida.

Otra cuestión que se plantea en el cultivo viene representada por la necesidad de establecer cultivos *in vitro* de parásitos en presencia de otros organismos vivos, genralmente bacterias.

Esta necesidad viene de dos causas: Una primera, debido a la imposibilidad de conseguir una asepsia completa y absoluta de muchas especies que hay que extraer de los habitat altamente sépticos en que habitualmente viven. Segunda, las manipulaciones que ha bría que realizar para eliminar la contaminación puede causar deterioros o alteraciones incompatibles con su posterior cultivo, por lo que se recurre al uso de antibióticos o sulfamidas, bien en soluciones que sirven para lavados preliminares, bien incorporándolos al medio de cultivo para frenar el desarrollo microbiano, pero que no lo suele impedir totalmente (GUEVARA POZO, 1971). La

segunda nace de una razón mas profunda: la necesidad del helminto de ciertas sustancias sintetizadas por los organismos asociados al cultivo.

Atendiendo a ésto, los cultivos se clasifican:

a) Cultivo Axénico: cultivo ausente de cualquier otro ser vivo distinto de la especie cultivada.

b) Cultivo ^MNonoxénico: en el que hay presente como acompañante una sola especie conocida.

c) Cultivo Dixénico, Trixénico, etc.: cuando hay presentes dos, tres o muchas especies conocidas.

d) Cultivo Agnotobiótico: cuando existiendo especies acompañantes, éstas son desconocidas.

B.II.- CULTIVO DEL *Ascaris lumbricoides*.

En el cultivo *in vitro* existe un primer problema y es mantener al verme vivo fuera del hospedador; entonces a la hora de querer cultivar al *Ascaris* en el laboratorio, será necesario tener en cuenta una serie de condiciones:

- Un dispositivo adecuado para su cultivo.

- Un medio de sobrevivencia.
- Condiciones especiales de cultivo.

Algunos autores cultivan el *Ascaris* en un recipiente de vidrio, en el cual ponen el medio que se ensaya e introducen el verme; otros han ideado dispositivos especiales para realizar el cultivo, estos dispositivos tienen la finalidad de aproximarse a simular las condiciones del habitat del parásito.

Cuando el dispositivo es un recipiente de vidrio, normalmente controlan la vitalidad del verme *de visu*. Pero hay autores que aconsejan (GUEVARA y CABRERIZO, 1963) el uso del registro gráfico para la determinación de la vitalidad del verme, en el cultivo *in vitro*.

KERR y CARRET en 1952, idearon un dispositivo que consiste en un baño de agua controlado termostáticamente, conteniendo un vaso de vidrio de 80 ml. de capacidad, el vaso puede ser drenado a través del baño. En el fondo del vaso tiene una varilla de vidrio que se introduce por el aro sobre el fondo del vaso. El otro extremo está asegurado con un hilo a una palanca registradora de peso ligero. El quismógrafo se mueve a razón de 20 mov./minuto, y es utilizado para registrar el movimiento del verme.

GOODWIN (1958) ideó otro dispositivo para registrar la vitalidad del *Ascaris* durante el cultivo; consistía en colocar el *Ascaris* durante el dentro de medias finas de nylon, el extremo anterior del verme está en conexión con el tambor giratorio donde va quedando registrada la movilidad.

En 1970, HERMOSO y MONTEOLIVA describen un dispositivo especial para el cultivo del *Ascaris*; este dispositivo consta de un colector de fracciones, dosificador del medio de cultivo para la renovación automática de éste, estufa regulada a 37°C, un registro gráfico de la movilidad del parásito y un vaso, de diseño especial, para mantener en cultivo al parásito.

GONZALEZ, BRAVO, GARCIA, SANTOS y TOMAS (1974), colocan al *Ascaris* en un baño con un medio de cultivo determinado y atan al extremo inferior del verme el soporte de vidrio y el superior a la aguja registradora del quimógrafo.

No hay que olvidar nunca que el cultivo *in vitro*, que se intentan simular las condiciones ambientales del habitat normal del parásito; por lo tanto, el medio en el que se cultiva el verme debe ser lo más similar posible, al que existe en el habitat propio.

En general los medios empleados, por la mayoría de los autores consultados, son soluciones salinas tamponadas, tales como el líquido de Ringer (SLATER, 1925), Tyrode (ADAN, 1932), medio de Baldwin (BALDWIN y MOYLE, 1947) o bien agua de mar (HOBSON, 1948).

La presencia de Mg en estos medios es indispensable, según BALDWIN (1943). Este mismo autor señala la influencia beneficiosa de altas concentraciones de potasio.

CAVIER y SAVEL (1953b) ensayan diferentes medios y eligen para sus experiencias un Tyrode modificado a un pH de 8,4 y aceptan como indispensable la presencia de iones magnesio.

FUJIMUSI y col. (1961) ven que el periodo de sobrevivencia se alarga por la adición de vitamina C y se acorta con vitaminas B₁ o B₂.

A baja concentración de glucosa en el medio, el *Ascaris* compensa sus necesidades energéticas con el consumo de glucógeno de reserva, mientras que a elevadas concentraciones de ésta es incapaz de quemarla totalmente originando un acúmulo de alcohol etílico en el medio (HERMOSO y MONTEOLIVA, 1970). Estos mismos autores han visto que la glucosa se puede sustituir en el medio por succinato y piruvato, y en menor cuantía por almidón, fructosa, oxalato y lactato.

En 1974, GONZALEZ y col. cultivan el *Ascaris* utilizando como medio el de Prosser y Zimmerman (cloruro sódico, potásico, calcio y bicarbonato de sodio). En 1975, HERMOSO, SANCHEZ y MONTEOLIVA, observan un incremento de la vitalidad del *Ascaris* cuando el medio está compuesto de Tyrode adicionado de glucosa y hemoglobina de cerdo.

El medio de cultivo debe ser renovado continuamente para evitar el exceso de productos de excreción (HERMOSO y MONTEOLIVA, 1970; y GOODWIN, 1975).

Por mucho tiempo se ha venido considerando al *Ascaris* como anaerobio, ésto se apoyaba en que la existencia de oxígeno *in situ* en el hospedador es pequeña (WINDLAND, 1901). Sin embargo, posteriormente se apuntó la idea de que en el *Ascaris* existen sistemas bioquímicos que orientan hacia un mecanismo aerobio (MALCOLM y SMITH, 1969). Apoyándose en ésto HERMOSO y MONTEOLIVA, 1970,

prescinden del cultivo en corriente de nitrógeno y operan con un medio semianaerobio, con la tensión de oxígeno correspondiente al oxígeno disuelto en el medio.

La temperatura es un factor importante a tener en cuenta. CLEELAND y LAURENCE (1962) mantienen el cultivo a 22-26°. MONTEOLIVA (1973) considera que la temperatura más conveniente es los 30° ya que parece ser que el *Ascaris* goza de mayor vitalidad a temperaturas inferiores a los de la sangre caliente (37°).

GONZALEZ y col. (1974) mantienen el cultivo a 18° y GOODWIN (1975) dice que a temperatura de 35-37°C es cuando los gusanos presentan mayor movilidad.

Según SAVED (1954) la contaminación del medio por microorganismos reduce la sobrevivencia del *Ascaris* y por ello los autores adicionan al medio de cultivo antibióticos o sulfamidas para inhibir la proliferación bacteriana. Aunque no se puede descartar la posibilidad de que éstos actúen modificando algún proceso fisiológico normal del parásito.

BUEDING y YALE (1951) utilizan un medio que está formado por: solución salina con 10.000 U. de penicilina, 1,5 mgr. de estreptomycin, 0,5 mgr. de terramicina y 1,2 mgr. de sulfadiazina por ml.

SAVED (1954) usa para conseguir el medio libre de contaminación la gantrisona, 20 mgr. por 100 de solución salina (Tyrode modificado) y 0,5 gr. de glucosa.

ELLISON y col. (1960) usa un medio basal de: ClNa, 0,8%; ClK, 0,0175; Cl₂Ca, 0,0175; Cl₂Mg, 0,01; los ajusta a un pH de 7,2 con tampón fosfatos. Y como antibióticos usa penicilina G sal K, 627 mgr./litro, sulfato dihidroestreptomicina 1gr./litro y nistatina 40 mgr./litro y además un serie de a.a. y vitaminas.

HARPUR (1962) usa penicilina, 300 mgr./litro de solución salina, estreptomicina 100 mgr./litro y kanamicina 50 mgr./litro. PESTI (1964) usa 400.000 U. de penicilina y 30 mgr. de oxitetraciclina por día, mezclados en la dieta.

BERNTZEN, en 1966, utiliza un medio a base de sulfauxidina, 0,5 gr.; neomicina 0,5 gr.; penicilina G. 1 millón de U.; nicostatina 0,05 gr.; estreptomicina 0,5 gr.; en 100 ml. de solución salina 0,85 por 100.

B.III.- ASPECTOS MÁS SIGNIFICATIVOS DE SU FISIOLOGÍA Y BIOQUÍMICA.

COMPONENTES AZUCARADOS.

Las especies jóvenes de *Ascaris*, contienen una gran cantidad de polisacáridos estrechamente parecidos al glucógeno de los mamíferos. BALDWING y KING (1942) y Von BRAND (1950), dan el contenido de glucógeno para diversos nematodos, los cuales nos dicen que un elevado porcentaje del residuo seco del *Ascaris* es glucógeno y que éste está formado únicamente de unidades de glucosa y es semejante a otros glucógenos del tipo de 12 unidades de cadena.

el peso molecular es de 9×10^6 (HARRAP y MANNERS, 1952).

Con respecto a su distribución y comportamiento en diversos tejidos, ha sido estudiado por varios autores: FAIRBAIN (1961) lo estudió en el huevo y dice que se encuentra en el embrión. En el músculo lo estudian HARPUR (1963), FAIRBAIN y PASSEY (1960) y dan el contenido; en peso fresco de 14% y en ovarios 7,2%. CAVIER y SAVEL (1960) señalan la distribución del glucógeno en diversos tejidos.

Von BRAND (1937) dice que en los parásitos mantenidos *in vitro* el glucógeno desaparece rápidamente; él sugiere que el contenido medio de glucógeno es en parte función del tiempo transcurrido desde la recogida del verme. Posteriormente HARPUR (1963) señala que esto es cierto, pero si al medio se le adiciona glucosa se mantiene; esto mismo es afirmado por SAVEL (1964); en 1970 (HERMOSO y MONTEOLIVA) adicionando al medio glucosa, succinato o piruvato, observan que el contenido medio de glucógeno final supera el valor medio inicial; luego esto quiere decir que el parásito ha mantenido intactas sus reservas hidrocarbonadas utilizando como fuente energética el aporte externo de glucosa, succinato o piruvato. Estos mismos autores concluyen que el succinato y el piruvato son metabolizados por el *Ascaris* como suministradores de energía, con el consiguiente ahorro de glucosa o glucógeno.

Según FOSTER (1865), Von BRAND (1934) y CARRIER y SAVEL (1951) los azúcares reductores están presentes en muy poca cantidad.

La trehalosa parece ser el mayor representante de los azúcares de bajo peso molecular en el *Ascaris*; está en equilibrio en



el huevo, con el glucógeno. Se encuentra en muchos órganos y tejidos, en poca cantidad en la cutícula y aumenta en el intestino (FAIRBAIN y PASSEY, 1957; CAVIER y SAVEL, 1960). HARPUR (1963) encuentra menor cantidad de trehalosa en el músculo y en el ovario que los autores anteriores. FEIST, READ y FISCHER (1965) señalan una alta capacidad de síntesis en los tejidos reproductivos, muy poca en tejidos musculares y ninguna en intestino o líquido perivisceral. Para FUKUSHIMA (1969) hay actividad trehalásica en intestino, músculo y órganos sexuales pero no en el líquido perivisceral. GENTNER y col., 1972, y Van den BOSSCHE y BORGERO, 1973, localizan la actividad trehalásica del intestino en los microvellosidades de la célula intestinal.

Según SAVEL (1964) en *Ascaris* mantenidos en sobrevivencia, la trehalosa queda más o menos constante. El aporte exógeno de glúcidos que provoca una recuperación casi total de las reservas de glucógeno no afecta la cantidad de trehalosa. HERMOSO y MONTEOLIVA (1974) ven que durante la sobrevivencia del *Ascaris*, desciende el contenido de trehalosa en órganos sexuales y cubiertas; se mantiene estacionarias en líquido perivisceral, cuando el medio es tyrode.

En 1975a, HERMOSO, MONTEOLIVA y SANCHEZ observan que la trehalosa en líquido perivisceral, desciende tanto si en el medio hay glucosa al 0,3 por mil o ambas a la vez. Y que se mantiene a niveles de origen cuando en presencia de hemoglobina se incrementa la glucosa al 1 por mil.

Otros componentes glucídicos del *Ascaris*, son los *Ascarósidos* cuya estructura fue aclarada definitivamente por FOUQUEY y COL (1962).

El habitat del *Ascaris* y de otros muchos helmintos parásitos es la luz intestinal donde la tensión de O_2 es baja. Estas condiciones pueden explicar el hecho de que la fermentación de carbohidrato, mejor que el metabolismo aerobio, suministra la mayor fuente de energía para los helmintos parásitos intestinales.

Según BUEDING (1956), en contraste a los tejidos de sus hospedadores, el succinato mas que el lactato es el principal producto de fermentación de estos helmintos.

La formación anaerobia del succinato en *Ascaris* y en *Hymenolepis diminuta*, puede ser explicada , siguiendo la secuencia de la reacción: el CO_2 se fija en el fosfoenol piruvato (PEP producido durante la glucolisis. Esta reacción origina la formación de oxalacetato (OAA) y está catalizada por la acción de la PEP carboxykinosa según BUEDING (1968) y SAZ y LECURRE (1967). La reducción de OAA a malato está catalizada por la mála to deshidrogenosa.

La fumarasa cataliza la deshidratación del mála to a fumarato según vieron KMETECY BUEDING (1961); en las mitocondrias del *Ascaris* hay un sistema de transporte de electrones el cual cataliza la reducción del fumarato por NADH. Es evidente que en este sistema la reducción anaerobia de una flavoproteína por NADH, está acoplada con la fosforilación de ADP. Por lo tanto, la energía es generada en forma de ATP bajo condiciones anaerobias y nivel de transportes de electrones (BUEDING, 1969).

La síntesis del glucógeno, ha sido estudiada con poco detalle. El hecho de que extractos de *Ascaridia galli* sintetizan polisacáridos a partir de glucosa-P en presencia de AMP sugirió a BUEDING (1949) que la síntesis de glucógeno transcurre por mecanismos similares a la de los mamíferos.

Posiblemente la glucosa es fosforilada por una hexoquinasa, (RATHBONE y REES, 1954), y forma glucosa-6-P, ésta pasa a glucosa-1-P por acción de una P-glucomutasa y posteriormente se forma UDP-glucosa, que conduce a la síntesis de glucógeno. Parcialmente las fosforilasas, que actúan preferentemente en la degradación, pueden en presencia de glucosa-1-P condensar estas sobre las cadenas preexistentes, ENTNER y GONZALEZ (1959) han demostrado que el 50% de la radioactividad de la glucosa¹⁴ añadida al medio, es incorporada al glucógeno del *Ascaris*. WEATHERBY y COL en 1964, estudiando *Ascaridia galli*, observan que este verme también incorpora al glucógeno radioactividad de la glucosa adiconada al medio o suministrada al hospedador.

En una revisión hecha por MAGAUDDA y COL (1966) señalan que la vía glucolítica es la principal en la utilización de los glúcidos por parte del *Ascaris lumbricoides* adulto. Las diferencias obtenidas usando glucosa C₁ y C₆ marcadas, señalan una pequeña contribución del ciclo de las pentosas fosfato u otras vías.

El equipo enzimático del *Ascaris*, en relación al metabolismo glucídico, fue estudiado por CAVIER y SAVEL (1953a), encuentran sacarasa, maltasa y amilasa, pero no lactasa.

LÍPIDOS.

Es aceptado por la mayoría de los autores, que los ácidos grasos volátiles tienen su origen en el metabolismo glucídico más que en el lipídico o protídico. En 1934 Von BRAND puso en evidencia que la producción no está ligada al metabolismo protídico ni lipídico, y que era mayor en anaerobiosis.

FAIRBAIRN (1957), en una revisión de la bioquímica del *Ascaris*, dice que está demostrada claramente la existencia de ácidos grasos volátiles y no volátiles, glicerol, fosfolípidos y una sustancia insaponificable que, FLURY (1912), había denominado alcohol ascaryl CO. También el colesterol ha sido aislado e identificado.

FAIRBAIRN (1957) hace una distribución de los lípidos del *Ascaris* y principalmente de los triglicéridos: encuentran en altas concentraciones en ovarios y en huevos. En el músculo y otros tejidos es relativamente mas baja, mientras que la concentración de fosfolípidos es más alta.

BUEDING y YALE (1951) y BUEDING (1953) con técnicas cromatográficas consiguieron aislar e identificar los ácidos volátiles excretados *in vitro*: ácido acético (20 al 25%); ácido propiónico (10%); ácido C₄ (2 al 5%); ácido C₅ (40%); y ácido de C₆ (20 al 30%).

UENO y col. (1960) y ELLISON y COL (1960), mencionan como componentes mayoritarios del *Ascaris*: alfa-metil n-butírico, n-

valeriánico e iso-caprónico y como componentes minoritarios: acético, propiónico, isobutírico, trimetilacético, tíglico, n-caproico y un ácido de C₇-C₈.

El succinato es formado en el músculo del *Ascaris* por carboxilación reductora del ácido pirúvico. Parece ser el precursor, no sólo del propionato, sino también del ácido alfa-metil-butírico, y de algún otro ácido volátil, formado por el músculo del *Ascaris* (SAZ y VIDRINE, 1959).

Que los ácidos grasos volátiles pueden derivar del piruvato via succinato, puede ser debido al hecho de que en condiciones anaeróbicas el músculo del *Ascaris lumbricoides* sintetiza más ácidos grasos en presencia de CO₂ (HARPUR y WATERS, 1960).

ROGERS y LAZARUS (1949) encontraron lecitinas, cefalinas y esfingomielinas en el *Ascaris*. FAIRBAIRN (1956) y CAVIER y vol. (1958), han estudiado la distribución de esteroides en diversos tejidos.

COMPONENTES NITROGENADOS.

DAVENPORT (1948) señala la presencia en el líquido perivisceral del *Ascaris* de hemoglobina y calcula que para un Pm. de 17.000 el contenido de ésta es el 2% del total de proteínas.

Posteriormente son estudiadas por una gran cantidad de autores, HAMADA y col. (1962), SMITH y MORRISON (1963), WITTEM-

BERG y col. (1965), OKAZAKI y col (1965), BARRETT y BEIS (1973), MONTEOLIVA y HERMOSO (1974) y HERMOSO, SANCHEZ y MONTEOLIVA (1975b).

El valor medio de proteínas varia según algunos autores. DAVEMPORT (1949) da un valor del orden de 32,5 mgr./ml. confirmado posteriormente por MONTEOLIVA, BENITO y HERMOSO (1973), este valor es superior al de CAIN y WELSHAMN (1973) que es de 19,5 mgr./ml. Esta discordancia en los resultados puede estar justificada por la gran variabilidad que presentan estos vermes en su composición.

Según HERMOSO y MONTEOLIVA (1973) la concentración en proteínas, hemoglobinas y *derivados adenílicos* en el líquido perivisceral está directamente influenciada por el contenido intestinal del hospedador, pero no por la naturaleza de las proteínas.

Ya en 1952, KANYGNINA, determinó los aminoácidos de las proteínas del *Ascaris*: arginina, lisina, histidina, etc.

KORUMAYA (1975) extrae, 14 aminoácidos libres, del *Ascaris summ* por la técnica de agua-fenol y 15 formando parte de proteínas por hidrólisis alcalina.

En 1963, SMITH y LEE, dicen que las variaciones en el color de *Ascaris lumbricoides* del cerdo dependen de los cambios en la concentración de hemoglobina de líquido perivisceral. Según estos mismos autores la concentración de hemoglobina permanece constante durante varios días cuando los gusanos son cultivados en solución salina; se incrementa rápidamente cuando se añaden sustratos

apropiados al medio; ésto mismo fue afirmado por HERMOSO, SANCHEZ y MONTEOLIVA (1975b).

OKAZAKI y col. (1965) determinan el peso molecular de la hemoglobina del líquido perivisceral del *Ascaris* y es de 328.000; el peso molecular mínimo por hemo es de 40.600 y la proteína debe tener 8 grupos hemo por molécula.

La distribución de la hematina fue estudiada en cortes histológicos y en vermes enteros por medios de reacciones peroxidásicas (SMITH y LEE, 1963), solámente la cutícula y el canal excretor están libres de hematina. La cantidad de hemoglobina de la pared corporal no parece fluctuar como la del líquido perivisceral. Hay más en las capas hipodérmicas y anillo nervioso que en la musculatura. Los compuestos de hematina están en gran cantidad en el sistema reproductor y han sido estudiados espectroscópicamente en suspensiones de huevos uterinos.

Se sabe que en el *Ascaris* existen dos hemoglobinas con distintas propiedades; uno de los primeros en estudiarla fue HAMADA y col. (1963), indicando que hay una marcada diferencia entre las propiedades funcionales de las dos hemoglobinas (A_1 y A_2) de la pared corporal de *Ascaris lumbricoides*. En la titulación de la forma desoxigenada de la hemoglobina A_1 con etil-isocianuro encuentra que esta hemoglobina tiene dos o mas grupos hemo en su molécula con un coeficiente de interacción hemo-hemo de 1,7.

SMITH y MORRISON (1963) purifican y determinan el peso molecular aproximado y las propiedades espectrales de las dos hemoglobinas del *Ascaris*, y dicen que son 14.000 y 280.000. Concluyen

los autores su estudio diciendo que las propiedades de ambas hemoglobinas difieren de aquellas hemoglobinas de mamíferos examinados al respecto, y son proteínas específicas producidas por ellos mismos.

HAMADA y COL (1968) observan que de las dos hemoglobinas una era más resistente a la desnaturalización de los álcalis y para formar un hemicromo por autooxidación con benzoato de sodio. Estas preparaciones están impurificadas con un 20% de proteínas que no lograron quitar. Indican que la hemoglobina A₂ puede ser idéntica con la hemoglobina purificada de líquido perivisceral; tampoco pueden justificar si el origen de A₂ es de líquido perivisceral o existe originalmente en la pared corporal.

GIBSON y SMITH (1965) estudian la combinación de las hemoglobinas de la pared corporal y líquido perivisceral del *Ascaris lumbricoides* del cerdo, con O₂, CO y NO a diferentes temperaturas y valores de pH.

VIGLIECHIO y GORTZ (1972) afirman que se observa una alta afinidad para el oxígeno por las hemoglobinas del verme y sugieren que el papel de la hemoglobina en el animal parásito era atrapar el oxígeno del medio y hacerlo útil para sus procesos metabólicos.

Las reacciones de la hemoglobina del líquido perivisceral frente al oxígeno permiten llegar a la conclusión de que ésta no puede ser efectiva como reserva o portador de oxígeno en el metabolismo de este verme (SMITH y LEE, 1963). Creen estos autores que representa un pool de hematina a partir de la cual se sintetizan

otras hemo-proteínas y la variación en la concentración es el resultado de un mecanismo que permite al verme almacenar hematina cuando ésta está presente en exceso en el intestino del hospedador. Y sugieren que la principal función de este mecanismo es facilitar la formación de capas del huevo.

El grupo de *derivados adenílicos* no sólo está influenciado por el hospedador en cantidad sino también en calidad, MONTEOLIVA, BENITO y HERMOSO (1973) y HERMOSO, SANCHEZ y MONTEOLIVA (1975b). Esto es natural, puesto que, por tratarse de sustancias de bajo peso molecular y difusibles pueden pasar con relativa facilidad del intestino del hospedador al líquido perivisceral y en concentraciones relativas semejantes a las existentes en el contenido intestinal del hospedador. La expresión *derivados adenílicos* se emplea para englobar todas aquellas sustancias que presentan espectros de absorción en el ultravioleta y con un máximo a 260.

Sobre el contenido y naturaleza de estos compuestos en el líquido perivisceral, no se tienen datos, pero sí otros tejidos. BARRET (1973 a y b), determina en músculo de *Ascaris* el contenido de ATP, ADP, AMP, NAD y NADP. Supone que una composición análoga puede existir en el líquido perivisceral. NOLL y HENMANN (1967) encuentran como principales componentes de la fracción ácido-soluble de los huevos de *Ascaris* los guanidinnucleótidos.

METABOLISMO NITROGENADO.

WEINLAND (1904) concluye, que el amoníaco es el mayor productor de excrección nitrogenado del *Ascaris*. En 1934, Von BRAND,

opinaba que el nitrógeno total excretado es independiente del suministro de oxígeno. La excreción nitrogenada, no está influenciada por ambientes aerobios o anaerobios (SAVEL, 1954), ésto confirma los resultados de Von BRAND.

CAVIER y SAVEL (1954b), obtienen la evidencia de la síntesis de la urea desde amoniaco por via de ciclo citrulina-ornitrina, semejante al de los vertebrados.

SAVEL, señala que los aminoácidos en el *Ascaris* pueden emprender las tres vias principales que son identificadas en los animales más superiores: desaminación oxidativa, transaminación y descarboxilación.

TAMURA (1962) confirma la presencia de FAD, puesta en evidencia ya en 1937 por GONREVITCH, no encontrando en el *Ascaris* actividad d-aminoácido-oxidasas, mientras COSTELLO (1964) encuentra en el huevo no embrionado del *Ascaris* FAD que estimula la actividad d-aminoácido-oxidasa.

Después de la observación del DEL CASTILLO y COL (1964b) sobre la acción hiperpolarizante del ácido γ -aminobutírico sobre las células musculares del *Ascaris lumbricoides*, por aumento de la permeabilidad de la membrana al Cl^- , MONTEOLIVA y COL (1965) han demostrado la presencia de una actividad glutamato descarboxilasa, cuyo producto de reacción, el ácido γ -aminobutírico, está presente en el parásito.

METABOLISMO ENERGÉTICO.-

Existe una estrecha relación entre el consumo de oxígeno y la existencia del sistema citocrómico. KIKUCHI y COL (1959), de muestran en fracción particulada de músculo de *Ascaris*, actividad citocrómica. Esto sugiere la presencia de un sistema de transporte a través del sistema citocrómico.

KMETEC y BUEDING (1961) examinan las características e interacciones del sistema de transporte de electrones que cataliza la oxidación de succinato y DPNH en una fracción particulada del músculo del *Ascaris*. Las condiciones de oxidación del DPNH o del succinato depende de la tensión de oxígeno, Mn, etanol y catalasa. La oxidación de DPNH y succinato en presencia del oxígeno, son mutuamente competitivas. En condiciones anaerobias hay una oxidación reducción entre DPNH y fumarato acopladas. De aquí concluye que el sistema de transporte de electrones contiene al menos dos transportadores acoplados a SDH. Este sistema está acoplado a una DPNH deshidrogenasa y a una flavoproteína común, conteniendo una oxidasa terminal. En este trabajo, niegan la posible significación de un sistema citocrómico.

Este mismo autor, en 1962, indica que la característica estructura de las mitocondrias en las células del *Ascaris* es reflejo de la ausencia de un sistema mitocrómico y además niegan la existencia de cualquier tipo particular de actividad metabólica, que permita al gusano sobrevivir en un medio natural.

OBO y COL (1961) confirman la existencia de un enzima, en el músculo de *Ascaris*, que pasa el succinato a fumarato con DPNH,

como donador.

OYA y COL (1961) con métodos apropiados, indican la existencia de una actividad isocitrato-dehidrasa (NADP, fumarasa, ceto-glutaceto-dehidrasa, maleto-dehidrasa, acoinitasa, enzima condensante, acetil-CoA-quimasa), lo que sugiere la existencia del ciclo de Krebs.

B. IV .- ANTIHELMINTICOS.

La búsqueda y aplicación de antihelmínticos es tan antigua como el conocimiento de esta clase de parasitismo. Los documentos escritos que se conocen como más antiguos ya los mencionan. Pero hasta la época actual no se enfocó la cuestión científicamente partiendo de postulados correctos (GUEVARA POZO, 1971). Fue WILLER WRIGHT (1946) uno de los primeros que insistió sobre la necesidad del estudio de la fisiología de los helmintos, campo ya iniciado por Von BRAND, como punto de partida científico para encontrar los más adecuados modos de ataque terapéuticos.

X Los antihelmínticos se caracterizan por su selectiva toxicidad para el parásito. Esto se basa en unos casos en diferencias bioquímicas y fisiológicas entre el parásito y el hospedador y en otros de la administración oral de un antihelmíntico resulta una concentración elevada para el parásito y poca para el hospedador por el hecho de que la droga no se absorbe (BUEDING, 1969).

X Para considerar un compuesto como antihelmíntico, aparte de su eficacia, hay que considerar que el efecto de este compuesto se ha de desarrollar en el organismo del huésped parasitado; por lo tanto además de una gran eficacia el compuesto debe poseer una mínima toxicidad hacia el huésped parasitado (PETROV y col., 1970).

B. IV .1.- SU EMPLEO EN CULTIVO *in vivo* E *in vitro*. PRINCIPALES ANTIHELMÍNTICOS.

Existen, hoy día, dos métodos de valoración de antihelmínticos: pruebas *in vitro* y pruebas *in vivo*.

La prueba *in vitro*, por la sencillez con que se realiza, que alcanza a los medios existentes en un laboratorio medianamente dotado, sería la ideal si tuviera una exacta correspondencia con la prueba *in vivo*; ya que es un hecho comprobado que la acción antihelmíntica no se ejerce igual *in vivo* que *in vitro*. Pero esto no indica que ambas pruebas se excluyan, sino que se completan y por eso salvo raras excepciones podemos deshechar como antihelmínticos, aquellos compuestos que en las pruebas *in vitro* no hayan dado buenos resultados.

GUEVARA POZO (1971) afirma que los estudios por medio del cultivo *in vitro* desempeñarán un papel muy importante en el control de la actividad antihelmíntica de compuestos ya conocidos y de otros nuevos que pueden aparecer. Una ventaja que le ve el autor, es que no será necesario de modo absoluto alcanzar el máximo nivel de aproximación en los cultivos, bastará conseguir una supervivencia suficientemente prolongada para las experiencias, pero, eso sí, en condiciones óptimas y lo más aproximadamente posible a su natural habitat.

GUEVARA POZO y CABRERIZO PORTERO (1963) indican que de los métodos *in vitro*, aquellos que registran gráficamente los movimientos del animal reactivo antes y después de ser sometidos a la acción del antihelmíntico, son los que parecen más objetivos.

Estas pruebas, de registro gráfico en el campo de los antihelmínticos, las empezó a utilizar por primera vez STRANB (1902). HINZ y SIBERSTEIN (1927) y GRAF y MULLER (1927) usan estas pruebas para el ensayo de antihelmínticos con trozos musculares de sanguijuela. LAMSON y BROWN (1936) sumergen *Ascaris lumbricoides* del cerdo en una solución salina conteniendo la droga a ensayar y determina el tiempo necesario para matar los vermes. Sobre *Ascaridie galli* TARAZONA VILAS (1955) determina la concentración y tiempos de contacto necesarios para meter a los vermes.

La amplia gama de compuestos antihelmínticos que la Farmacoterapia moderna incluye es extraordinaria; los primeros remedios antihelmínticos procedían de las antiguas civilizaciones: China, India, Persia, Egipto, etc., como son flores de couso, rizoma de helecho macho, y aceite de quenopodio.

En el siglo XIX cuando la química se sistematiza, se investigan los principios activos de estos remedios naturales, que son la rottlerina, pelletierina, arecolina y ascaridol y es después de éstos cuando se comienza a estudiar las acciones antihelmínticas de estos principios activos tanto en el laboratorio como en la clínica.

Casi todas las sustancias antihelmínticas que existen tienen la característica común de su insolubilidad en el agua y en las soluciones fisiológicas en sustancias oleosas o emulsionarias, por lo que hay necesidad de suspenderlos o disolverlos. Pero la elección del excipiente es a veces importante para que actúe el fármaco sobre el helminto. STEWARD (1966) y DYBING (1946) demostraron que el tetracloroetileno y la fenotiazina tienen menor efectivi-

dad cuando se dan en soluciones oleosas. Pero por contrario, su actividad aumenta cuando se dan emulsionadas con sustancias ténso activas. STEWARD (1966) vió que en ratas infectadas con *N. muris* el tretacloroetileno aumenta su actividad, e igual la fenotiazina emulsionada en bromuro de cetiltrimetilamonio, señalando que la sinergia entre fármaco-escipiente tienen una relación óptima.

La terapéutica antihelmíntica la forman un grupo heterogéneo de sustancias que actúan por mecanismos diferentes. Las más antiguas fueron los purgantes; que al provocar un peristaltismo intestinal exagerado expulsaban los vermes.

Otras mataban el gusano a fuerza de grandes trastornos secundarios en el huésped.

Según SANCHEZ F. de MURIAS (1959) la terapéutica antihelmíntica ha pasado por tres épocas: una primera época de verdadero empirismo, en que se utilizan todas las sustancias para expulsar el parásito (como ejemplo tenemos el helecho macho y la corteza de raíz de granado). A continuación viene una segunda época en la cual se estudian las acciones de los fármacos sobre los parásitos y su relación con sus hospedadores, y no es hasta 1924 cuando empieza la época científica con los trabajos de SILVIO REBELLO, GOMEZ DA COSTA y TOSCANO RICO (1928, 1933), sobre valoración de los antihelmínticos, y la escuela norteamericana de HALL con el empleo de animales parásitos y comprobación expulsiva de los medicamentos. Y por último, el conocimiento del ciclo evolutivo del parásito he hecho dar un gran paso a la terapéutica antihelmíntica por conocerse la acción farmacológica sobre diversas fases de desarrollo

del verme y poder aplicar el fármaco en aquella que se muestre mas sensible.

PRINCIPALES ANTIHELMÍNTICOS UTILIZADOS.

Entre los primeros antihelmínticos empleados podemos señalar: Fluoruro sódico que ha sido muy utilizado para el tratamiento de *ascariasis* en cerdos y fue confirmada su acción entre otros autores por: PRUBELHOL (1952), TARAZONA VILAS J.M. (1955), DIEZ GOMEZ P. (1970) y HERMOSO y MONTEOLIVA (1970).

La Santonina ha sido estudiada por numerosos autores, entre ellos KROTOV (1958), MIYAGAWA (1961), KOSHIYAMA y col. (1961), y HERMOSO y MONTEOLIVA (1970); estos autores observan que la Santonina produce un efecto inhibitor sobre el metabolismo respiratorio del *Ascaris in vitro*.

GUEVARA POZO (1955) realiza experiencia *in vitro* con latex, del *Ficus carica* sobre ejemplares vivos de *Ascaridia galli*; observa dos acciones: una destructiva disolvente y otra tóxica paralizante. También KROTOV (1961) realizó estudios *in vitro* con *Ascaris* totales y señala que los extractos de semilla de calabaza afectan el movimiento muscular y causan contracciones espamódicas con periodos de depresión. Posteriormente GONZALEZ E. y col. (1974) realizaron experiencias sobre el principio activo de la semillas de calabaza; el principio activo es un aminoácido al que denominan Curcubitina e inhibe el crecimiento del *Schistosoma japonicum*, comprobando que el efecto lo ejerce sobre el músculo liso y que es un efecto irreversible.

Existen otros muchos fármacos que se emplearon y aun hoy día se utilizan contra las helmintiasis; sería desde luego una lista interminable, por lo cual solo nos limitaremos a resaltar los mas modernos y que a su vez son el objeto del presente estudio.

Son múltiples los autores que realizan control de antihelmínticos utilizando el *Ascaris* como material de experiencia, debido a su elevado tamaño y a su fácil manejo.

Los antihelmínticos que se han utilizado para combatir el *Ascaris* son bastantes numerosos, aunque no todos, han dado resultados positivos, a continuación, citaremos algunos de ellos.

KNOWLES y CASIDA (1966) estudian la inhibición por los Organosfosforados, de la colinesterasa del *Ascaris*. Esto fue posteriormente comprobado por DEIRDRE y CZIPRI (1970), estos autores con dosis de 35 y 50 mgr./kg., obtuvieron resultados altamente satisfactorios; entre los compuestos Organofosforados estudiados por su eficacia contra el *Ascaris* merecen resaltar: Diclorvos (0-0-dimetil-2,2-diclorovinil-fosfato) y el Haloxon (0-0-di-(2-cloroetil) fosfato).

Se ha demostrado que la acetil-colina juega un papel fisiológico en el sistema neuromuscular del *Ascaris*; según del CASTILLO, de MELLOY MORALES (1963) la acetil-colina despolariza la membrana que bloquea la región sincintial de la célula muscular; aunque HERMOSO y MONTEOLIVA (1970) no observan ninguna acción estimulante de la contracción muscular, estos autores lo achacan a que hubiera una hidrólisis previa a su absorción.

KROTOV (1961) estudiando el efecto antihelmíntico de la

dietil-carbamizina frente a *Ascaris* totales *in vitro* señala que este antihelmíntico afecta al movimiento muscular y causa contracciones espasmódicas con periodos de depresión; HERMOSO y MONTEOLIVA, en 1970, comprueban el efecto inhibitor de la actividad muscular, pero ésta no llega a ser cero ni aún a dosis de 500 mgr.

NASILOWSKA (1963) encontró que el Vapam es efectivo sobre los huevos de *Ascaris* y sobre *Ascaris* entero *in vitro*. Este autor observa que la eficacia está en proporción a la concentración del antihelmíntico y así observa que la concentración de 4% mata los huevos en 24 horas. A concentraciones de 2%, 1% y 0,5% mata en 48 horas y a 0,1% y 0,05% en 72 horas.

Otros compuestos, como el ácido β -hidroxinagtoico, a concentraciones de $1 \cdot 10^{-3}$ y $5 \cdot 10^{-3}$ M inhiben reacciones de oxidación del ciclo de Krebs (oxidación de malata, α -kG y succinato) y las reacciones de transaminación del *Ascaris*. Estas reacciones tienen lugar cuando la droga es adicionada a homogenados de tejidos o mitocondrias aisladas (*in vitro*) y a un medio de cultivo de parásitos (*in vivo*) (BENEDICTOK y SALMENKOVA, 1964); ellos ven que este ácido inhibe los procesos de oxidación en mitocondrias y reacciones de transaminación cuando es adicionado *in vitro*.

En el estudio realizado por PUSHKAREV (1966) sobre el efecto del Naftamon (alco-par) y sus derivados sobre el consumo de la glucosa y la producción de ácidos grasos volátiles en el *Ascaris*, encuentran que la droga en el medio de cultivo a concentraciones de $2-5 \times 10^{-3}$ M, inhiben la síntesis de los ácidos grasos y cambian la composición de los excretados. También inhiben el consumo de glucosa.

Según CAVIER (1967) la piperazina reúne las cualidades de todo buen antihelmíntico y se ha comprobado ampliamente que es muy eficaz contra la *ascariasis* (HERMOSO y MONTEOLIVA, 1970).

Ejerce su acción tanto *in vivo* (CANESE y col., 1971; TROPIN, 1975), como *in vitro* (KROTOV y col., 1969; NATARUJAN, YECH y ZAMAN, 1973; GRZYWACZ, 1973). Son múltiples las teorías expuestas para explicar la acción de la Piperazina; producen en los *Ascaris* parálisis, pero no producen la muerte de los vermes (OSTEUX, GERRIN y LESIERR-DEMARQUILLY, 1971; MASON y STURMAN, 1972).

El tiobendazol, después de numerosos ensayos, se ha encontrado que posee un amplio espectro antihelmíntico, éste tiene una gran acción contra el *Ascaris*; este producto posee una gran ventaja sobre la fenotiazina de actuar sobre las formas larvarias (THOMAS J. y col., 1969).

EGERTON (1961) trató, cerdos infestados con *Ascaris*, con tiobendazol y la concentración de 0,1 a 0,4% y observa que la expulsión de *Ascaris* adultos fue precedida de una caída en la puesta de huevos. También impide, el tiobendazol, el embrionamiento de los huevos *in vitro*.

También ha sido ensayado en enfermos infestados con *Ascaris*, HERRERO ALONSO, (1969) las dosis empleadas fueron de 50 mgr./k. y por día, durante 3 días consecutivos; nunca pasó la dosis de 3,5 gr. ARQUIMEDES CANESE y col., (1971) dicen que en la inmensa mayoría de hospitales, en el control antihelmíntico, no se realiza ninguna estimación cuantitativa del grado de parasitismo antes y después del tratamiento, es por lo que ellos lo creen conveniente

y siguen este criterio, ensayan con dos antihelmínticos hexahidrato de piperazina y tiobendazol y encuentran, que este último, a dosis relativamente pequeñas se alcanza un 100% de eliminación.

GAUR y DEO (1970) estudian la eficacia del tiobendazol, tanto *in vivo* como *in vitro* lo realizan infectando experimentalmente a cerdos con *Ascaris* e *in vitro* lo hacen poniendo el parásito en una solución de la droga con agua, observan que es muy efectivo contra las larvas y adultos de *Ascaris* en disoluciones de 1:1000 y 1:12000; estos mismos autores comparan la efectividad de este antihelmíntico frente a otros dos, verban y neguvon, concluyen diciendo que *in vitro* el tiobendazol es mejor antihelmíntico que los otros dos.

El pamoato de pirantel, es una de las sustancias que últimamente, se han ensayado por sus cualidades antihelmínticas y se ha observado que es sumamente eficaz contra *Ascaris*, ésto ha sido comprobado ampliamente por numerosos autores en los últimos años; DESOWITZ y col (1970) lo ensayan con niños infestados con *Ascaris*, le suministran una sola dosis de 5 mgr. de antihelmíntico, encuentran una eficacia del 97% y no encuentran efectos secundarios en los pacientes. Esta opinión es compartida por otros autores: AMATTO NETO, LEVI y CAMPOS (1970), éstos emplean dosis desde 3,125 a 75 mgr./kg. y siempre en administración única. HOWES (1971) emplea dosis de 1,25 mgr./kg. y además afirma que es unas 15 a 20 veces más potentes que algunas sales de piperazina.

GOODWIN (1975) obtiene resultados similares a los encontrados por AUBRY COWELL, DAVEY y SHERDE (1970), al realizar experiencias *in vitro* con el pirantel con *Ascaris* como material de

experimentación. Pone los *Ascaris* en un baño Tyrode y le suministra dosis de 20-100 mgr. de antihelmíntico por litro de medio, el gusano cesó en sus movimientos rítmicos. Las dosis de 10 mgr./litro produjeron pocas alteraciones del ritmo, pero el parásito siempre estaba muerto a las 24 horas.

El pamoato de pirvinio, es uno de los antihelmínticos clásicos pero frente a *Ascaris lumbricoides* no se ha encontrado una gran eficacia, salvo que se utilicen dosis muy elevadas (HERMOSO y MONTEOLIVA, 1970); aunque por el contrario es sumamente eficaz frente a *Oxyurus*.

El tetramisol, también conocido como R-8299, se vió que era eficaz para el tratamiento de la *Ascariasis*, NACIMIENTO y col. (1966) empleando dosis desde 60 a 120 mgr. y en dosis única e independiente del peso. Igual opinión es compartida por OTERO DOMINGUEZ y ARGUDIN (1967), estos autores apuntan que los efectos colaterales son perfectamente tolerables.

La forma de acción fue estudiada por CHERNYAERA, KUZNETSOVA, MANENKOVA, BENEDIKTOV y KROTOV (1971) y ven que producen en el *Ascaris*, *in vitro* e *in vivo*, contracciones del cuerpo y debilita la actividad motora a dosis de 2,5 a 60 mgr./kgr.; observan que bajo condiciones aerobias el *Ascaris* es mas resistente al tetramisol.

Han sido numerosos los trabajos publicados que tratan de estudios comparativos de la eficacia del tetramisol y otros antihelmínticos, merece resaltarse los realizados por SEFTEL y HEINZ (1968) que comparan a la piperazina con el tetramisol, observan que es más eficaz que la piperazina, en dosis de 2,5 y 5 mgr./kgr.

ACEVES, ERLIJ y MARTINEZ-MARAÑON (1970) puntualizan que a dosis de 100 micro mgr./ml. se paraliza la vida del *Ascaris* en tres minutos; comparten la opinión de que es más potente que la piperazina. De igual manera opina HOWES (1971).

Otro antihelmíntico muy utilizado en la terapéutica de la *Ascariasis* es el levamisol, éste lo ensayó SCHMIED y RUIZ (1972) bajo tres dosis diferentes de 2,5 mgr./kgs. y 5 y 7 en cerdos con *Ascaris*, no encontrando síntomas de intolerancia.

Su efecto *in vitro* fue ensayado por GOODWIN (1975) a dosis mínimas de levamisol de 1 mgr./litro se observó que a menudo desencadenaron estímulos de la actividad del parásito pero no siempre los mata. Las dosis de 5 mgr./litro produjeron intensas contracciones, seguidas por tipos anormales de actividad. La muerte se produjo habitualmente a las 24 horas.

Quizá uno de los últimos antihelmínticos ensayados en la lucha contra la *Ascariasis* sea el mebendazole; éste fue estudiado por Van den BOSSCHE y NOLLIN (1974) en ratas infestadas con *Ascaris* y vieron que inhibe la absorción y/o el transporte en glucosa por el verme. No observaron que éste tuviera efecto en la absorción, transporte y utilización de la glucosa en las ratas.

BORGERS y cols. (1975), opinan que el primer sitio donde ejerce acción el mebendazol, parece ser que es en los órganos involucrados en los mecanismos secretores de las células intestinales del verme. Y afirma que el antihelmíntico no actúa sobre las células de los hospedadores, proque existe una diferencia morfológica y química entre la composición de los microtúbulos del parásito y del hospedador.

B. IV .2.- MÉTODOS DE VALORACION DE ANTIHELMÍNTICOS.

Es de interés recalcar que la fase adulta (del verme) o aquella en que se encuentran en el organismo es la más interesante a estudiar; pero desde el punto de vista de la profilaxis, la acción de los fármacos sobre las otras fases de desarrollo es de gran valor, y más aún teniendo en cuenta que en ciertas enfermedades parasitarias el control de las formas infectantes puede ser mucho más fácil y eficaz que el tratamiento de las formas parasitarias.

Si se quiere ver la actividad de una sustancia como antihelmíntica creemos que se debe comenzar por las pruebas de registros gráficos, como aconsejan GUEVARA y CABRERIZO (1963) en un estudio que realizaron sobre *Ascaris galli*, los cuales encuentran que estas pruebas son de gran objetividad y al mismo tiempo nos explican las acciones de las drogas y la farmacodinamia del verme (NOSKEY y HARWOOD, 1941), siguiendo después por la acción que muestran estos fármacos *in vitro*, sobre las distintas fases de desarrollo del verme en medios nutricios o en cultivos, terminando por las pruebas de infestación experimental, si son posibles, y en la confirmación clínica; esta opinión es asimismo compartida por MORAL RAMA (1967) en un estudio de técnicas para control sistemático de antihelmínticos.

Sobre la mayor o menor eficacia de los métodos (*in vivo* o *in vitro*) para la valoración antihelmíntica, parece que existe la opinión generalizada que lo ideal sería la valoración del antihelmíntico con ambos métodos; ya que en sí ambas se complementan.

Esta opinión es compartida por la mayoría de los autores consultados, KNOWLES y CASIDA (1966) estudian la acción de los antihelmínticos organofosforados en *Ascaris*, mediante valoraciones *in vitro* e *in vivo*. CASTEL y GRAS (1963); SANZ SANCHEZ, MATAMOROS y JURADO (1964); CARRIER y NOTTEGHEM (1968); GAUR y DEO (1970); éstos últimos autores realizan experiencias de tres antihelmínticos y su valoración la hacen *in vitro* e *in vivo*.

Vamos a clasificar los métodos de valoración en:

a) Métodos *in vitro*.

b) Métodos *in vivo*.

B. IV .2.1.- MÉTODOS *in vitro*.

Estas pruebas tienen las ventajas, como antes mencionamos, de que nos permiten determinar la actividad y el mecanismo de acción, del antihelmíntico, sobre el verme, bien sobre la fase adulta o sobre alguno de los eslabones de su ciclo biológico.

Las pruebas *in vitro* más comunmente realizadas las podemos agrupar en los siguientes apartados:

a) Valoración sobre vermes patógenos.

b) Valoración sobre cultivos de vermes.

c) Valoración sobre cultivo de huevos.

A.- VALORACIÓN SOBRE VERMES PATÓGENOS.

Dentro de este apartado vamos a considerar dos procedimientos a seguir:

a₁) Tiempo de supervivencia de vermes patógenos.

a₂) Registro gráfico.

Hay que resaltar, a pesar de que una gran cantidad de autores opinan que estos dos procedimientos son los más idóneos, que no por ello siempre se sacan conclusiones, y ésto se explica por el modo de obrar de las sustancias, pues hay antihelmínticos tan potentes, como el violeta delgenciana, de acción escasa y la fenotiacina, de acción nula que, en cambio, en la clínica resultan muy valiosas (SANZ SANCHEZ, 1949).

a₁) Tiempo de supervivencia de vermes patógenos:

La valoración del tiempo de supervivencia de vermes en un medio nutricio al que se han agregado los antihelmínticos se ha venido utilizando desde hace mucho tiempo, OELKERS y RATLIGE (1941) dejando en el medio al verme hasta que se muere.

Posteriormente se ha utilizado un proceder más racional, que consiste esencialmente en poner los vermes en líquido nutricio con una concentración determinada de antihelmíntico y hacerlos permancecer tiempos variables (ordinariamente no más de cinco horas) y al final de este tiempo son lavados con líquido nutricio varias veces y se vuelven a dejar en la estufa otra vez hasta el día siguiente.

Todas las operaciones, generalmente, se hacen a 37°; y los vermes que se utilizan son frescos y de este modo podemos saber cuando el verme muere.

TARAZONA VILAS (1955), estudia la acción *in vitro* del FNa sobre *Ascaridia galli* y lo ensaya empleando soluciones al 1%, 2%, 5% y 10%; y tiempos de contactos de 5, 15, 30 y 50 minutos. SANTOS de CAMPOS y col. (1959), trabajando con *Ascaridia galli*, hacen ensayos en soluciones fisiológicas a 37°C. Después colocan los vermes adultos en frascos con la solución de la droga (1 gr.) en ClNa al 0,9% y los mantienen a 37°C. Después de una permanencia del verme con la droga, desde 1 a 60 minutos, se retiran los vermes, se lavan y se colocan en frascos con ClNa 0,9% y lo dejan durante 20 horas, para ver si hay recuperación.

Sería interterminalbe la lista de autores que han utilizado este método. CASTEL y GRAS (1963); SANZ SANCHEZ, MATAMOROS y JURADO (1964) y CORBA (1969), entre otros.

a₂) Registros gráficos con vermes:

Este método se puede aplicar lo mismo para vermes enteros como para trozos o tejidos aislados del verme.

Fueron REBELLO y TOSCANO (1926) los que propusieron el registro gráfico sistemático en vermes patógenos, para estudios de antihelmínticos; estos autores utilizaron un trozo de verme o un anillo en las tenias, y dos años después utilizan el verme entero, usando como líquido nutricio el Rhode-Saito, a una temperatura de 38°.

La forma como se realiza la prueba es facil, en un recipiente conteniendo el medio nutricio se adiciona el antihelmíntico y en el se introduce el verme entero o el órgano que se esté estudiando, atados a un registro gráfico y se observan los movimientos del verme.

KERR y CARRETT (1952) estudian el efecto de la nicotina sobre *Ascaridia galli*; utilizan un aparato que consiste en un baño de agua controlado termostáticamente conteniendo un vaso de vidrio de 80 ml. de capacidad. El vaso puede ser drenado a través del baño. El fondo del vaso tiene una varilla de vidrio curvada en forma de aro. Los vermes se sujetan a otra varilla de vidrio que es metida por el aro sobre el fondo del vaso. El otro extremo es asegurado con un hilo a una palanca registradora de peso ligero. El quismógrafo se mueve a razón de 20 mov./min.

GOODWIN y VAGHEN WILLINS (1963) lo hacen con tiras musculares de *Ascaris lumbricoides*, y estudian los efectos de la piperación, la cual observan tiene un efecto paralizador. Anteriormente BALDWIN (1943, 1947, 1948) usó una técnica muy similar que consistía en una preparación neuromuscular de la porción anterior de *Ascaris*.

GONZALEZ y COL (1974) en el trabajo sobre el estudio farmacológica de las semillas de curcubita max. DUCH y de su principio activo la curcubitina; vieron que este principio activo tenia un efecto inhibitor sobre el crecimiento de *Schistosona japonicum*. Para ello colocan el verme en un baño con 50 ml. de Prosser y Zimmerman, a 18°C; estos autores atan el extremo anterior del verme al soporte de vidrio y el inferior a la aguja registradora del

B.- VALORACIÓN SOBRE CULTIVO DE VERMES.

El cultivo de vermes en estado adulto o infectante, no está aún completamente terminado; la supervivencia, crecimiento y reproducción de los helmintos en medios artificiales está condicionada a proporcionarles unas condiciones ambientales óptimas, ionicidad, presión osmótica, gases, pH, etc. y por otro lado, a un conocimiento perfecto del metabolismo y nutrición del parásito.

Aquí vamos a considerar tres tipos distintos de procedimientos:

- b₁) Tiempo de supervivencia del verme.
 - b₂) Registros gráficos de movilidad del verme.
 - b₃) Pruebas bioquímicas o metabólicas.
-
- b₁) Tiempo de supervivencia del verme.

La prueba consiste en que sobre el cultivo o supervivencia del verme se le adiciona el antihelmíntico y se calcula la dosis que se necesita para matarlo; esta prueba se puede hacer con fases adultas y con larvas infestantes.

DANMAS y GRETILLAT (1958), en el tratamiento de la *gastrothylose bovina*, hacen ensayos *in vitro* sobre trozos de rumen puestos en Cajas Petri y bañados con una solución de agente antihelmíntico. Los recipientes se colocan a 37° y el resultado se da en nú-

mero de parásitos muertos que se observan.

BENESE y LAMY (1967) ensayan la actividad de diversas sustancias sobre *Dicrocoelium lanceolatum* cultivados *in vitro*; CAVIER y NOTTEGHEM (1968) determinan la concentración mínima letal en 24 horas para individuos adultos, en cultivo, de *Himenolepis nana*, a continuación, toman los vermes y los lavan y los colocan en cristalizador con 5 ml. de líquido fisiológico.

GRUMBERG y CLEELAND (1967) lo hacen con larvas infestantes de *Ascaris lumbricoides var. summ*; los antihelmínticos que ensayan son la piperacina, thiabendazol y Ro-2-9009. Anteriormente, LEBDUSKA y SIMUNED (1960) y NASILOWSKAY (1963), estudian la acción de compuestos fluorados del vapam sobre huevos de *Ascaris*.

b₂) Registros gráficos de movilidad del verme.

GUEVARA POZO (1963) propone que el verme empleado para los registros graficos sistemáticos, sea el *Ascaridia galli*, por su tamaño ideal y su fácil adquisición. Este mismo autor manifiesta que de los métodos *in vitro*, aquellos que registran los movimientos del animal reactivo antes y después de la adición de los antihelmínticos, son los que parecen más objetivos.

En 1953, del CASTILLO, MORALES y SANCHEZ, observaron que si a la solución salina donde cultivaban al *Ascaris* adicionaban nitrato de pipenezina, la amplitud de los potenciales en espiga espontáneos decrecían. Aprecian que este efecto es reversible cuando los vermes son lavados con solución salina sin antihelmínticos.

GOODWIN y VANGNEM WILLIANS (1963) usan preparaciones con los 4 cm. anteriores de *Ascaris*, registran sus movimientos y observan la parálisis producida por piperacina.

El mismo GOODWIN, en 1975, realiza experiencias de anti-helmínticos con *Ascaris*. En esta ocasión emplea el verme entero; los coloca dentro de medias finas de nylon y los suspende en una solución de Tyrode y sus movimientos son registrados sobre un tambor giratorio.

KROTOV (1965) realiza un método para estudiar por separado el movimiento de la parte anterior y posterior del verme entero cuando la cabeza es excitada y a continuación ensaya una serie de anti-helmínticos y realiza su valoración.

También HERMOSO y MONTEOLIVA (1970) estudian la acción de una serie de anti-helmínticos sobre los registros gráficos de la movilidad del verme, el tiempo que transcurre hasta producirse una inhibición y si en algunos casos hay recuperación.

NATURAJAN, YEOH, ZAMAN (1973) estudian la capacidad de seis compuestos piperacínicos en proporcionar una acción sobre la acetilcolinesterasa en preparaciones neuromusculares de *Ascaris*.

b₃) Pruebas bioquímicas o metabólicas.

Las pruebas bioquímicas se realizan con homogenados de tejidos, enzimas aislados, etc.

Los estudios del modo de acción de las drogas antihelmínticas han demostrado que su efecto quimioterápico pueden ser considerado en unos casos por depresión de la actividad muscular y en otros por inhibición de mecanismos bioquímicos que suministran la energía requerida para la integridad funcional del parásito (HERMOSO y MONTEOLIVA, 1970). Los antihelmínticos, como tres agentes quimioterápicos, se caracterizan por su selectiva toxicidad para el parásito. Esto se basa, en unos casos, en diferencias bioquímicas y fisiológicas entre el parásito y el hospedador y, en otros, en que la administración oral de un antihelmíntico origina una concentración elevada para el parásito y poco para el hospedador, por el hecho de que la droga se absorbe (BUEDING, 1969).

KROTOV y SHEMELEVA (1962) ven que la actividad catalásica del *Ascaris*, *in vitro*, es inhibida por el azul de metileno; pero cuando se adiciona directamente a la hemolinfa u homogenado muscular, el azul de metileno no tiene efecto, lo que indica que los tejidos asilados no responden igual que el verme entero. El azul de metileno, según los autores, estimula la respiración aerobia.

BENEDICTOK y SALMEKOVA (1964) encuentran que el antihelmíntico hidroxinaftoato de bifenio inhibe reacciones de trasaminación en *Ascaris*; esta inhibición la observan cuando adicionan la droga a homogenados de tejidos o mitrocondias aisladas (*in vitro*).

KNOWLES y CASIDA (1966) estudian el modo de acción de los antihelmínticos organosfosforeados. Lo hacen con homogenado, en tampón bicarbonato.

GRZYWACZ (1973) determina el modo de penetración de la piperacina en el *Ascaris*, colocando el verme en soluciones de piperacina, marcada con C^{14} ; usaron vermes intactos y otros con la boca ligada. Consecuentemente, se determina la cantidad de marcado que habia en intestino, órganos genitales y en el tejido interno-muscular. Y vieron que la absorción de piperacina es por vía digestiva pero el transporte a través de la cutícula es también importante.

C.- VALORACIÓN SOBRE EL CULTIVO DE HUEVOS.

Esta valoración se realiza sobre cultivos de huevos que embrionan y sobre huevos que originan en los cultivos larvas con fase infectante.

La eficacia de los antihelmínticos es expresada como la concentración necesaria para suprimir la evolución del huevo a estado infestivo cuando son usados cultivos, o por el poder larvívica. La realización de esta prueba tiene gran interés profiláctico. La acción sobre cultivo de huevos de un determinado producto también se puede hacer con huevos procedentes de animales tratados NYBERG (1966).

LEVINE y COL (1964) utilizan este método en cultivos de *Strongyloides de caballo*. La larva se inocula al medio de cultivo y se incuba a $27^{\circ}C$ y luego se le adiciona el antihelmíntico.

NASTIŁOWSKA (1963) describe la acción del vapam a varias

concentraciones, sobre huevos de *Ascaris in vitro* y determina la dosis que hace inviables a los huevos en 24 horas.

B. IV .2.2.- *In vivo*.

La valoración *in vivo* se realiza sobre animales que están parasitados o que se infectan experimentalmente. En realidad son bastante más laboriosas que las pruebas *in vitro*, pero suele conducirnos a una apreciación más exacta del valor del antihelmíntico; ordinariamente el modo de proceder es hacer primero la infección de animales de laboratorio y después la comprobación clínica.

El estudio de la marcha podemos hacerla por métodos diversos (SANCHEZ F. de MURIAS, 1959).

a) Recuentos de huevos en las heces.

b) Recuentos de parásitos expulsados y de los que han permanecido en el organismo infectado.

c) Recuento de huevos y parásitos.

El recuento de huevos en las heces es una prueba muy exacta y bastante específica, teniendo en cuenta únicamente que existen antihelmínticos que inhiben temporalmente sin lograr expulsar el parásito.

a) Recuento de huevos en las heces.

Esta prueba, nos da una idea de la actividad del parásito y hasta cierto punto de su desaparición. Para valorarlo bien, según SANZ SANCHEZ (1949), hay que tener en cuenta que la puesta de huevos por los helmintos a veces no se hace de una manera regular, habiendo verdaderas descargas y lapsos sin puesta. Por ello el recuento se debe hacer en un amplio periodo de tiempo.

Para su realización se toma como número inicial de huevos, la media de tres recuentos hechos en la semana anterior al tratamiento, y como cifra final, la media de seis recuentos realizados durante la tercera y cuarta semana después del tratamiento; y la eficacia del antihelmíntico se da en tanto por ciento de huevos eliminados, comparando los finales con los iniciales, así como su relación con los controles.

Como es lógico las pruebas deben hacerse con el mayor número posible de animales, para que los resultados sean mas ciertos y pueda aplicarse el cálculo estadístico.

Las técnicas que se siguen son muy variadas, sobre todo ha de tenerse en cuenta una serie de premisas: tipos de huevos que se quiere observar; que las heces han de ser recientes, para no alterar los resultados producidos por la desecación, etc.

Se suele seguir la técnica de Teleman o bien la de Fulleborn, Graham, etc.

WANG CHENG-I y COL (1964) estudian el efecto del hidroxinaftato de gefemio en el tratamiento de 225 casos de infecciones de vermes intestinales. Observan un notable reducción de huevos.

CARLIER y WRITRY (1965), hacen un estudio comparativo de la eficiencia del pamoato de pirvinio en niños; usan como criterio de eficiencia la ausencia o presencia de los huevos de Euterobios el séptimo día después de la administración del medicamento.

En el año 1966, CASTRO y BACH, valoraron la acción antihelmíntica del tiabendazol y de la fenotiacina; observaron que el tiabendazol junto con la fenotiazina tardaba más en acusar huevos de nematodos en la materia fecal. COX y COL (1969) estudian la eficacia de conmaphos en la reducción de la cantidad de huevos de nematodos.

THIENPONT y COL (1969) estudian el efecto del tetramisol y valoran su acción por exámen microscópico, empleando el método de Grahan. Igualmente realizaron valoraciones con pamoato de pyrantel (DESOWITZ y COL, 1970), con hexahidrato de piperazina (CANESE y COL, 1971) y con levamisón (BILLANDOTS y COL, 1975).

b) Recuento de parásitos expulsados y de los que han permanecido en el organismos infectado.

Este sistema de determinar la actividad antihelmíntica de un fármaco, se hace en animales domésticos natural o experimentalmente infestados, y es más real que el anterior; consiste en la comparación de los vermes expulsados durante los dos-tres días siguientes al tratamiento y los hallados en la necropsia.

MAURICE HALL (1926) recogía los vermes que son expulsados en los tres días siguientes al tratamiento, después se sacrifica

el animal y recuentan los parásitos adultos que existen. Este método es muy usado por los autores, entre ellos CAVIER y col., (1967), estudian la acción de los derivados del benzoxazol en ratones infestados experimentalmente con Nematodos. GIBSON y PARFITT (1968), estudiaron el efecto del haloxan, elimina 37,4% de vermes a los 2 días, 10,9% a los 7 días y el 67,5% de vermes a los 14 días, en corderos infestados experimentalmente con *O. circumcincta*.

GIBSON, EVERRETT y PARFITT (1968) infestan corderos con *N. battus* y los trata con tetramisol; dividen a los animales en cuatro lotes; un grupo fue tratado con el fármaco a los 3 días; el segundo a los 10 días; el tercero a los 14 días y el cuarto a los 21 días después de la infestación. También pusieron un quinto grupo que era el control; todos fueron matados a los 25 días y contados los vermes.

TURTON (1969) infestó 46 vacas con *D. viviparrus*, *O. ostertagia* y *C. oncophora*. A los 31 días mata 15 vacas y obtiene los vermes pulmonares. Ese mismo día 15 vacas fueron tratadas con levamisol y a los 3 ó 4 días mata a los animales tratados y valora la eficacia del levamisol. Igualmente hace CAMPOS (1971) sobre aves parasitadas y tratadas con tetramisol. TROPIN (1975) trata a cerdos infestados con *Ascaris*, con siliofluoruro de piperazina.

c) Recuento de huevos y parásitos.

Es un método bastante completo, aunque presenta una serie

de inconvenientes, pero es de un gran sensibilidad. TAPPS y col. (1968) valoran la acción antihelmíntica del tetramisol en cerdos infestados experimentalmente con *Oesophagostomum* maduros y adultos, la eficacia fue estimada por recuento de huevos en heces y número de vermes en el intestino grueso después de la muerte a los 55 días de la infestación.

CHANG y WECOTT (1969) infestan 90 cerdos y los tratan con parabendazol mezclado con el alimento. La eficacia antihelmíntica fue valorada por examen de muestras fecales recogidas antes y después del tratamiento y cantidad de vermes adultos recogidos en la necropsia cuando el cerdo es matado.

Con igual método valoran, CERVONI y col. (1971), la acción del pamoato de pyrantel; SCHUNED y RUIZ (1972) lo hicieron con levamisol; SCHENONE y col. (1975) valoran la acción de la asociación de mebendazol y tiabendazol del mismo modo anteriormente descrito.

B.VI .3.- B.- MECANISMOS BIOQUÍMICOS O FISIOLÓGICOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIHELMÍNTICOS.

Muchos agentes antibacterianos interfieren en la reacciones de biosíntesis y de esta manera inhiben el crecimiento y multiplicación bacteriana (BUEDING, 1969). Por el contrario las formas patológicas de helmínticos más susceptibles de tratamiento son las adultas, impidiendo el desarrollo de las etapas del ciclo parasitario. Los parásitos son vulnerables, por los antihelmínticos, bien por interferencias con mecanismos esenciales para su

actividad motora o bien con reacciones que proooven generación de energía metabólica. Estudios del modod de acción de los anti-helmínticos han mostrado que sus efectos quimioterapéuticos pueden ser realmente considerados en algunos casos por una depresión de la actividad muscular y en otros por inhibición de mecanismos bioquímicos que suministran la energía requerida para la actividad funcional del parásito (BUEDING, 1969).

Son varios los autores que han intentado clasificar a los antihelmínticos según su mecanismo de acción, entre ellos resaltamos:

LAMSON y WARD (1936) dicen que los antihelmínticos se pueden clasificar en cinco grupos:

- a) Los que paralizan o narcotizan los vermes temporalmente.
- b) Los que producen narcosis o parálisis seguida de muerte.
- c) Los que producen lesión de la cutícula.
- d) Los que producen digestión del verme.
- e) Los que son por otras causas.

En estos últimos podemos meter a fluoruros, fenotiacina. que obran como inhibidores fermentativos.

KROTOV (197) los clasificaba:

I Venenos protoplasmáticos:

- a) Con acción narcótica: Cl_4C , tetracloetano, hexacloropara_uciteno, bromonaftotimol, yodotimol.
- b) Acción *corrosiva*: heptiresocinol y hexitresorcinol.
- c) Otro tipo: aceite de quenopodio.

II Agentes de bloqueo neuromuscular:

- a) Acción colinominetica: santonina, ditrazina, arecolina, carbocolina y nicotina.
- b) Acción anticolinesterasa: clorados, haloxon, commefos,

troleno, rueleno, emitina.

c) Acción colinolítica o adrenergica: piperacinas.

III Otras drogas:

a) Que paralizan el sistema neuromuscular y destruyen la cutícula: diamentina, diclorofen, triclorofen, hexaclorofen, fenarol y binionol.

IV Antimetabólico:

a) Estimuladores de la respiración anaerobia: azul metileno.

b) Inhibidores glucolisis: ambilar, tetramisol, sulfato de cobre, metiomina cúprica.

c) Enzimas-inhibidoras: anidin, aminoácidin, cloroquina, fenotiazina, osarsol, naftamon, triabendazol.

d) Inhibidores respiración anaerobia y absorción de carbohidratos: colorante ciamina.

V. Enzimas proteolíticas: papaina.

VI. Acción desconocida: difezil, monopar, metiridina, etc.

En 1971, GIBSON, clasifica a los antihelmínticos, por la forma de acción:

a) Que producen dislocación *in vivo* de los parásitos: tetracloroetileno.

b) Efectos paralizantes: santonina, piperazina meteridina y tetramisol.

c) Acción sobre metabolismo carbohidrato: cinine, derivados ditiiazina.

d) Inhibición de la colinesterasa: organosfosforados (hexoxon = menos tóxico para los mamíferos).

Nosotros estudiamos los mecanismos de acción, de una serie de antihelmínticos, siguiendo los criterios:

- a) Efectos tóxicos nerviosos.
- b) Inhibición muscular.
- c) Inhibición respiratoria.
- d) Inhibición enzimática.
- e) Inhibición en la absorción C.H.
- f) Inhibición de la glucólisis.
- g) Inhibición en la puesta de huevos.

a) Efecto tóxico nervioso.

GOODWIN y VANGHAN WILLIAMS (1963) realizaron un estudio sobre el efecto de la piperazina en el *Ascaris lumbricoides* y observaron que producía un bloque nervioso o neuromuscular. TASKOV (1968) realiza un estudio con una serie de derivados de la piperazina y observa que produce un efecto hipotensivo actuando directamente sobre el S.N.C.

Este efecto hipotensivo es de corta duración y presenta manifestaciones tóxicas. Dice que también producen un efecto de inhibición de la estructura colinérgica de los nervios espléncicos. PETIAGARA y DELIWALA (1969) observan también la actividad depresiva que produce la piperazina sobre el sistema nervioso central. Estos mismos efectos fueron estudiados por OSTELLX y COL (1973).

b) Inhibición muscular.

OSTEUX y COL (1973) vieron que el efecto de la piperazina no era sólo nervioso sino que, la acción se manifiesta, ya directamente a nivel de las células musculares y de las terminaciones nerviosas e indirectamente a nivel de las células ganglionares y de fibras nerviosas que están situadas en la hipodermis. Esta acción la explica el autor por la forma de penetración y localización de la piperazina sobre el *Ascaris in vivo* por autorradiografía con la piperazina marcada con C¹⁴. Observan los autores que la piperazina penetra por la cutícula y se fija sobre ella y sobre la base de las células musculares. Como anteriormente señalamos, GRZYWACZ (1973), confirma los estudios de OSTEUX; este autor realiza experiencias introduciendo al *Ascaris* en soluciones de piperazina, marcada con C¹⁴; él introducía vermes intactos y otros con la boca ligada. Consecuentemente, se determinó la cantidad de marcados que había en intestino, órganos genitales y tejido cutáneo muscular. De aquí concluye el autor, que la absorción del antihelmíntico es por ruta digestiva pero también se hace a través de la cutícula, ya que encontró en los vermes con la boca ligada, C¹⁴.

BUEDING (1969) dice que la parálisis de *Ascaris* producida por piperazina puede ser debida a un bloqueo neuromuscular o a una hiperpolarización del músculo. Estos efectos están limitados al músculo del parásito porque la piperazina no produce bloqueo mioneuronal ni acción hiperpolarizadora sobre músculos de mamíferos. La parálisis de músculo de *Ascaris* está asociada con una reducción marcada en la producción de succinato. La parálisis de músculo de *Ascaris* baja el requerimiento energético del tejido, parece que la

formación de succinato está relacionada con el abastacimiento de energía metabólica para la concentración muscular. Esto mismo es confirmado por KROTOV y COL (1969).

Otro de los antihelmínticos que produce inhibición muscular es el tetramisol; a bajas concentraciones (*in vitro*) ejerce una rápida acción de parálisis en los nematodos, la cual persiste durante varias horas (SEFTEL y HEINZ, 1968). Esto mismo lo confirmó CHERNYAERE y col. (1971) especificando que bajo condiciones aerobias el *Ascaris* es más resistente al tetramisol.

ACERES, ERLIJ y MARTINEZ-MARAÑON (1970) observan que el tetramisol es más potente que la piperazina ya que a dosis de 100 mg./ml. paraliza la vida del *Ascaris* en tres minutos. Dice que la droga causa contracción del músculo aislado, previa despolarización con altas concentraciones de K^+ ; sugiriendo que ésta induce una concentración que es inmediata de la despolarización de la membrana.

El pirantel y sus sales tienen una acción similar a la de la piperazina. AUBRY, COWELL, DAVEY y SHEDE (1970) ven que el pirantel bloquea, en el *Ascaris*, la contracción provocada por estimulación transmural y causa una marcada contracción del verme. En contra de la piperazina que causa una reducción gradual en las respuestas a estimulación transmural y ninguna contracción.

El pirantel causa despolarización e incrementa la frecuencia de las espigas en células musculares individuales de *Ascaris* éstos cambios están acompañados por un incremento en la tensión.

Son múltiples los antihelmínticos cuya acción es una inhibición muscular: litropina y benzohexoiun estudiado por KROTOV (1965); nicotina por KERRY CARETT (1952); Del CASTILLO, MELLO y MORALES (1963) estudian la acetil-colina y la neostigmina. En (1971) NATOFF en tiras musculares ve que las drogas nicotínicas incrementan la presión isométrica. Las mucarínicas no tienen efecto. K y Ba incrementan mientras que las anticolinesterasas, dichlorvos, y eserina incrementan la tensión residual y potencian la acción de la acetilcolina.

c) Inhibición de la respiración anaerobia.

KRTOV (1958) estudió una serie de compuestos antihelmínticos y observó que algunos de los hidratos de cloral que tienen una acción depresiva en la movilidad del *Ascaris* suben la actividad catalésica y compuestos con un efecto estimulante (santonina, piperazina, aceite de quenopodio, heptilresorcinol y timol) reducen la actividad catalésica a cero. En este caso los gusanos en un medio oxigenado son incapaces de neutralizar el H_2O_2 que se acumula y mueren rápidamente. El uso de pequeñas dosis de santonina o piperazina dos o tres horas antes de la terapia con oxígeno puede aumentar la fijación del oxígeno.

Este mismo autor (1962) vió que la ditiazinina a 10^{-6} incrementa la actividad catalésica de *Ascaris in vitro* vez y media después de tres horas y la dobla después de 18-24 horas. El azul de metileno inhibe casi por completo la actividad catalárica a concentraciones de 10^{-6} tanto a las tres horas como a 18-24 horas. Cuando se adiciona directamente a la hemolinfa u homogenado mus-

cular el azul de metileno no tiene efecto y la ditiазina la descende, lo que indica que los tejidos aislados no responden lo mismo que el animal entero. Los gusanos los coloca durante tres horas en ditiазina. Después se ponen a Ringer-Lock persistiendo el efecto, pero cuando son transferidos al azul de metileno la actividad catalásica descende considerablemente. Los resultados indican que el azul de metileno estimula la respiración aerobia en los *Ascaris*, aun en aquellos en que la respiración ha sido disminuida por ditiазanina.

KROTOV (1958), NIYAGAWA (1961) y WATANDE (1961), han estudiado la actividad antihelmíntica de la santonina y han visto que su acción es inhibidora de la actividad catalásica, peroxidásica y descende marcadamente el contenido de histamina del líquido perivisceral. KOSHIYAMA y COL (1961) afirmaron que tiene un efecto inhibidor sobre el metabolismo respiratorio de *Ascaris in vitro*. A dosis de 2,5 mgr. se produce una inhibición de la movilidad, llegando ésta a ser nula.

Se ha señalado el hexilresorcinol efecto ovicida y ascari-cida su acción se puede explicar porque inhibe la deshidrogenasa (MINRE y COL, 1956) y el metabolismo respiratorio del músculo del *Ascaris* (KOSHIYAMA y COL, 1961).

d) Inhibición enzimática.

BENEDICTOK y SALMENKORA (1964) encontraron que el hidroxinafteato de befemio inhibe reacciones de oxidación del ciclo

Krebs (oxidación de melato, α -cetoglutarato y succinato) y las reacciones de transaminación en *Ascaris*. Dicen que la inhibición de estas reacciones tienen lugar cuando la droga es adicionada a homogenados de tejidos o mitocondrias aisladas (*in vitro*) y a un medio de cultivo de parásito (*in vivo*). El estudio de compuestos análogos diferentes indica que el efecto señalado en los sistemas enzimáticos está unido a la presencia del unión β -hidroxi-naftoato. El ácido β -hidroxinaftoico inhibe por él mismo los procesos de oxidación en mitocondrias y reacciones de transaminación cuando es adicionado *in vivo*.

GELDER (1969) estudia la acción del ácido hidrazinpropiónico sobre el metabolismo de aminoácido en el SNC de ratas. Este autor concluye que este ácido inhibe a la tirosin-aminotransferasa y amino-butiratotransferasa.

PRISHARD (1970) vió que la acción de los antihelmínticos tio-bendazol y 1-tetramisol se puede ejercer a nivel de inhibición de la fumarato reductasa. Observa que la oxidación de NADH por las mitocondrias (en medio aerobio) era incrementada por la adición de fumarato. Esta enzima se inhibe en el 100% por una concentración de 10^{-4} M de tiobendazol. Igualmente ocurre a una concentración de 5×10^{-3} M de 1-tetramisol en el *H. contortus*. A continuación realizó ensayos con fumarato reductasa anaeróbicamente, para eliminar las interferencias de NADH oxidasa, que ocurre en condiciones aeróbicas. Y encontró que el tiobendazol inhibe fuerte y específicamente a la fumarato reductasa.

e) Inhibición en la absorción C.H.



Hay antihelmínticos cuyo mecanismo de acción se ejerce a nivel de la absorción de carbohidratos. Uno de los más importantes y recientes es el mebendazol.

BUEDING (1962) considera que los derivados de las diaminas actúan por inhibición del transporte de la glucosa en el organismo del *Schistosoma mansoni*. En 1963, VOLLER, SHAW y BRYANT encuentran que las drogas antimoniales inhiben la utilización de los productos de la glucólisis. PUSHKAREV (1966) estudiando el antihelmíntico naftamon (alcopar) observa que inhibe la síntesis de los ácidos grasos y cambia la composición de los excretados y observa también que inhibe el consumo de glucosa.

El mebendazol fue estudiado por VANDEPITTE y col. (1973), observaron que inhibe la asimilación de glucosa por los nematodos, conduciendo así a una acumulación de glucógeno y a una reducción en la formación del ATP; a dosis elevadas el antihelmíntico no afecta al metabolismo de la glucosa de los mamíferos. Esto es confirmado por PEÑA CHAVARRIA y col. (1973).

Van den BOSSCHE y NOLLIN (1974) hacen experiencias con *Ascaris in vitro*, estudian el efecto del mebendazol y comprueban que inhibe la absorción y el transporte de glucosa en el verme. Esta inhibición la observó en glucosa marcada y analizando el glucógeno contenido en el músculo del *Ascaris*. SCHENONE y col. (1974) confirman esta teoría.

En un estudio realizado por BORGERS y col. (1975) demuestran que el primer sitio de acción del mebendazol es el intestino de los parásitos y los sitios subcelulares afectados son aparente-

mente los órganos involucrados con las funciones secretoras y de absorción de las células intestinales. Concluyen finalmente, los autores, afirmando que la droga no actúa sobre las células de los hospedadores por la diferencia morfológica y química que existe entre las células de uno y otro.

f) Inhibición de la glucólisis.

Tal es el caso del fluoruro sódico, que se ha comprobado que *in vitro* produce inhibición muscular (COLGLAZIER y col., 1960 y PLAAN, 1963). Estos autores explican su efecto sobre la glucólisis al producir una inhibición de este catabolismo energético por interferir varios enzimas.

g) Inhibición en la puesta de huevos.

Hay una serie de antihelmínticos que también, aparte de producir la muerte del adulto, influyen en la puesta de huevos e incluso en el embrionamiento de éstos *in vitro*.

EGERTON (1961), trabajando con cerdos infestados de *Ascaris* y tratándolos con tiobendazol, observó que la expulsión de *Ascaris* adultos era precedida de una caída en la puesta de huevos; y además este autor confirma que el tiobendazol impide también el embrionamiento de los huevos *in vitro*. CUCKLER (1961) en un estudio que realiza sobre el tiobendazol, confirma la opinión de EGERTON y afirma que este antihelmíntico tiene una gran ventaja sobre la fenotiacina pues destruye las formas larvarias de Nematode.

Posteriormente NASILOWSKA (1963) describe los resultados de la acción de Vapam sobre los huevos de *Ascaris suum* y *Ascaris lumbricoides in vitro*. GRUMBERG (1967) encuentra otro compuesto Ro-2-9009 que *in vitro* es activo sobre larvas de *Ascaris*. Aunque observa que *in vivo* su actividad es muy superior a la piperazina e igual al tiobendazol.

C.- MATERIAL Y METODOS.

C.I.- MUESTRA BIOLÓGICA -SPRENT, 1968-.

La familia *Ascarididae*, según HARTWICH, después modificada por OSCHKE, ha sido definida como especies comprendidas en el género *Ascaris*, *Toxascaris*, *Parascaris* y *Lagochilascaris*, todos ellos parásitos de mamíferos terrestres. Otros ascáridos de mamíferos terrestres son *Crossophoridae* y *Toxoaridae*, incluyendo después *Toxascara* y *Neoascaris*.

El género *Parascaris* está formado por una sola especie, *Parascaris equorum*, parásito de équidos, y se distinguen claramente por la subdivisión transversal de los labios.

El género *Lagochilascaris*, es reconocido por un surco longitudinal en la cara interna de los labios, ésta estructura puede indicar afinidades con *Angusticaecidae*, según DURETTE, o con *Stomachidae*, según RASHEED.

En otros géneros y especies de la familia *Ascaridae*, HARTWICH hace observaciones particularmente de la cutícula en el campo lateral de la región esofágica del *Ascaris lumbricoides*, *A. procyonis* y *Toxascaris leonina*. Insinuando que otras especies debían ser estudiadas siguiendo esa misma línea. SPRENT propone que la familia *Ascaridae* sea clasificada en los siguientes géneros: *Parascaris*, *Ascaris*, *Toxascaris* y *Baylasascaris*.

Familia Ascaridae:

Según HARTWICH, son especies relativamente grandes, cuya

extremidad cefálica se encuentra provista de tres labios muy desarrollados y prominentes, que pueden ser simples o claramente subdivididos en la cara interna. Papila labial dorsal subventral doble, papila lateral única, aleta cervical saliente o no saliente. Poro excretor con o sin prolongaciones anteriores. Núcleo del ganglio esofágico en la parte posterior del esófago, núcleo dorsal mayor que el subventral; cordones nerviosos del ganglio esofágico ventral dirigidos hacia la parte anterior del esófago, cordones nerviosos del ganglio subventral dirigidos hacia la partes posterior del esófago. Carecen de intestino ciego. Hembra con vulva usualmente en la primera mitad y raramente en la segunda mitad. Con dos tubos útero-ováricos epistodelfos, ovario enrollado en su mayor parte detrás de la vulva. Huevos con cáscara rugosa o lisa. Machos con espículas cilíndricas o filiformes. La región pericloacal está provista de papilas, con o sin zonas ásperas delante o detrás de la abertura cloacal.

Género *Ascaris*, Linneo (1758)

STOSSIDE contó en el género *Ascaris* 218 especies. STILES y HASSALL, llegaron a contar 700 especies. La mayoría de estas especies han sido reducidas desde entonces, unas porque se han pasado a otros géneros, otras por ser sinónimas, y algunas de ellas, por tratarse de formas larvarias.

Son los *Ascaris*, un conuunto de gusanos parásitos, de cuerpo cilíndrico-fusiforme, dotado de cutícula resistente, finamente estriada al través, pero no segmentada, siempre provisto de tubo digestivo.

Los naturalistas los definen como Nematodes, con el extremo cefálico bi o trilobulado, formado por la boca rodeada de tres labios con papilas, esófago más o menos ensanchado posteriormente, intestino tibular con o sin divertículos ciegos, que puede a veces aparecer en el esófago; macho con dos espículas; hembra no mucho mayor que el macho, con dos ovarios tubulares; ovíparas.

Los huevos miden 45 a 70 por 35 a 50 μ . Hay una cubierta externa, densamente mamelonada, albuminosa, que sirve como barrera auxiliar contra la permeabilidad, pero puede faltar.

Los gusanos, adultos normalmente, viven en la luz del intestino delgado. Obtienen su nutrición de la comida semidigerida por el huésped y probablemente de las células de la mucosa intestinal. Un gusano hembra tiene capacidad productora de 26 millones de huevos, y en promedio pone 200.000 diariamente.

En condiciones ambientales favorables, en el suelo, en tres semanas, se forman embriones en segunda etapa infectantes, después de la primera muda, dentro de la cubierta del huevo. La temperatura óptima para su desarrollo es de unos 25°C, variando de 21° a 30° C. Las temperaturas inferiores retardan el desarrollo pero favorecen la supervivencia.

Los huevos infectantes, al ser digeridos por el hombre, se fijan en el intestino delgado proximal, liberando sus larvas rabbitoides de 200 a 300 por 14 μ , que penetran la pared intestinal y llegan a las células o linfáticos. Por la circulación porta pasan al hígado; de ahí al corazón y pulmones, pudiendo llegar a éstos, uno a siete días después de la infección. Como tienen 0,02

mm. de diámetro y los capilares pulmonares sólo tienen 0,01 mm. de diámetro, rompen los capilares y pasan a los alvéolos. Eventualmente, algunas llegan al corazón izquierdo por las venas pulmonares, y se distribuyen como émbolos en los diferentes órganos de la economía. En los pulmones, las larvas sufren su segunda y terceras mudas. Emigran o son transportados de bronquillos a bronquis, ascienden a tráquea y glotis, y de ahí a esófago e intestino delgado. Durante el ciclo pulmonar aumentan cinco veces de tamaño, hasta 1,5 mm. de longitud. Al llegar al intestino sufren una cuarta muda.

Las hembras ovipositoras se desarrollan en unos 2 meses después de la infección, y viven 12 a 18 meses.

* Especie utilizada.

Nosotros hemos utilizado como muestra biológica, el parásito del cerdo, *Ascaris lumbricoides* variedad *suum* Goeze, 1782.

C.II.- RECOGIDA DE LOS PARÁSITOS.

Los parásitos que hemos utilizado para nuestro estudio, proceden del Matadero Municipal de la localidad. Una vez sacrificados los cerdos, los parásitos extraídos del intestino, se colocan en un termo con solución salina al 9 por mil y a una temperatura de 37°C, para ser transportados al laboratorio. Esto tiene el objeto de que el parásito durante el transporte pierda el mínimo de vitalidad, pues estos seres, en razón a su calidad de parásitos, han perdido su poder de termorregulación.

PREPARACIÓN DE LOS PARÁSITOS.

Una vez en el laboratorio se sacan del termo y se lavan varias veces con solución salina al 9 por mil, también a 37°C, para quitar los restos intestinales que pudieran quedar, y además se procede a separar cualquier otra especie parásita, si la hay.

Las experiencias se han hecho siempre con *Ascaris* procedentes del Matadero, del mismo día.

C.III.- DISPOSITIVO DE CULTIVO.

El dispositivo empleado consta de las siguientes partes:
(fig. n° 1; esquema del aparato).

- 1) Renovador del medio de cultivo para la renovación automática de éste.
- 2) Estufa regulada a 30°C.
- 3) Registro gráfico de la movilidad del parásito.
- 4) Recipientes colectores.
- 5) Vasos de diseño especial para mantener en cultivo los parásitos.

1) Renovación del medio:

La renovación del medio se consigue mediante unas bombas de jeringa unidas a un temporizador, y que nos pone en contacto el vaso de cultivo (fig. 1,c) con el medio de reserva (fig. 2,A). El temporizador (fig. 1,F) está constituido por un motor síncrono de 1 vuelta cada 24 horas con un disco de plástico ajustado al eje, que permite realizar contactos eléctricos en periodos variables de tiempo (cada 2,4,6,8,12 ó 24 horas). De esta forma la renovación del medio de cultivo puede realizarse con la frecuencia que se desee. Nosotros la realizamos cada 4 horas.

2) Estufa:

La estufa (fig. 1,B) está construida en el mismo mueble del dispositivo y el sistema de calefacción se ha conseguido con

un tubo calefactor, lo que evita la existencia de gradiente de temperatura dentro de la estufa. El acondicionador está controlado por un termorregulador bimetálico a 30°C. Esta permite colocar cinco vasos de cultivo en su interior.

3) Registro gráfico:

El movimiento de los parásitos dentro de los vasos de cultivo es controlado gráficamente mediante una pieza de plástico que cuelga como un péndulo dentro del vaso (fig. 1,D). El diámetro del vaso y del péndulo están calculados de forma que los *Ascaris* se mueven libremente dentro de éste; el movimiento del péndulo se refleja en una aguja inscriptora, que marca un trazo en zig-zag, sobre el papel de registro.

Mediante el motor síncrono se regula el desplazamiento del papel, 4 mm. por hora aproximadamente.

4) Recipientes recolectores:

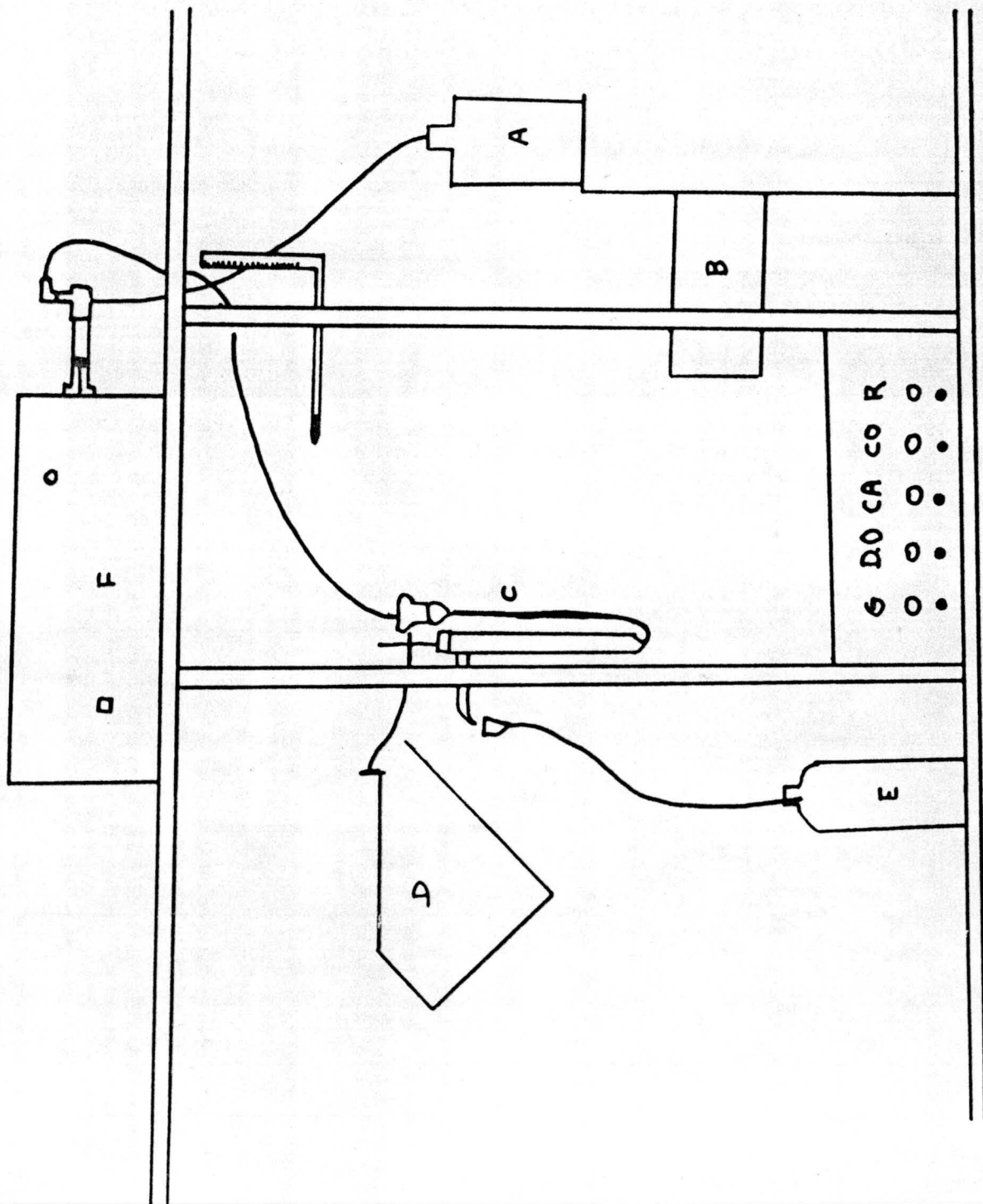
No tienen más función que ir recogiendo el medio de cultivo usado (fig. 1, E).

5) Vasos de cultivo:

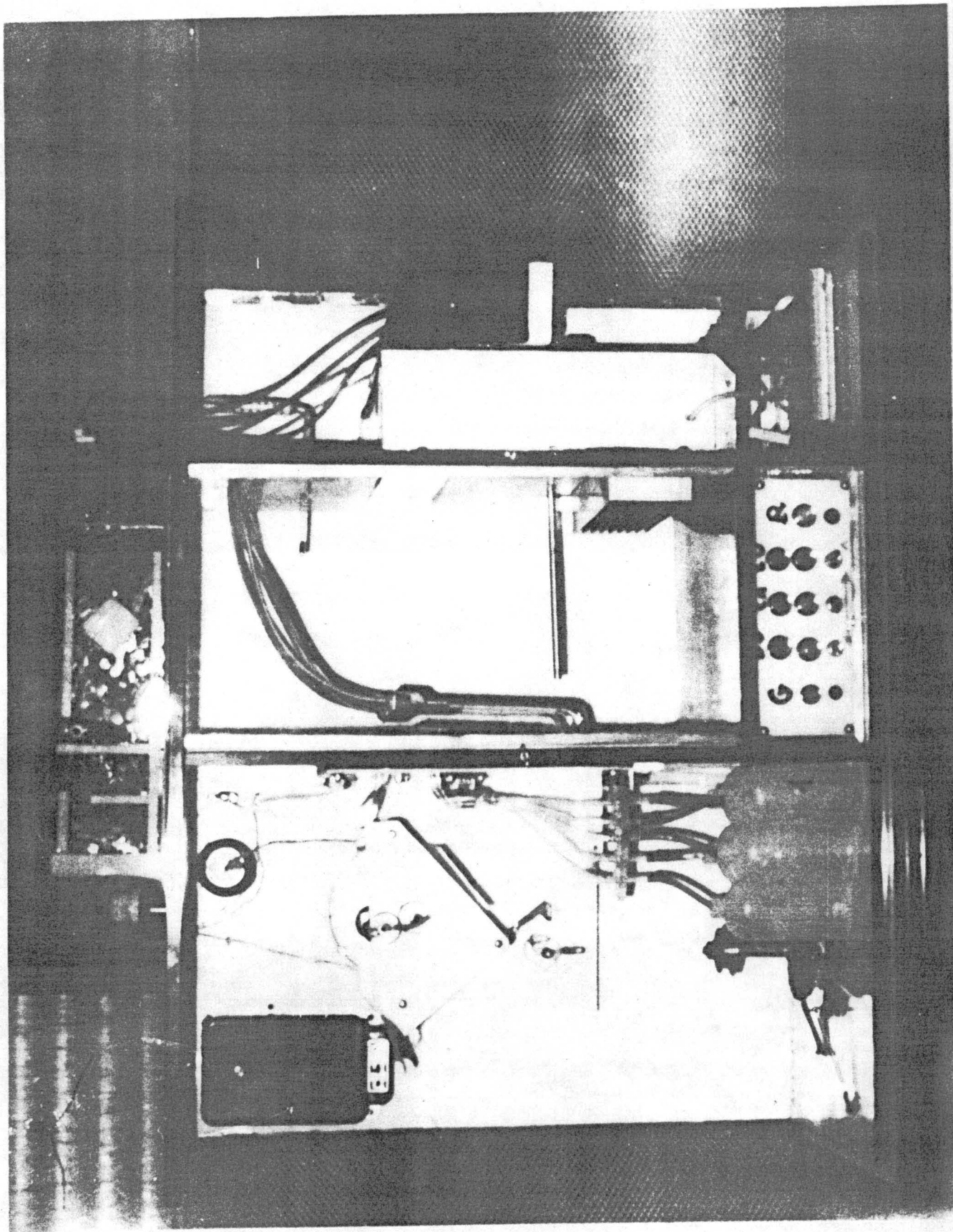
Se han cultivado los *Ascaris* cada uno por separado empleando un dispositivo que consta de una pieza de vidrio (fig. 2) en

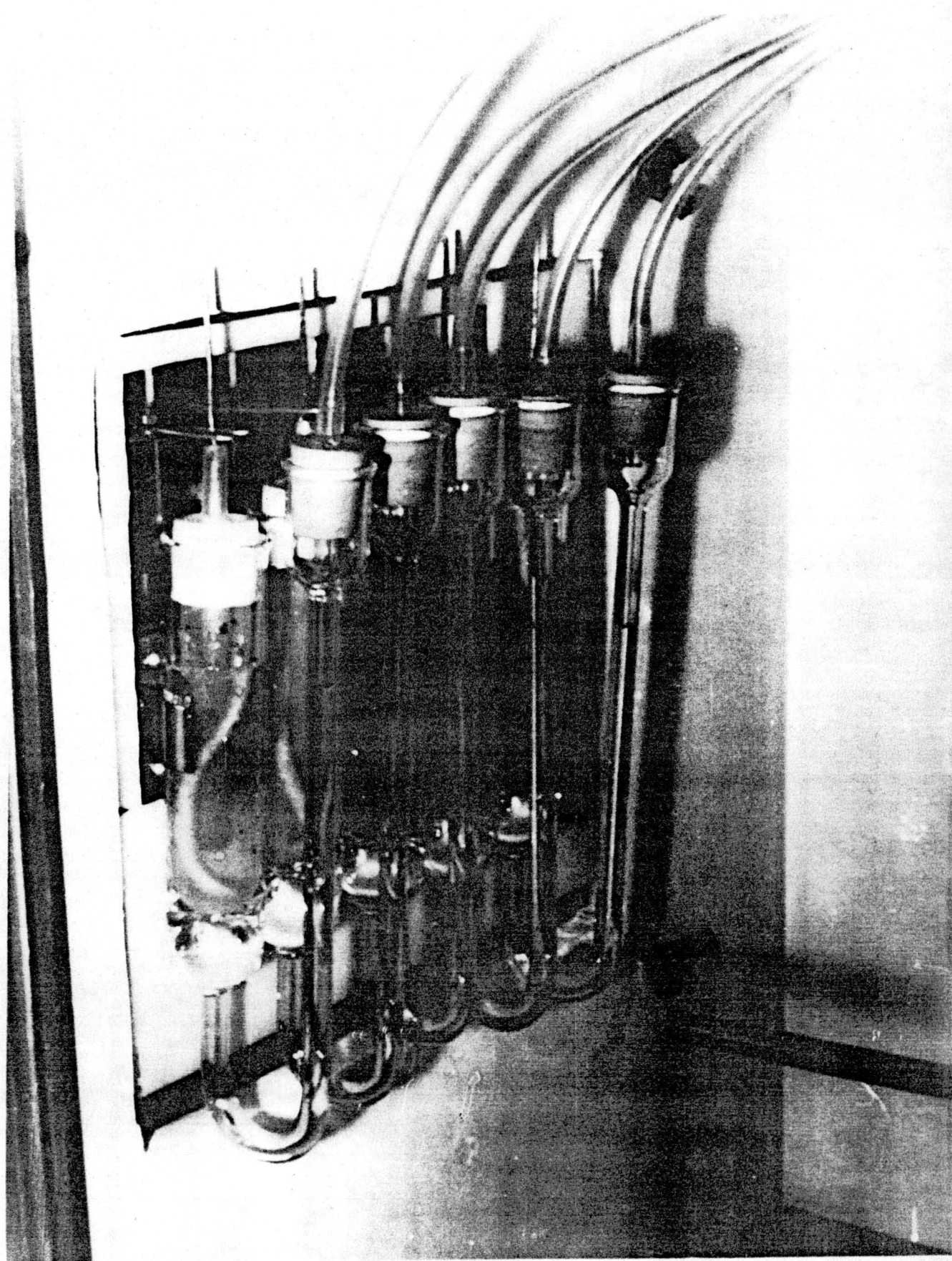
cuyo interior va un tubo de plástico con pequeños orificios en donde se introduce el parásito. La pieza de vidrio tiene dos ramas laterales, una para la entrada del medio y otra para la salida. La tapadera soporta el péndulo que transmite el movimiento de los *Ascaris* al aparato inscriptor (fig. 1,C).

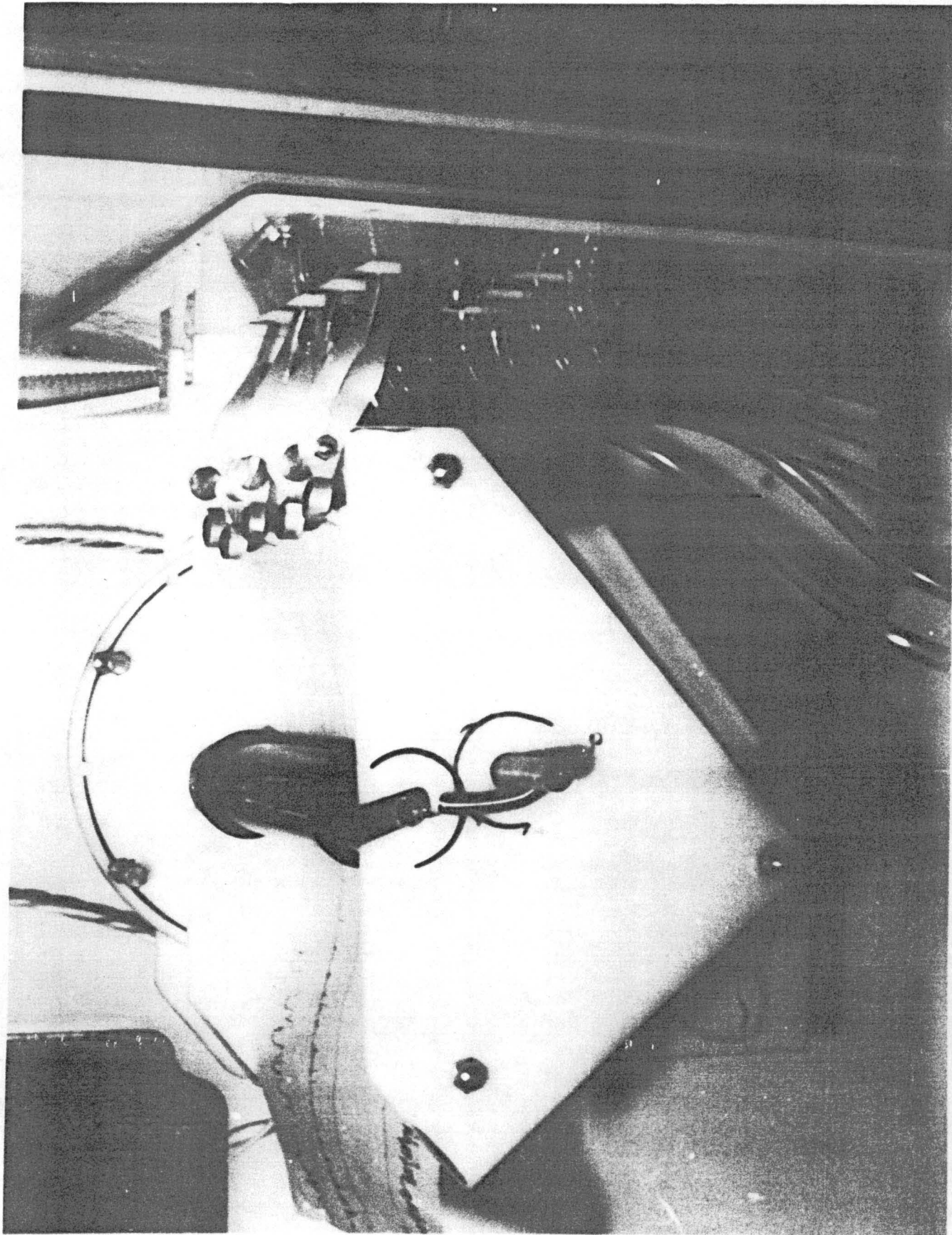
El cultivo se mantiene durante tres días, pasado este tiempo se procede a la disección del aparato y a la diálisis de los diferentes tejidos.

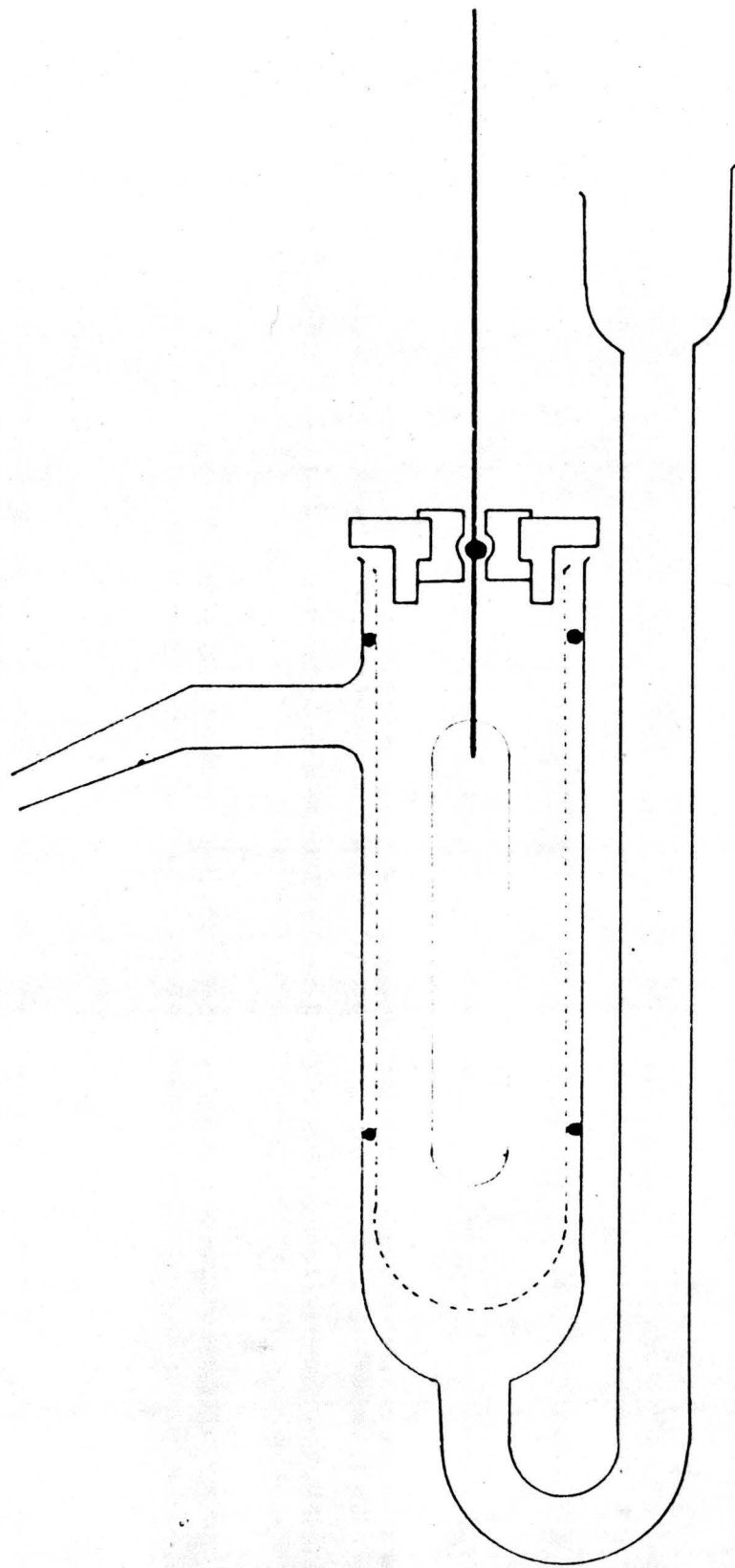


ESQUEMA DEL DISPOSITIVO DE CULTIVO









C.IV . MEDIOS DE CULTIVO.

Se ha usado como medio base una solución de Tyrode cuya composición es la que se indica a continuación:

ClNa	9	por mil
ClK	0,2	por mil.
Cl ₂ Ca	0,2	" "
Cl ² Mg	0,2	" "
CO ₃ HNa	1,0	" "
PO ₄ HNa ₂	0,05	por mil.

A esta solución de Tyrode, se ha ido adicionando diversos metabolitos.

- Como nutrientes se han adicionado:

Glucosa a 0,3 y 1 gr. por litro de medio.

Hemoglobina a 0,3 gr. por litro de medio.

- Como antibióticos se han adicionado:

Bactericidas: Penicilina (200 y 250 mgr./litro), estreptomycinina y kanamicina (250 mgr./litro).

Bacteriostáticos: Tetraciclina (250 mgr./litro).

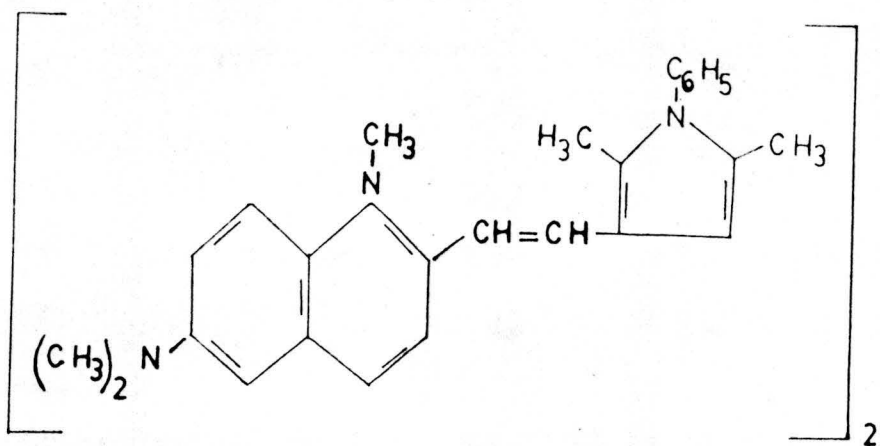
- Otras sustancias con efecto inhibidor del crecimiento microbiano:

Sulfamidas: Sulfoguanidina y Gantrisona (100 y 200 mgr./litro).

Antifúngicos: Nistatina (30 y 100 mgr./litro).

- Como antihelmínticos:

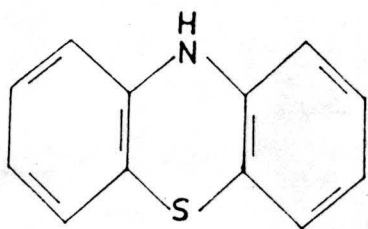
PAMOATO DE PIRVINIO:



Otras denominaciones: Pamovin, Vanguil, etc.

Propiedades: Punto de fusión 210-215°. Poco soluble en gua.

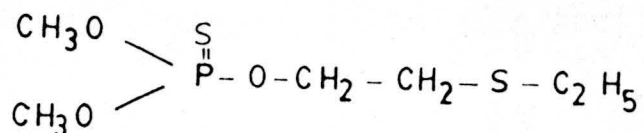
FENOTIACINA:



Otras denominaciones: Dibenzothiazine, Contaverum, Vermitin, etc.

META-SYSTOX:

Fórmula: 0,0-Dimethyl 0(and S)-(2(ethylthio) ethyl) phosphorothioates).

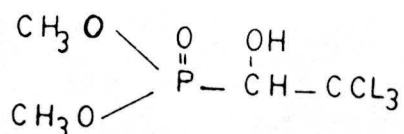


Otras denominaciones: Bayer-15203, methyl demeton.

Propiedades: Líquido y soluble en agua.

DIPTEREX:

Fórmula: Dimethyl 1(2,2,2-trichloro-1-hydroxyethyl) phosphonate.



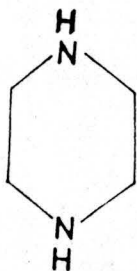
Otras denominaciones: Cylox, Trichlorfon, Neguvon.

Propiedades: Cristalino, blanco, punto de fusión 81-82°C.

Soluble en agua.

Propiedades: Cristal amarillo, soluble en benceno y eter, e insoluble en eter de petróleo, cloroformo y agua. Punto de fusión 185,1 

PIPERAZINA:

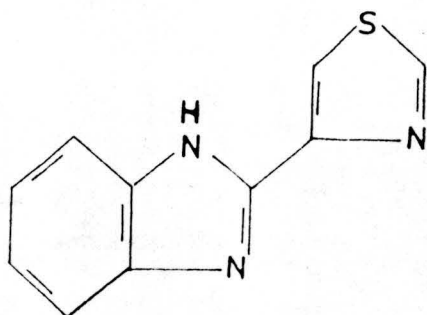


Otras denominaciones: Lumbrical.

Propiedades: cristalina, soluble en agua y en glicerina, e insoluble en eter. Punto de fusión 106 

TIOBENZAZOL:

Fórmula: 2-(4'-thiazoly)-benzimidazole.

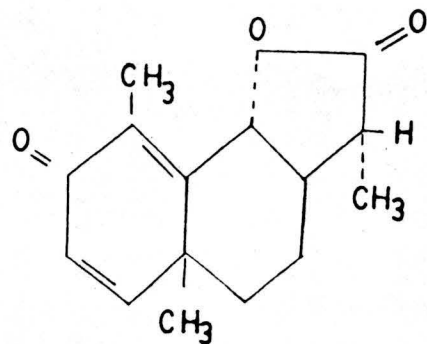


Otras denominaciones: Polival, Bovizole, etc.

Propiedades: Cristalino, soluble en agua, dimetil-formamina. Poco soluble en alcohol, ester.

SANTONINA:

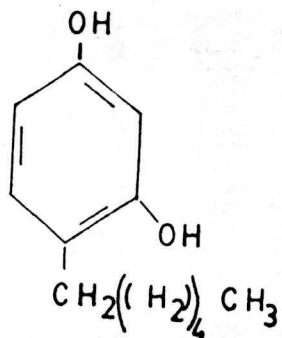
Fórmula: 1,2,3,4,4a, 7 hexahidro-1-hidroxy- α , 4a,8-tri mety -7-oxo-
-2-naphthaleneacetia acid γ -lactone



Propiedades: soluble en agua. Punto de fusión 170-173°C.

HEXIL-RESORCINOL:

Fórmula: 4 Hexil-1,3, dihydroxybenzene.

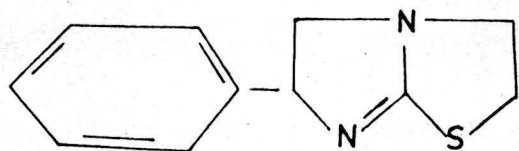


Otras denominaciones: Crystoids, Gelovermin, etc.

Propiedades: Punto de fusión 67,5-69°. Soluble en agua, eter, cloroformo, alcohol y acetona. Poco soluble en eter de petróleo.

TETRAMISOL:

Fórmula: 2,3,5,6 tetrahydro-6 phynyl-imidazo- (2,1-b) thiazole.

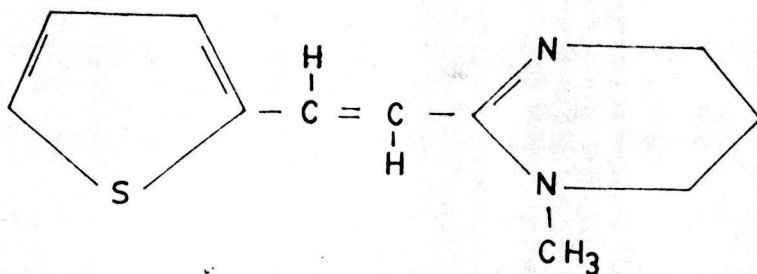


Otras denominaciones: Ripercol, Tetramisole R-8299, Decaris y Galinid.

Propiedades: Blanco, cristalino, estable y soluble en agua, metanol Insoluble o poco en cloroformo, acetona y eter. Punto de fusión 260°-270°C.

PAMOATO DE PIRANTEL:

Fórmula: (trans - 1 metil 2 (2-tionil) vinil) 1,4,5 y 6 tetrahidropiridina.



También es conocido como Combantrin.

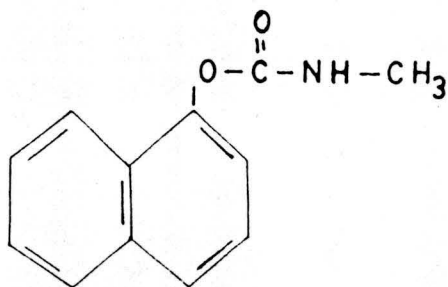
GABA:

Fórmula: α -Amino-n-butírico ácido

Propiedades: Soluble en agua y disolventes orgánicos. Insoluble en eter. Punto de fusión 304°.

SEVIN:

Fórmula: 1-Naphthyl-N methyl carbamate.

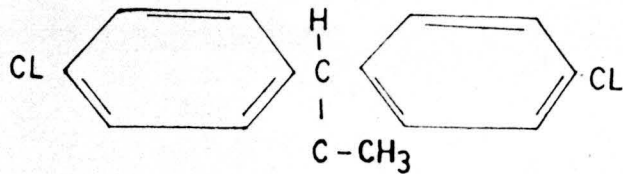


Otras denominaciones: Carbaryl, Hexavin, etc.

Propiedades: Cristalino, blanco. Punto de fusión 142°C. Poco soluble en agua y mas soluble en disolventes orgánicos.

DDT:

Fórmula: Dichlorodiphenyltrichloroethane.

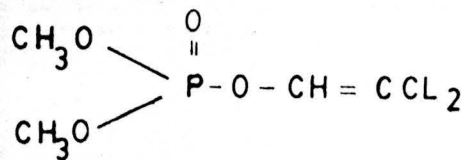


Otras denominaciones: Chloro phenothane, Anofex, Genitex.

Propiedades: Poco soluble en agua. Pero lo es disolventes orgánicos.

DICHLORVOS:

Fórmula: 2-2-Dichlorovinyl 0,0-dimethyl phosphate.



Otras denominaciones: DDVP, Divipan, Vapona, etc.

Propiedades: Líquido amarillo pálido. Poco soluble en agua pero si en disolventes orgánicos.

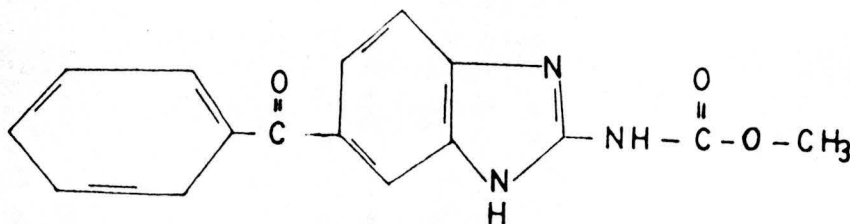
HEXANO:

Fórmula: $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_4 \text{CH}_3$

Propiedades: Líquido muy volátil, insoluble en agua. Miscible con alcohol, cloroformo y eter.

MEBENDAZOL:

Fórmula: methyl 5(6)-benzoyl-2-benzimidazole-carbamate.

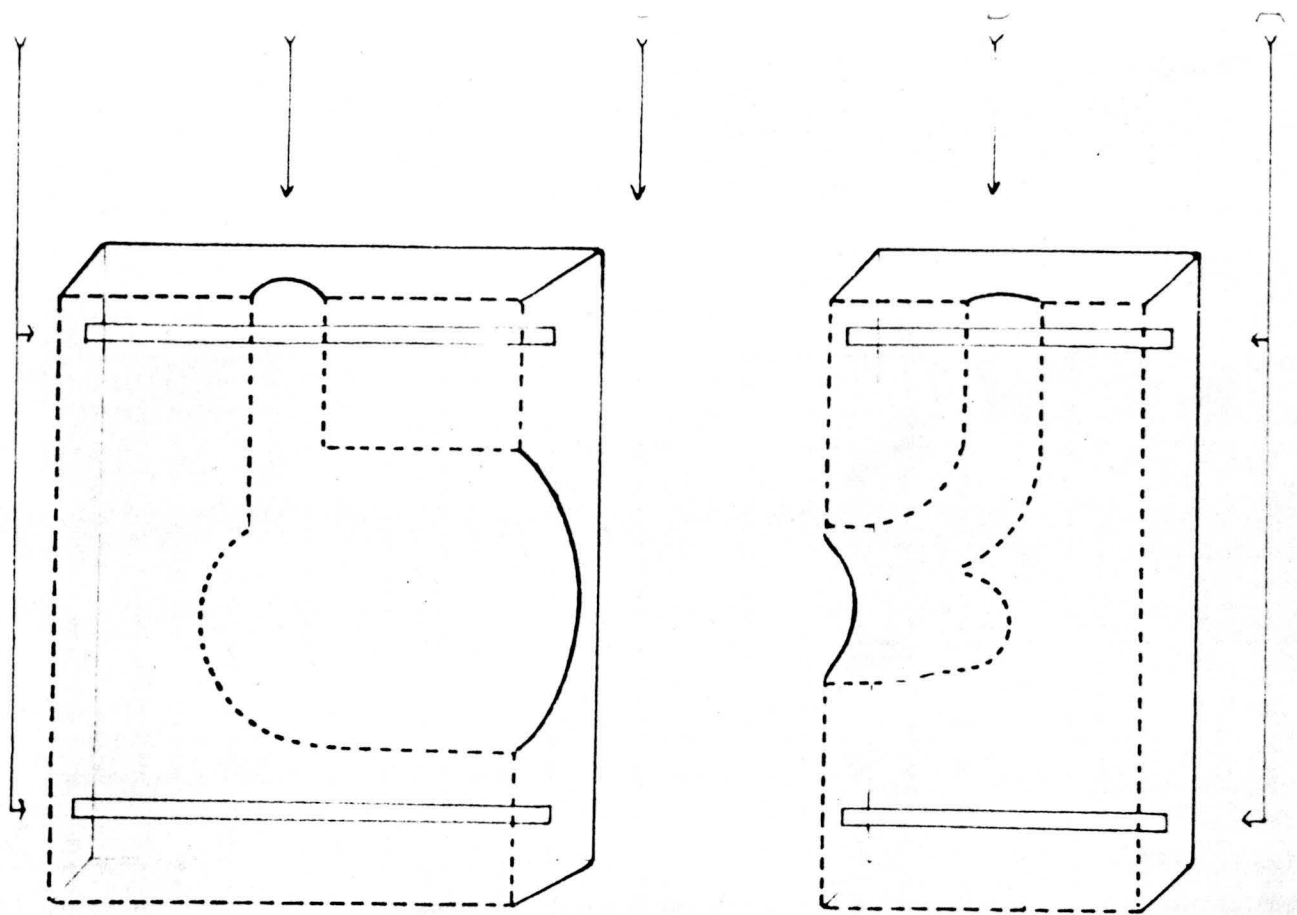


Propiedades: Es polvo blanco ligeramente amarillo y prácticamente insoluble en gua.

C. V.- DIÁLISIS DE LOS TEJIDOS.

Una vez pasado el periodo del cultivo del *Ascaris* en el aparato que se describe en el apartado C.III.-, se procede en unas experiencias a la disección del parásito y en otras se trocean los vermes enteros, continuando en uno y otro caso con la diálisis. Esta se lleva a cabo en celdas fabricadas con planchas de plexiglás (fig. 3) separadas con papel de diálisis, tipo Visking, frente a un tampón de tetraborato sódico 0,01 M, en la proporción no dializado/dializado de 1/10.

Se mantiene en cámara frigorífica regulada a 4°C, durante cuatro días, y una vez transcurrido ese periodo se procede a su análisis.



A: Agujeros para los tornillos de presión

B: Entrada al compartimento mayor

C: Papel de diálisis

D: Entrada al compartimento menor

ESQUEMA GENERAL

A N A L Í T I C O

ASCARIS TOTAL (O SUS TEJIDOS)

↓
CULTIVO

↓
SE TROCEA O
DISECCION

↓
DIÁLISIS

DIALIZADO

NO DIALIZADO

LECTURA
A 260.
"

"ADENÍLICOS

AMBERLITA.
GC-400

TREHALOSA

GLUCOSA

GLUCÓGENO COM.
ANTRONA.
NO RETENIDO

GLUCÓGENO
SOLUBLE.

DEAE-CELULOSA

RETENIDO

ELUCIÓN

LECTURA
A 280.
"

PROTEINA

LECTURA
A 412.
"

HEMOGLOBINA

C.VI- MÉTODOS ANALÍTICOS.

C.VII.- DETERMINACIÓN DE AZÚCARES POR LA ANTRONA.

Reactivos:

- a) Acido sulfúrico.
- b) Agua destilada.
- c) Antrona.

Se mezclan 30 ml. de agua destilada con 90 ml. de ácido sulfúrico concentrado, se agita y con esta mezcla se hace la solución de antrona a la concentración de 2 mg./ml.

La solución de antrona ha de ser recién preparada, midiéndose el volumen de la mezcla sulfúrico-agua y no fiándose de los volúmenes mezclados de cada uno de ellos, pues en la mezcla hay una considerable reducción de volumen.

FUNDAMENTO DEL MÉTODO:

Se ha seguido la técnica Treveylan W.E. y Harrison J.S. (1956).

Debido a la acción deshidratante del ácido sulfúrico sobre la glucosa, se forma un aldehído, 5-hidroximetil furfural que reacciona con la forma activa, enólica, de la antrona para dar una coloración verde cuya intensidad se mide en el fotocolorímetro.

PROCEDIMIENTO:

Se coloca en una gradilla un número determinado de tubos con 1 ml. de la solución problema; aparte se pone en otro tubo 1 ml. de agua destilada, este tubo nos servirá de blanco y se le adiciona 5 ml. del reactivo preparado anteriormente; se agita y se pone a calentar, al baño maría, durante 10 minutos. Una vez transcurrido ese tiempo se enfria y el siguiente paso será medir en el espectrofotómetro (Spectromec-20) la densidad óptica a 620 m μ .

CURVA PATRÓN:

Para la curva patrón se han usado soluciones madre de glucosa y trehalosa de 1 mg./ml. se prepararon diluciones a partir de esta solución madre, cuya riqueza en glucosa o trehalosa es de: 20, 40, 60 y 80 gsmmsd/ml. De cada una de ellas se toma 1 ml. y se procede como se indica en el apartado anterior.

Para cada uno de los puntos se hicieron varias determinaciones en días sucesivos, tomando los valores medios.

Se construyó la gráfica poniendo en ordenadas las densidades ópticas multiplicadas por 100 y en abscisas la concentración por ml. (figs. 4 y 5).

CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA.

Resina; Amberlita - CG - 400

FUNDAMENTO DEL MÉTODO:

Se basa en la reacción de los compuestos polihidroxilados con el ión borato para formar complejos bóricos ácidos. Estos complejos bóricos se separan fácilmente en columna de intercambio con reguladores de ácido bórico-borato (pH 8 a 9).

a) Preparación de la resina:

1º) Tratamiento con ClH, 0, IN, con agitación fuerte durante media hora seguido de un lavado con agua destilada abundante hasta que las aguas de lavado den reacción neutra.

2º) Tratamiento con NaOH, 0, IN, con agitación fuerte durante media hora, y lavado con agua destilada hasta que las aguas del lavado den reacción neutra.

La resina preparada se deja interpuesta en agua destilada.

b) Preparación de las columnas:

Se han utilizado columnas de vidrio de 26x1,5 cm. En la parte inferior se coloca una pieza con un poco de lana de vidrio

destinada a soportar el peso de la resina. Esta pieza se conecta en su extremo con un tubo de goma provisto, en el otro extremo, de un tubito de vidrio en forma de V y de una llave de tornillo para regular el flujo de salida.

Por la parte superior se va agregando la suspensión de la resina, el llenado de la columna se hace rápido para que no sea muy compacta, ésto se consigue bajando el nivel del tubo de salida hasta la parte inferior. Se deja que alcance una altura de 18 cm., sin quedar burbujas de aire y que el líquido cubra de 0,5 a 1 cm. el nivel superior de la resina. Para el equilibrio de las columnas se pasan unos 100 ml. de ácido bórico 0,02 M.

c) Adición de la solución problema:

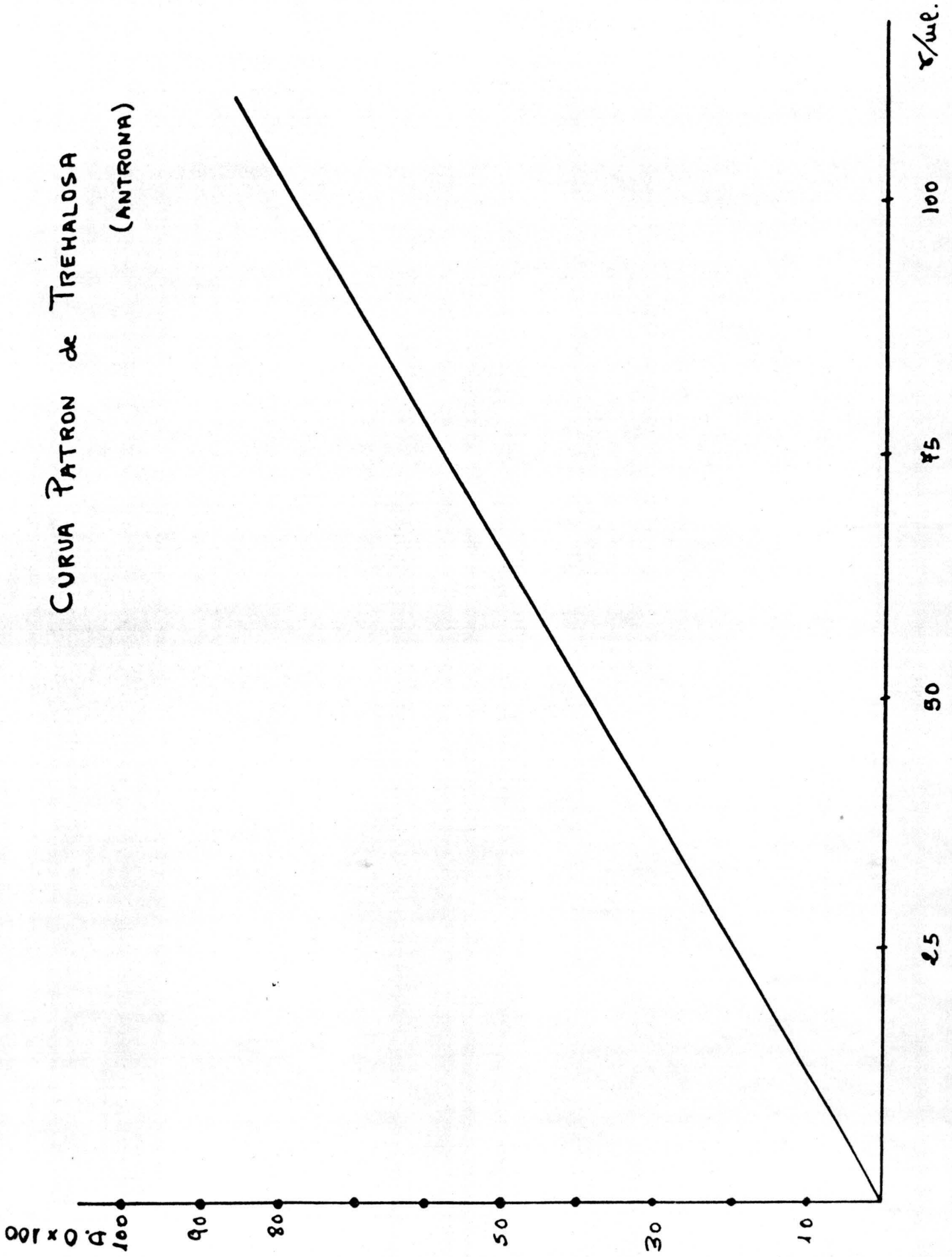
Una vez preparada la columna, se procede a la adición del problema, que se hace pasar por la columna (en velocidad de salida está perfectamente controlada). La solución problema se lleva al mismo pH del reactivo de equilibrado de las columnas con ClH, 0, IN. Una vez que ha pasado el problema se procede a su elución, primero con 50 ml. de borax, 0,002M y esta fracción se recoge en un tubo, preparado para tal efecto, una vez que ha pasado los 50 ml. de borax se le adiciona, nuevamente, a la columna 30 ml. de sosa y se procede a su recogida, luego se agrega 20 ml. de agua destilada. Finalmente tendríamos 2 tubos, A con la primera fracción (recogida después de adicionar los 50 ml. de borax) y B con la segunda fracción (recogida después de pasar 30 ml. de sosa y 20 de agua).

Se enrasan ambos tubos, en un matraz de 50 ml. y a continuación se procede a la determinación de los azúcares por el método de la antrona descrito anteriormente.

Se realizaron análisis previos con soluciones de trehalosa y glucosa y se recogieron los líquidos de elución en fracciones de 2 ml.; en cada fracción se hicieron determinaciones de azúcares por la antrona y cromatografía con papel. De igual modo se procedió con los dializados procedentes de los problemas.

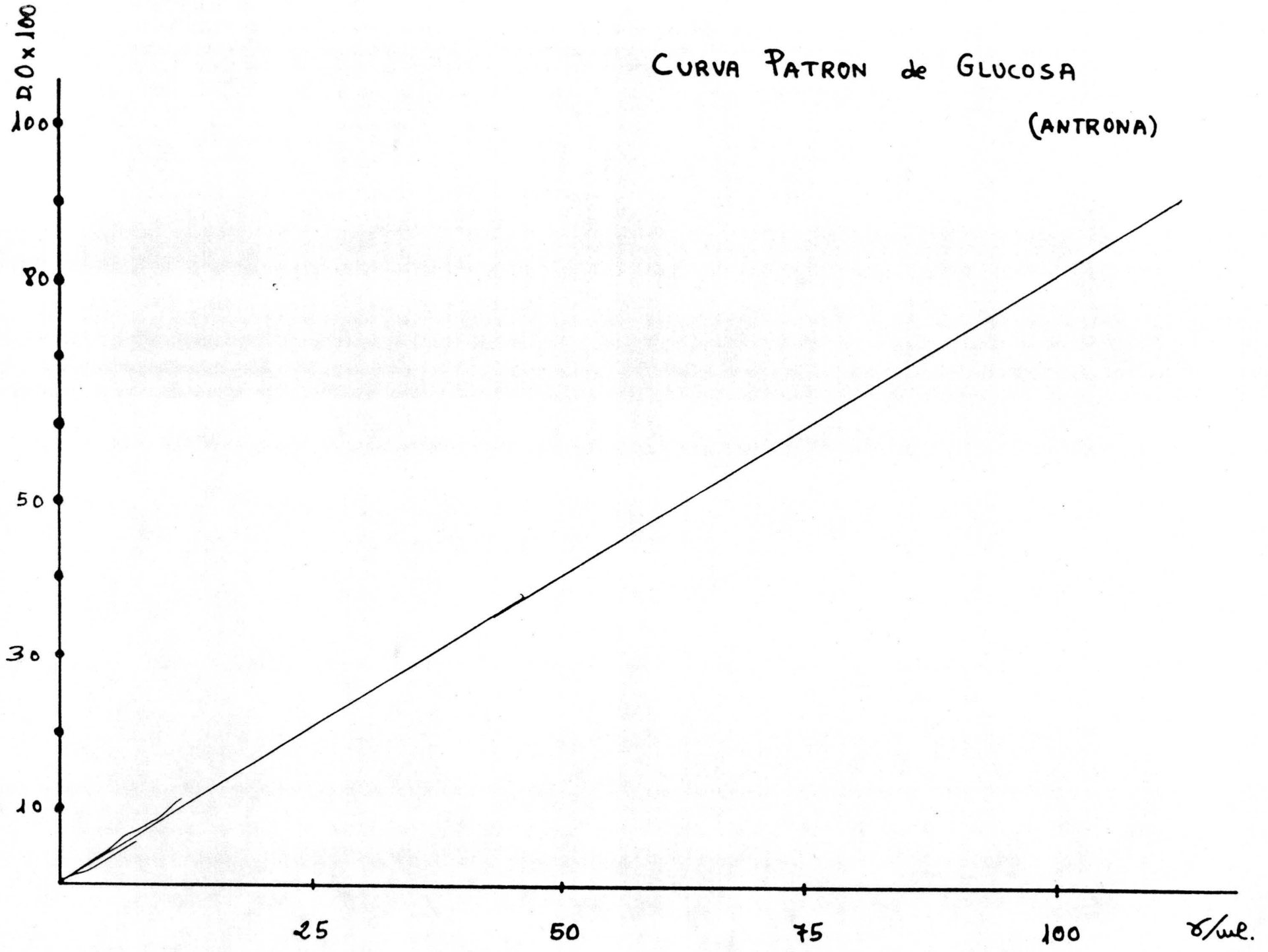
Las curvas de elución están representadas en la fig. 6.

CURVA PATRON de TREHALOSA
(ANTRONA)



CURVA PATRON de GLUCOSA

(ANTRONA)



C.VI.2.- DETERMINACIÓN DEL GLUCÓGENO.

1) GLUCÓGENO SOLUBLE:

Fundamento del método:

La fracción no dializada (esquema general) se pasa por una columna de DEAE-Celulosa. Whatman-DE11. El glucógeno no es retenido por la resina y por lo tanto sale en la primera fracción.

Preparación de la celulosa y columna:

Para la preparación de DEAE-Celulosa y llenado de las columnas se procede como se indica en la Amberlita-CG-400.

El equilibrado de las columnas se lleva a cabo con un tampón de fosfatos 0,01M, pH = 8,5. La muestra se adiciona a pequeños embuditos colocados sobre las columnas interpuestas en el mismo tampón de fosfato potásico. La elución se lleva a cabo primero con 50 ml. de este tampón (se obtiene la fracción A) y después con 50 ml. de un tampón de fosfato monopotásico, 0,02M, con cloruro sódico, 0,2M (fracción B).

En los 50 ml. (fracción A) sale el glucógeno fácilmente extraíble que no es retenido por la DEAE-Celulosa, y que hemos denominado soluble. Se determina cuantitativamente por el método de la antrona, anteriormente descrito.

2) GLUCÓGENO EXTRAIDO POR DIGESTIÓN DE LOS TEJIDOS.

Una vez terminada la separación en las columnas de DEAE-Celulosa, se recogen las cubiertas del *Ascaris* de los embuditos y se procede a extraer el glucógeno por digestión de los tejidos.

REACTIVOS:

- a) Potasa p.a., al 30% en solución acuosa.
- b) Alcohol etílico absoluto, p.a.
- c) Antrona, p.a.
- d) Sulfúrico.

FUNDAMENTO DEL MÉTODO:

Se usa la técnica de destruir el tejido, sin destruir el glucógeno mediante soluciones concentradas de hidróxido potásico al 30% en caliente. Purificación del extracto alcalino por precipitación directa del glucógeno por alcohol absoluto (para que quede al 66%).

PROCEDIMIENTO:

Se pone el problema (cubiertas u órganos sexuales) en un tubo de cristal y se le adiciona 4 ml. de potasa al 30%, se agita y se introduce al baño maría durante 10 minutos, después se le pasa a un tubo de centrífuga, se le agrega etanol 8 ml. se enfria en baño de hielo y se centrifuga a 3.000 r.p.m. durante 20 minutos, se tira el sobrenadante, el precipitado se interpone en 2 ml. de agua destilada, se añaden 4 ml. de alcohol absoluto y se enfria en baño de hielo.

Todo este proceso se realiza tres veces.

Por último, el precipitado se disuelve en agua destilada y se lleva a un volumen fijo completando hasta el enrase en un matraz aforado.

De estas soluciones se toman fracciones de 1 ml. para proceder a su determinación cuantitativa por el método de la antrona, de Treveylan y Harrison (1956).

CROMATOGRAFÍA EN PAPEL DESCENDENTE PARA IDENTIFICACIÓN DE AZÚCARES.

Se corta una tira de papel Watman nº 1 de 30 por A cm. (A depende de la cantidad de puntos que se vaya a poner), y se traza en ella con lápiz 2 líneas transversales a 3, 5 y 5 cm. de uno de los extremos. En esta última línea se marcan los puntos a poner y, finalmente, el extremo opuesto de la tira se corta en puntas.

En los puntos señalados se oloca una cantidad de la solución problema de azúcares (ésta dependerá de la concentración de la solución), utilizando para ello una micropipeta y manteniendo siempre la tira sobre una fuente de aire (frio o caliente). La muestra se irá depositando poco a poco, de tal forma que al final el lugar de puesta de ella no presente un diámetro demasiado grande.

En otros puntos se depositan sucesivamente, y siguiendo las mismas normas ya descritas, soluciones standars y azúcares: glucosa y trehalosa.

Una vez preparada así la tira, se dobla a lo largo de la línea trazada a 3,5 cm. y se suspende en el interior de la cámara cromatográfica, que debe contener el líquido de desarrollo.

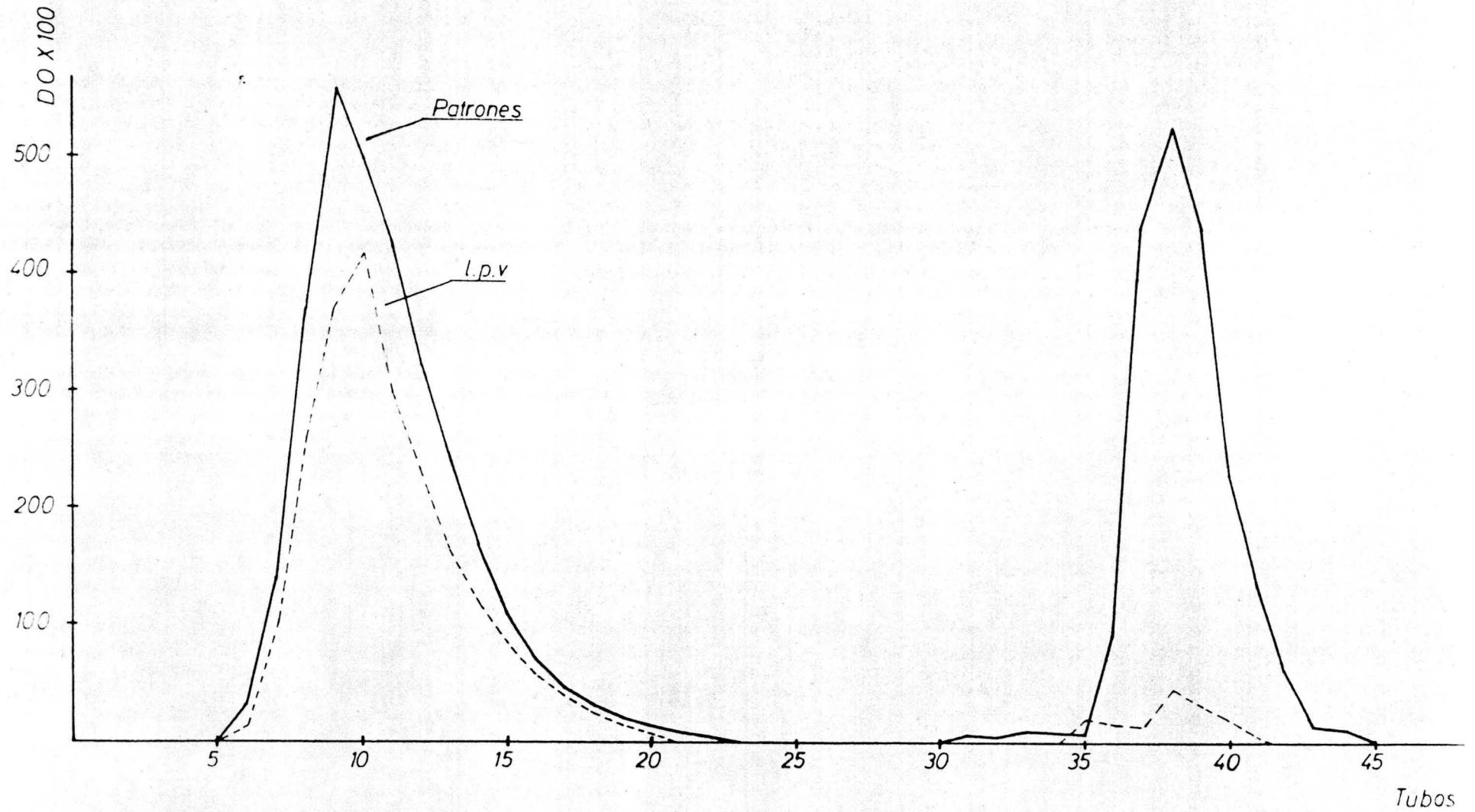
Este líquido es una mezcla de butanol, acético y agua, en las proporciones: 12: 3: 5.

Se cierra bien la cámara, y pasadas 24 horas, se abre de nuevo, se saca la tira y se deja evaporar el disolvente.

Una vez bien seca la tira se procede al revelado con nitrato de plata amoniacal. Se sumerge la tira unos segundos en una solución acuosa acetónica de NO_3Ag . Esta solución se prepara adicionado a unos 20 ml. de acetona unas gotas de solución saturada de NO_3Ag , hasta que se forme blanco, se adiciona entonces la cantidad suficiente de agua para disolverlo. Pasa la tira por esta solución dos o tres veces, se pulveriza en la vitrina con sosa 0,5N en alcohol etílico de 90° . Aparece rápidamente una coloración marrón de fondo lo cual ayuda a conseguir una pulverización homogénea, mientras los azúcares comienzan a revelarse como manchas negras densas.

Cuando ésta se juzga adecuada, se sumerge la hoja en una cubeta que contiene solución de amoníaco 6N donde se mantiene unos 3 - 5 minutos. Después se lava con agua corriente y se seca en la estufa a 100°C .

— Curva Patrón
- - - Curva liquido Periviscer



C.VI.3.- DETERMINACIÓN DE LA HEMOGLOBINA.

En la fracción B, obtenida al pasar el no dializado por la columna DEAE-Celulosa, nó se determina cuantitativamente la hemoglobina, mediante medida en el espectrofotómetro, Beckamnn DB-G a una longitud de onda de 412 nm.

Para el cálculo de la concentración de $m\mu$ de hemoglobina se emplea el coeficiente de extinción de Wittemberg y col. (1965) de 109,5.

C.VI.4.- DETERMINACIÓN DE LAS PROTEINAS.

De la misma fracción B, donde se determina la hemoglobina también se determinan cuantitativamente las proteínas, mediante lectura en el espectrofotómetro, a una longitud de onda de 280 nm.

La concentración de proteínas $n\mu$ se calcula empleando el coeficiente de extinción a 280 nm. de 1,023 (MONTEOLIVA, 1973).

La medida de la concentración de las proteínas por su absorción a 280 nm. se basa en su contenido en aminoácidos aromáticos. En consecuencia, el coeficiente de extinción de la proteína a 280 nm. es función del porcentaje de estos a.a. en la molécula protéica.

C.VI.5.- DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS ADENÍLICOS.

Se engloban todas aquellas sustancias que presentan espec

tros de absorción en el ultravioleta y que tiene influencia en la lectura espectrofotométrica a 260 nm.

Se realiza la lectura directamente de la fracción dializable en el espectrofotómetro y para los fines de cálculo se expresa en adenosina empleando como coeficiente de extinción el de 15,0 (Dawson y col., 1969).

D.- RESULTADOS

D.I.- POR TEJIDOS.

T A B L A I

Valores de los componentes analizados en L.P.V. de Ascaris hembras recién extraídos.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Volumen.- ml.	15	12,05	0,80	10,44	0,64
Adenílicos .- Micromoles	15	6,77	0,45	15,77	0,20
Trehalosa.- mgr./gr.	15	53,97	3,59	211,37	12,89
Glucosa.- mgr./gr.	15	12,37	0,82	19,43	0,67
Hemoglobina.-Nanomoles	15	628,90	41,90	29832,19	1755,61
Proteínas.-mgr./gr.	15	390,00	26,00	10473,48	676,00

T A B L A II

Valores de los componentes analizados en Organos Sexuales de Ascaris hembras recién extraidos.

No	S(X)	X	S(X ²)	X ²
15	11,94	0,79	10,56	0,62
30	41,94	1,39	60,55	1,93
40	86,29	2,15	299,87	4,62
40	43,22	1,08	64,31	1,17
30	291,80	9,70	5280,84	84,09
30	750,90	25,00	19576,07	625,00
40	596,50	14,90	11650,48	222,01
10	90,50	9,00	1294,09	81,00

T A B L A III

Valores de los componentes analizados en cubiertas de *Ascaris* hembras recién extraídos.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso.-gr.	15	23,15	1,54	7,18	2,37
Adenosina.-Micromoles	30	73,38	2,44	195,23	5,95
Trehalosa.-mgr./gr.	40	121,11	3,02	608,32	9,12
Glucosa.-mgr./gr.	40	48,01	1,20	72,74	1,44
Hemoglobina.-Nanomoles	30	1280,70	42,60	55944,35	1814,76
Proteínas.-mgr./gr.	30	633,40	21,11	13653,08	445,21
Glucógeno libre.-mgr./gr.	40	942,90	23,50	32896,79	552,25
Glucógeno combinado.-mgr./gr.	40	2304,00	57,60	149033,88	3317,76

T A B L A IV

Valores de los componentes analizados en Líquido Perivisceral de Ascaris hembras en cultivo, durante 72 horas, a 30°C. Renovación del medio cada 4 horas. Tyrode sin nutrientes.

	<u>6N°</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Volumen.-ml.	20	11,96	0,59	9,82	0,35
Adenosina.-Micromoles	20	109,20	0,54	6,71	0,30
Trehalosa.-mgr./gr.	20	79,02	3,95	335,77	15,60
Glucosa.-mgr./gr.	20	9,92	0,49	29,99	0,24
Hemoglobina.-Nanomoles	4	137,30	34,40	4796,21	1183,36
Proteínas.-mgr./gr.	4	85,10	21,20	1836,93	4,49

T A B L A V

Valores de los componentes analizados en Organos Sexuales de Ascaris hembras en cultivo, durante 72 horas, a 30°C. Renovación del medio cada 4 horas. Tyrode sin nutrientes.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso.-gr.	20	12,80	0,64	9,19	0,41
Adenosina.Micromoles	20	28,65	1,43	42,89	2,05
Trehalosa.-mgr./gr.	20	27,82	1,39	48,88	1,93
Glucosa.-mgr./gr.	20	21,51	1,07	26,87	1,14
Hemoglobina.-Nanomoles.	20	67,90	8,40	585,81	11,56
Proteinas.-mgr./gr.	20	336,10	16,80	5895,77	282,24
Glucógeno libre.-mgr./gr.	20	174,70	8,70	1931,57	75,69

T A B L A VI

Valores de los componentes analizados en Cubiertas de Ascaris hembras en cultivo durante 72 horas a 30°C, renovación del medio cada 4 horas. Tyrode sin nutrientes.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso.- gr.	20	29,77	1,48	46,67	2,19
Adenosina.- Micromoles	20	47,04	2,35	119,47	5,52
Trehalosa.- mgr/gr.	20	19,10	0,95	31,38	0,90
Glucosa.- mgr/gr.	20	8,97	0,44	6,77	0,19
Hemoglobina.- Nanomoles.	20	637,20	31,80	21494,80	1011,24
Proteinas.- mgr/gr.	20	339,20	16,90	5899,88	285,61
Glucógeno libre.- mgr/gr.	20	384,60	19,20	8965,36	368,64
Glucógeno combinado.-mgr/gr.	20	977,70	48,80	50998,39	2381,44

T A B L A VII

Valores de los componentes analizados en Líquido Perivisceral de Ascaris hembras en cultivo durante 72 horas, a 30°C. Renovación del medio cada 4 horas. Tyrode adicionado de 0,3 gr. glucosa por litro.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Volumen.- ml.	15	9,02	0,60	6,11	0,36
Adenosina.- Micromoles	15	8,19	0,54	4,67	0,29
Trehalosa.- mgr./gr.	15	41,42	2,76	149,99	7,62
Glucosa.- mgr./gr.	10	4,18	0,41	2,99	0,17
Hemoglobina.-Nanomoles	10	359,20	35,90	13854,22	1288,81
Proteinas.- mgr./gr.	15	379,80	25,30	18009,72	640,09

T A B L A VIII

Valores de los componentes analizados en Organos Sexuales de *Ascaris* hembras en cultivo durante 72 horas, a 30°C. Renovación del medio cada 4 horas. Tyrode adicionado de 0,3 gr. de glucosa por litro.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso.- gr.	15	9,14	0,60	6,32	0,36
Adenosina.-Micromoles	15	26,87	1,79	49,27	3,20
Trehalosa.- mgr./gr.	15	27,78	1,85	67,67	3,42
Glucosa.- mgr./gr.	15	23,88	1,59	41,77	2,52
Hemoglobina.- Nanomoles	15	271,70	18,10	5715,54	327,61
Proteinas.- mgr./gr.	15	470,50	31,30	15986,75	979,69
Glucógeno libre.- mgr./gr.	15	254,90	16,90	4626,34	285,61
Glucogéno combinado.- mgr./gr.	15	142,50	9,50	1795,69	90,25.

T A B L A IX

Valores de los componentes analizados en cubiertas de Ascaris hembras en cultivo, durante 72 horas, a 30°C. Renovación del medio cada 4 horas. Ty rode adicionado de 0,3 gr. de glucosa por litro.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso.-gr.	15	20,52	1,36	29,63	1,85
Adenosina.-Micromoles	15	32,92	2,19	73,37	4,80
Trehalosa.-mgr./gr.	15	21,95	1,46	37,10	2,13
Glucosa.-mgr./gr.	15	14,15	0,94	21,75	0,88
Hemoglobina.-Nanomoles	15	600,80	40,00	24778,76	1600,00
Proteinas.-mgr./gr.	15	361,20	24,00	8873,06	576,00
Glucógeno libre.-mgr./gr.	15	415,10	27,60	13735,09	761,76
Glucógeno combinado.-mgr./gr.	15	795,00	53,00	43438,94	2809,00

T A B L A X

Valores de los componentes analizados en Líquido Perivisceral de Ascaris hembras en cultivo, durante 72 horas, a 30°C. Renovación del medio cada 4 horas. Tyrode adicionado de 0,3 gr. de hemoglobina de cerdo por litro.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Volumen.-mo.	25	19,43	0,77	18,00	0,59
Adenosina.-Micromoles	25	10,79	0,43	4,94	0,18
Trehalosa.-mgr./gr.	25	60,75	2,43	181,26	5,90
Glucosa.-mgr./gr.	25	10,86	0,43	11,68	0,18
Hemoglobina.-Nanomoles.	25	902,10	36,00	37411,99	1296,00
Proteinas.-mgr./gr.	25	439,90	17,50	8087,67	306,25

T A B L A X I

Valores de los componentes analizados en Organos Sexuales de Ascaris hembras en cultivo, durante 72 horas, a 30°C. Renovación del medio cada 4 horas. Tyrode adicionado de 0,3 gr. de hemoglobina de cerdo por litro.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso.-gr.	25	17,35	0,69	13,58	0,48
Adenosina.-Micromoles	25	40,24	1,60	67,06	2,56
Trehalosa.-mgr./gr.	25	35,70	1,42	68,99	2,02
Glucosa.-mgr./gr.	25	33,39	1,35	54,17	1,82
Hemoglobina.-Nanomoles.	25	117,47	4,70	1913,37	22,09
Proteinas.-mgr./gr.	25	580,80	23,20	14055,42	538,24
Glucógeno libre.-mgr./gr.	25	320,50	12,80	4546,05	163,84
Glucógeno combinado.-mgr./gr.	25	285,20	12,90	4936,98	166,41

T A B L A XII

Valores de los componentes analizados en cubiertas de Ascaris hembras en cultivo, durante 72 horas, a 30°C. Renovación del medio cada 4 horas. Tyrode adicionado de 0,3 gr. de hemoglobina del cerdo por litro.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso.-gr.	25	40,35	1,61	68,03	2,59
Adenosina.-Micromoles.	25	56,13	2,24	129,61	5,02
Trehalosa.-mgr./gr.	25	33,67	1,34	54,00	1,80
Glucosa.-mgr./gr.	25	21,41	0,85	23,04	0,72
Hemoglobina.-Nanomoles.	25	997,60	39,90	40770,36	1592,01
Proteinas.-mgr./gr.	25	562,00	22,40	12808,74	501,76
Glucógeno libre.mgr./gr.	25	487,50	19,50	12216,51	380,25
Glucógeno combinado.-mgr./gr.	25	1209,90	50,40	64444,26	2540,16

T A B L A XIII

Valores de los componentes analizados en Líquido Perivisceral de Ascaris hembras en cultivo, durante 72 horas, a 30°C. Renovación del medio dada 4 horas. Tyrode adicionado de 0,3 gr. de glucosa y 0,3 gr. de hemoglobina de cerdo por litro.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Volumen.-ml.	20	18,53	0,92	20,73	0,85
Adenosina.-Micromoles	25	7,39	0,49	3,87	0,24
Trehalosa.-mgr./gr.	15	12,17	0,81	27,34	3,42
Glucosa.-mgr./gr.	15	5,42	0,36	4,43	0,13
Hemoglobina.-Nanomoles	20	962,30	48,10	51965,11	2313,61
Proteínas.-mgr./gr.	20	516,00	25,80	13602,24	665,64

T A B L A XIV

Valores de los componentes analizados en Organos Sexuales de Ascaris hembras en cultivo, durante 72 horas, a 30°C. Renovación del medio cada 4 horas. Tyrode adicionado de 0,3 gr. de glucosa y 0,3 gr. de hemoglobina de cerdo por litro.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso.-gr.	20	15,83	0,79	14,99	0,62
Adenosina.-Micromoles	20	24,10	1,20	31,49	1,44
Trehalosa.-mgr./gr.	20	--	--	--	--
Glucosa.-mgr./gr.	20	--	--	--	--
Hemoglobina.-Nanomoles	20	420,80	21,00	13731,55	441,00
Proteinas.-mgr./gr.	20	551,90	27,50	16855,15	756,25
Glucógeno libre.-mgr./gr.	20	215,90	10,70	2782,37	114,49

T A B L A XV

Valores de los componentes analizados en cubiertas de Ascaris hembras en cultivo, durante 72 horas, a 30°C. Renovación del medio cada 4 horas. Ty rode adicionado de 0,3 gr. de glucosa y 0,3 gr. de hemoglobina de cerdo por litro.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso.-gr.	20	34,61	1,73	64,43	2,99
Adenosina.-Micromoles	20	34,48	1,72	6074,40	2,96
Trehalosa.-mgr./gr.	20	15,08	0,75	18,32	0,56
Glucosa.-mgr./gr.	20	14,80	0,74	16,64	0,55
Hemoglobina.-Nanomoles	20	743,00	37,10	29139,76	1376,41
Proteinas.-mgr./gr.	20	444,00	22,20	10005,62	492,84
Glucógeno libre.-mgr./gr.	20	336,40	16,80	6993,24	282,24
Glucógeno combinado.-mgr./gr.	20	909,00	45,40	42788,08	2061,16

T A B L A XVI

Valores de los componentes analizados en Líquido Perivisceral de Ascaris hembras en cultivo, durante 72 horas, a 30°C. Renovación del medio cada 4 horas. Tyrodé adicionado de 1 gr. de glucosa y 0,3 gr. de hemoglobina de cerdo por litro.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Volumen.-ml.	19	13,05	0,64	169,78	0,41
Adenosina.-Micromoles	19	9,44	0,49	4,93	0,24
Trehalosa.-mgr./gr.	19	88,62	4,66	455,87	21,72
Glucosa.-mgr./gr.	19	10,13	0,53	12,49	0,29
Hemoglobina.-Nanomoles	19	944,89	49,73	52069,60	2473,07
Proteínas.-mgr./gr.	19	386,02	20,31	11006,72	412,49

T A B L A XVII

Valores de los componentes analizados en Organos Sexuales de Ascaris hembras en cultivo, durante 72 horas, a 30°C. Renovación del medio cada 4 horas. Tyrode adicionado de 1 gr. de glucosa y 0,3 gr. de hemoglobina de cerdo por litro.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso.-gr.	19	12,18	0,64	148,35	0,41
Adenosina.-Micromoles	19	34,25	1,80	64,70	3,24
Trehalosa.-mgr./gr.	19	35,09	1,84	76,54	3,39
Glucosa.-mgr./gr.	19	20,12	1,05	23,32	1,10
Hemoglobina.-Nanomoles	19	0,00	0,00	0,00	0,00
Proteinas.-mgr./gr.	19	426,20	22,43	10140,78	503,11
Glucógeno libre.-mgr./gr.	19	237,41	12,49	3387,88	156,00
Glucógeno combinado.-mgr./gr.	19	301,63	33,51	12664,04	1122,92

T A B L A XVIII

Valores de los componentes analizados en cubiertas de Ascaris hembras en cultivo, durante 72 horas, a 30°C. Renovación del medio cada 4 horas. Ty rode adicionado de 1 gr. de glucosa y 0,3 gr. de hemoglobina de cerdo por litro.

	<u>Nº</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso.-gr.	19	27,14	1,42	736,58	2,02
Adenosina.-Micromoles	19	37,93	1,99	79,72	3,96
Trehalosa.-mgr./gr.	19	26,95	1,41	45,75	1,99
Glucosa.-mgr./gr.	19	16,13	0,84	15,48	0,71
Hemoglobina.-Nanomoles	19	842,23	44,32	38365,69	1964,26
Proteinas.-mgr./gr.	19	493,66	25,98	13462,62	674,96
Glucógeno libre.-mgr./gr.	19	442,47	23,28	12468,26	541,96
Glucógeno combinado.-mgr./gr.	9	511,36	56,87	30080,11	3234,20

T A B L A XIX

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales del L.P.V. de *Ascaris* hembras en cultivo en ayunas, frente a valores iniciales.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S\bar{X}₁</u>	<u>S²\bar{X}₂</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>G.L.</u>	<u>P</u>
Adenosina	1,04	0,19	0,002	0,030	0,179	1,819	33	>0,
Trehalosa	1,24	1,26	0,062	0,084	0,382	0,942	33	<0,05-
Glucosa	1,32	0,66	0,066	0,044	0,332	-1,994	33	>0,05+
Hemoglobina	18,63	248,66	0,657	15,577	4,063	-1,846	17	>0,05+
Proteínas	10,94	23,82	2,735	1,583	2,079	-2,309	17	>0,05+

T A B L A XX

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Organos Sexuales de Ascaris hembras en cultivo en ayunas frente a valores iniciales.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}_1</u>	<u>S²\bar{X}_2</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,10	0,08	0,005	0,003	0,089	1,461	48	<0,05-
Trehalosa	0,54	2,93	0,027	0,073	0,316	-2,405	58	>0,05+
Glucosa	0,21	0,45	0,010	0,011	0,145	-0,069	58	<0,05-
Hemoglobina	18,68	84,50	0,934	2,817	1,937	-3,252	48	>0,05+
Proteinas	13,12	27,71	0,656	0,924	5,351	-1,732	48	>0,05+
Glucógeno libre.	21,67	70,84	1,083	1,771	1,689	-3,671	58	>0,05+

T A B L A XXI

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de cubiertas de Ascaris hembras en cultivo en ayunas frente a valores -- iniciales.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}₁</u>	<u>S²\bar{X}₂</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,47	0,56	0,023	0,019	0,205	-0,439	48	<0,05
Trehalosa	0,70	0,015	0,035	0,001	0,190	-10,89	58	>0,05+
Glucosa	0,15	0,398	0,007	0,010	0,130	-5,846	58	>0,05+
Hemoglobina	64,83	47,81	3,241	1,594	2,199	-4,911	48	>0,05+
Proteinas	8,81	9,72	0,440	0,324	0,874	-4,817	48	>0,05+
Glucógeno libre.	83,21	275,35	4,160	6,884	3,323	-1,894	58	>0,05+
Glucógeno combinado	172,98	418,55	8,649	10,464	4,372	-2,013	58	>0,05+

T A B L A XXII

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales del L.P.V. de *Ascaris* hembras en cultivo en ayunas frente a valores en Tyrode adicionado de 0,3 gr. de glucosa por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}₁</u>	<u>S²\bar{X}₂</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,04	0,02	0,002	0,001	0,055	0	33	--
Trehalosa	1,24	2,44	0,062	0,170	0,482	2,469	33	>0,05+
Glucosa	1,32	0,14	0,066	0,001	0,259	1,809	28	>0,05+
Hemoglobina	18,63	106,55	0,657	10,650	3,363	-0,446	28	<0,05-
Proteínas	10,94	600,06	2,735	40,004	6,537	-1,627	33	>0,05+

T A B L A XXIII

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Organos Sexuales de Ascaris hembras en cultivo en ayunas frente a valores en Tyrode adicionado de 0,3 gr. de glucosa por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}₁</u>	<u>S²\bar{X}₂</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,10	0,08	0,005	0,005	0,100	3,600	33	>0,05+
Trehalosa	0,54	1,16	0,027	0,077	0,322	-1,929	33	>0,05+
Glucosa	0,21	0,27	0,010	0,018	0,167	-3,114	33	>0,05-
Hb	18,68	56,98	0,934	3,799	2,175	-6,759	33	>0,05+
Proteinas	13,12	90,01	0,656	6,001	2,580	-5,620	33	>0,50+
Glucógeno Libre.	121,67	22,75	1,083	1,517	1,612	-5,087	33	>0,05-

T A B L A XXIV

Significación de las diferencias entre las medias de los valores de cubiertas de *Ascaris* hembras en cultivo en ayunas frente a valores en Tyrode adicionado de 0,3 gr. de glucosa por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}₁</u>	<u>S²\bar{X}₂</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,47	0,09	0,023	0,006	0,170	0,941	33	<0,05-
Trehalosa	0,70	0,36	0,035	0,024	0,243	-2,099	33	>0,05+
Glucosa	0,15	0,60	0,007	0,040	0,218	-2,294	33	>0,05+
Hemoglobina	64,83	53,34	3,241	3,556	2,607	-3,145	33	>0,05+
Proteínas	8,41	14,59	0,440	0,973	1,189	-5,971	33	>0,05+
Glucógeno libre.	83,21	162,74	4,160	10,85	3,874	-2,168	33	>0,05+
Glucógeno combinado	172,98	93,14	8,649	6,209	3,855	-1,089	33	<0,05-

T A B L A XXV

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de L.P.V. de Ascaris hembra en cultivo en ayunas frente a valores en Tyrode adicionado de 0,3 gr. de hemoglobina por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}₁</u>	<u>S²\bar{X}₂</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,04	0,01	0,002	0,000	0,045	2,444	43	>0,05+
Trehalosa	1,24	1,40	0,062	0,035	0,311	4,887	43	>0,05+
Glucosa	1,32	0,29	0,066	0,012	0,279	0,215	43	<0,05-
Hemoglobina	18,63	205,68	4,657	8,227	3,589	-0,446	43	<0,05-
Proteinas	10,94	16,20	2,735	0,648	1,839	2,012	43	>0,05+

T A B L A XXVI

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Organos Sexuales de Ascaris hembras en ayunas frente a valores en Tyrode adicionado de 0,3 gr. de hemoglobina por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}₁</u>	<u>S²\bar{X}₂</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,10	0,11	0,005	0,004	0,0949	-1,791	43	>0,05+
Trehalosa	0,54	0,76	0,027	0,030	0,2387	-0,126	43	<0,05-
Glucosa	0,21	0,35	0,010	0,014	0,1549	-1,808	43	>0,05+
Hemoglobina	18,68	56,72	0,934	0,251	1,0890	-1,794	43	>0,05+
Proteinas	13,12	24,20	0,656	0,968	1,2744	-5,022	43	>0,05+
Glucógeno libre..	21,67	18,48	1,083	0,739	1,3500	-3,037	43	>0,05+

T A B L A XXVII

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Cubiertas de Ascaris hembras en ayunas frente a valores en Tyrode adicionado de 0,3 gr. de hemoglobina por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}₁</u>	<u>S²\bar{X}₂</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenílicos	0,47	0,13	0,023	0,005	0,167	0,431	43	<0,05-
Trehalosa	0,70	0,16	0,023	0,006	0,170	-7,588	43	>0,05+
Glucosa	0,15	0,20	0,007	0,008	0,122	-3,361	43	>0,05+
Hemoglobina	64,83	40,25	3,241	1,610	2,202	-3,678	43	>0,05+
Proteínas	8,81	9,164	0,440	0,367	0,898	-6,125	43	>0,05+
Glucógeno libre.	83,21	112,93	4,160	4,517	2,946	-0,102	43	<0,05-
Glucógeno combinado	172,98	114,39	8,649	5,776	3,798	0,421	43	<0,05-

T A B L A XXIX

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Organos Sexuales de Ascaris hembras en ayunas frente a valores en Tyrode adicionado de 0,3 gr. de glucosa y 0,3 gr. de hemoglobina por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}₁</u>	<u>S²\bar{X}₂</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,10	0,13	0,005	0,006	0,107	2,149	38	>0,05+
Trehalosa	0,54	0,00	0,027	0,000	0,164	8,476	38	--
Glucosa	0,21	0,00	0,010	0,000	0,100	10,700	38	--
Hemoglobina	18,68	257,62	0,934	12,881	3,717	4,735	38	>0,05+
Proteinas	13,12	975,42	0,656	48,771	7,030	-1,522	38	>0,05+
Glucógeno libre.	21,67	24,85	1,083	1,242	1,525	-1,811	38	>0,05+

T A B L A X X X

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Organos Sexuales de Ascaris hembras en ayunas frente a valores en Tyrode adicionado de 0,3 gr. de glucosa y 0,3 gr. de hemoglobina.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}₁</u>	<u>S²\bar{X}₂</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,47	0,07	0,023	0,003	0,139	1,532	38	>0,05+
Trehalosa	0,70	0,369	0,035	0,010	0,231	1,866	38	>0,05+
Glucosa	0,15	0,300	0,007	0,015	0,148	-2,027	38	>0,05+
Hemoglobina	64,83	82,87	3,241	4,143	0,950	-5,579	38	>0,05+
Proteinas	8,81	7,833	0,440	0,392	0,912	-5,811	38	>0,05+
Glucógeno libre.	83,21	70,62	4,160	3,531	2,773	0,865	38	<0,05-
Glucógeno combinado	172,98	75,19	8,649	3,759	2,211	1,538	38	<0,05-

T A B L A XXXI

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de L.P.V. de Ascaris hembras en ayunas frente a valores de Tyrode adicionado de 1.00 gr. de glucosa y 0,3 gr. de hemoglobina por litro.

	\bar{x}_1	\bar{x}_2	$S^2_{X_1}$	$S^2_{X_2}$	SD	T	GL	P
Adenosina	0,04	0,02	0,002	0,001	0,055	0,910	37	<0,05-
Trehalosa	1,24	2,38	0,062	0,125	0,251	-2,829	37	>0,05+
Glucosa	1,32	0,40	0,066	0,021	0,212	-0,189	37	<0,05-
Hemoglobina	18,63	282,23	0,657	14,854	3,768	-4,068	37	>0,05+
Proteínas	10,94	175,92	2,735	9,260	2,554	0,348	37	<0,05-

T A B L A XXXII

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de L.P.V. de *Ascaris* hembras en ayunas frente a valores en Tyrode adicionado de 1.00 gr. de glucosa y 0,3 gr. de hemoglobina por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}₁</u>	<u>S²\bar{X}₁</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,10	0,17	0,005	0,008	0,118	-3,136	37	>0,05+
Trehalosa	0,54	0,66	0,027	0,035	0,089	-5,056	37	>0,05+
Glucosa	0,21	0,12	0,010	0,006	0,128	0,956	37	<0,05-
Hemoglobina	18,68	0,00	0,934	0,000	0,966	3,519	37	--
Proteinas	13,12	32,28	0,656	1,699	1,021	-5,514	37	>0,05+
Glucógeno libre.	21,67	23,48	1,083	1,236	0,391	-9,693	37	>0,05+

T A B L A XXXIII

Significación de las diferencias entre las medias de los valores de Cuidadas de *Ascaris* hembras en ayunas frente a valores en Tyrode adicionado de 1.00 gr. de glucosa y 0,3 gr. de hemoglobina por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}₁</u>	<u>S²\bar{X}₂</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,47	0,23	0,023	0,012	0,187	1,925	37	>0,05-
Trehalosa	0,70	0,43	0,035	0,023	0,111	-4,144	37	>0,05-
Glucosa	0,15	0,11	0,007	0,006	0,039	-10,256	37	>0,05-
Hemoglobina	64,83	57,67	3,241	3,035	0,454	-27,577	37	>0,05-
Proteínas	8,81	35,41	0,440	1,864	1,518	-5,981	37	>0,05-
Glucógeno libre.	83,21	120,42	4,160	6,338	1,476	-2,764	37	>0,05-
Glucógeno combinado	172,98	121,33	8,649	13,481	4,704	-1,716	37	>0,05-

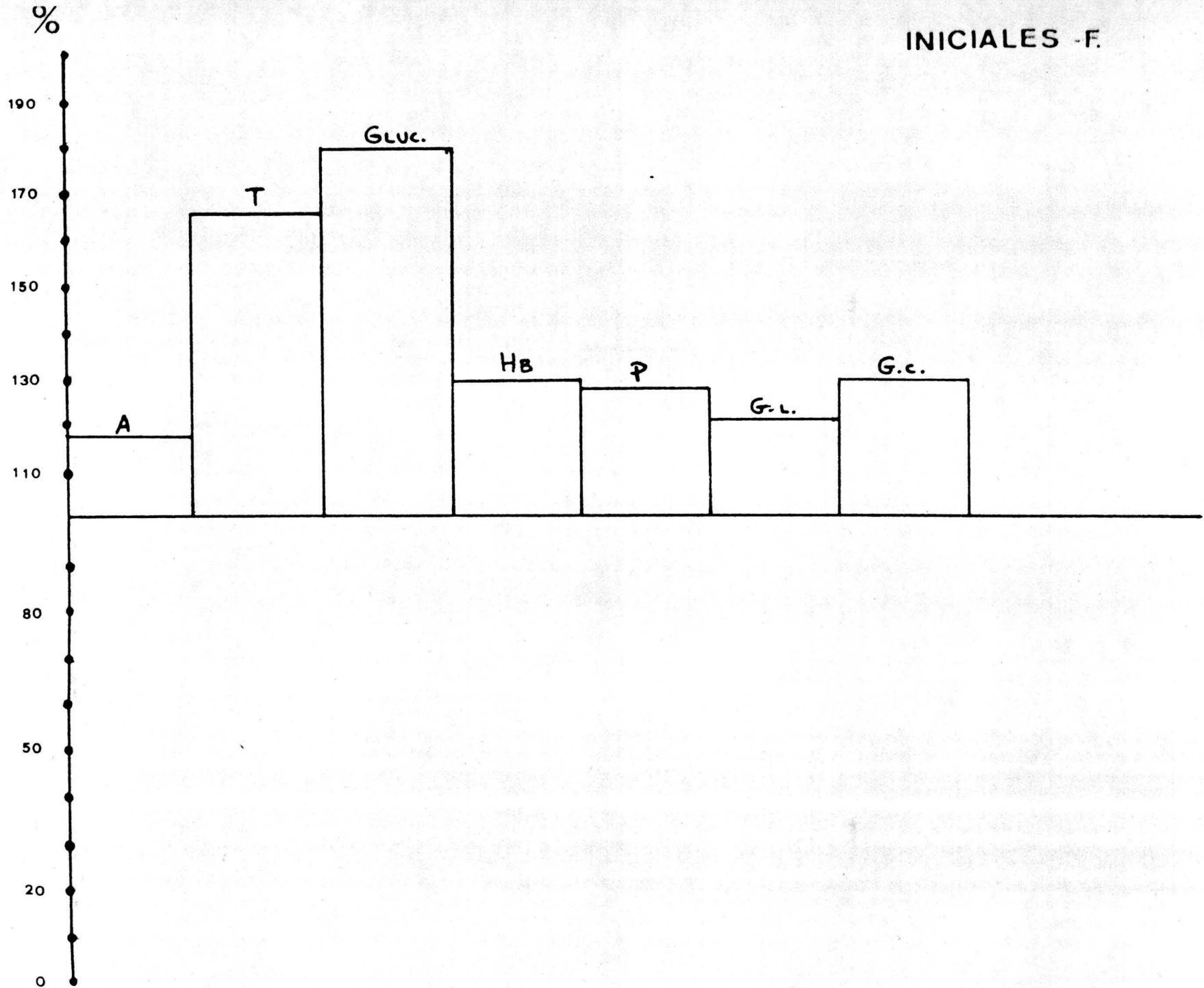
T A B L A GENERAL TEJIDOS

(RESUMEN)

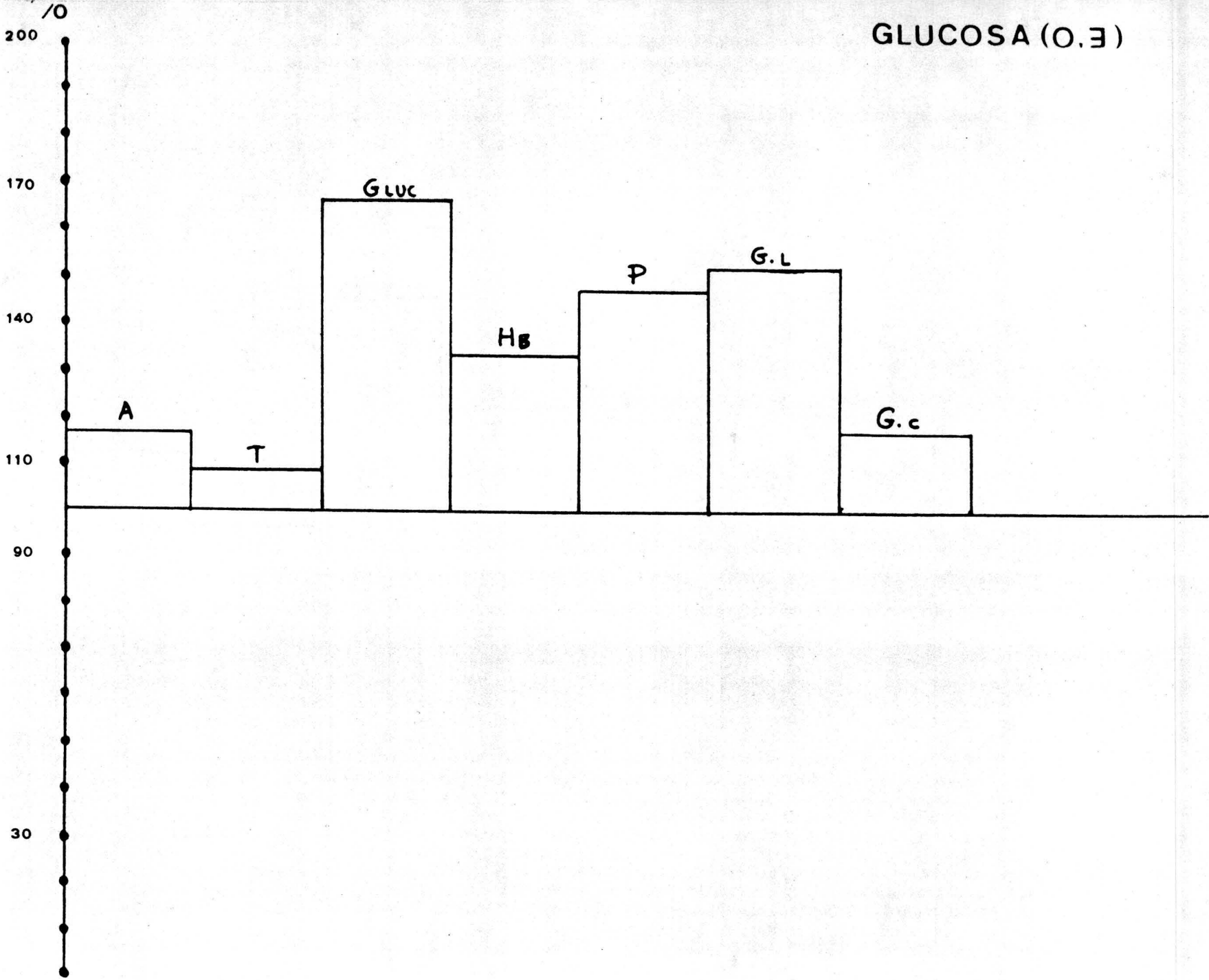
Medios: Tyrode radiofónico:	A		T		G		Hb		P		GL		G.c	
	+ % A	SE5%	+ % A	SE5%	+ % A	SE5%	+ % A	SE5%	+ % A	SE5%	+ % A	SE5%	+ % A	SE5%
Iniciales	+16,5	+	+65,9	+	+78,0	+	+29,6	+	+27,7	+	+20,7	+	+29,1	+
Glucosa	+16,5	+	+ 8,2	-	+66,0	+	+33,6	+	+47,5	+	+52,1	+	+17,8	+
Hemoglobina	-10,8	+	- 4,1	-	+44,0	+	+21,0	+	+19,0	+	+ 4,0	-	- 0,6	-
Glucosa (0,3)+ Hb (0,3)	+11,8	+	-55,1	+	+24,0	+	+86,1	+	+80,2	+	+15,3	+	+28,6	+
Glucosa (1,0) + Hb(0,3)	-17,3	+	+37,4	+	+84,0	+	+41,1	+	+38,0	+	+26,1	+	+68,0	+

REPRESENTACION GRAFICA

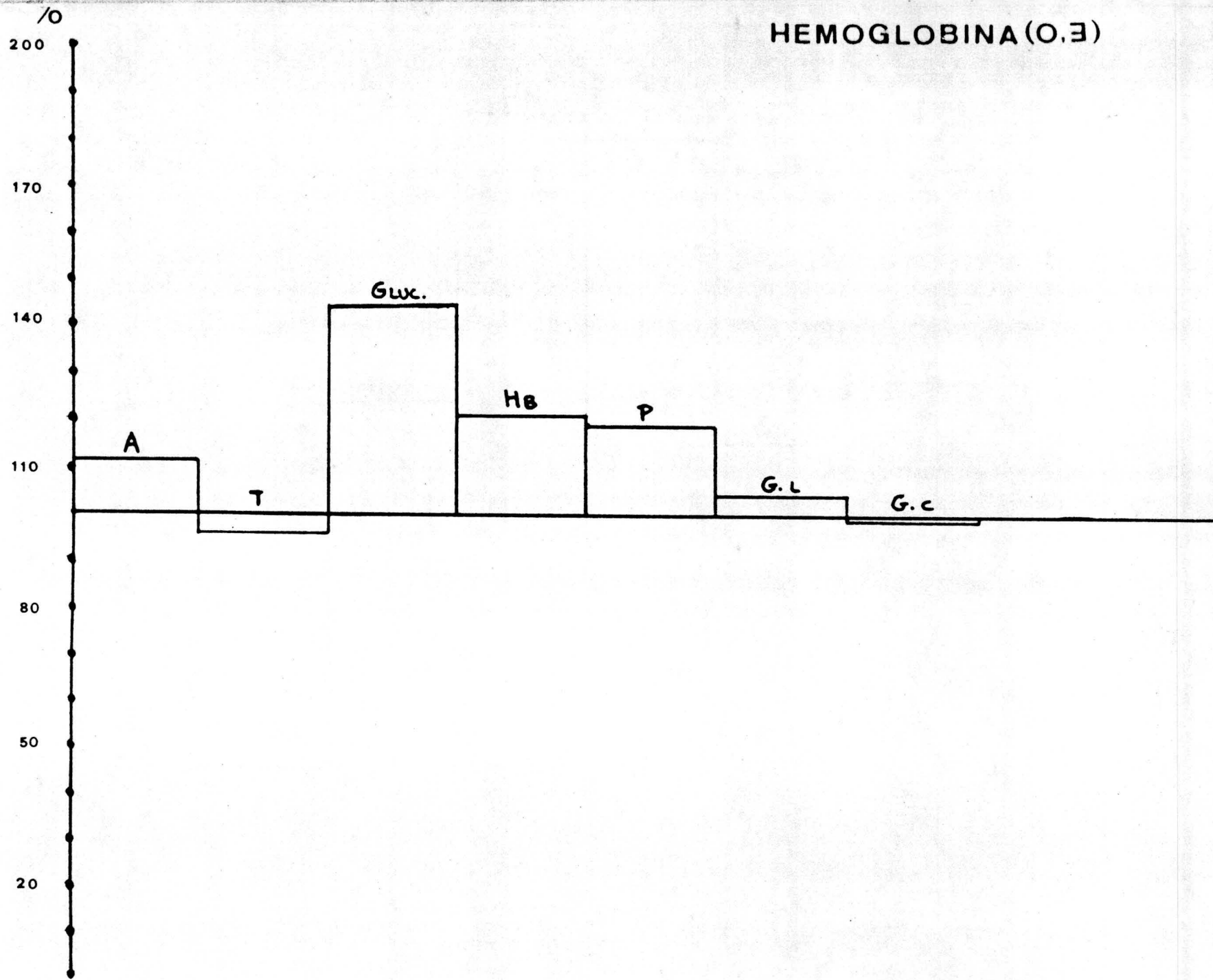
INICIALES -F.



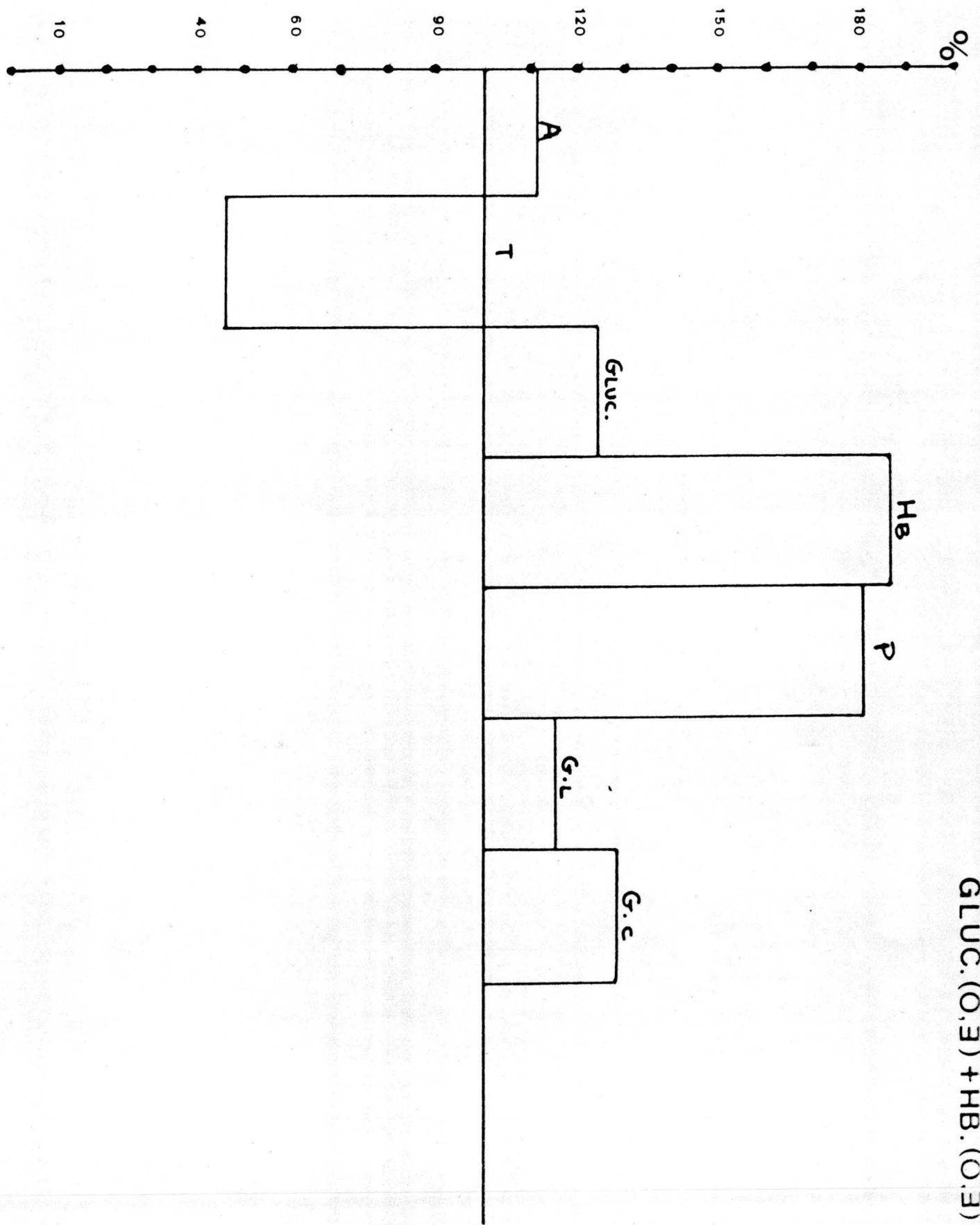
GLUCOSA (O.3)



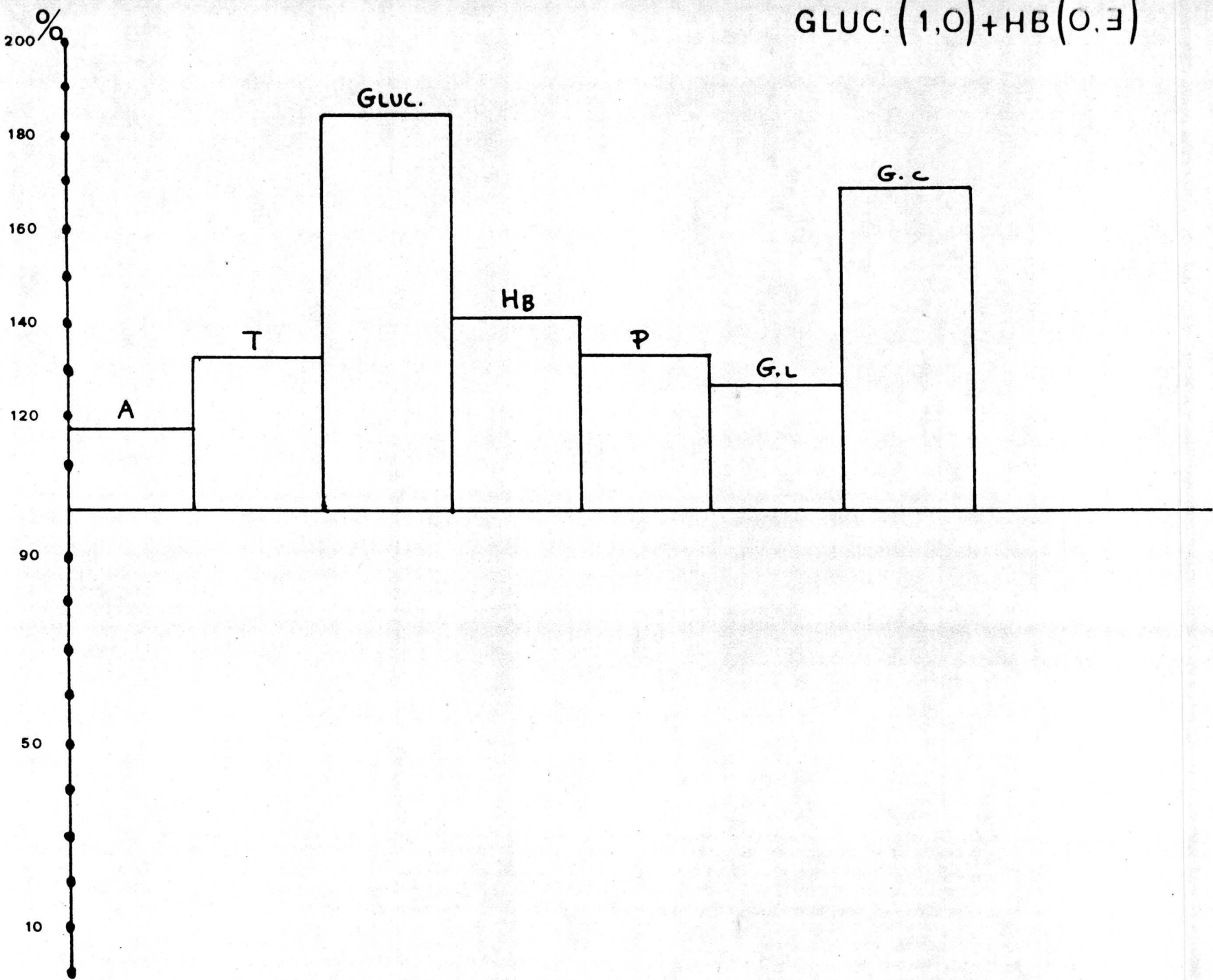
HEMOGLOBINA (O.E)



GLUC. (O.3) + HB. (O.3)



GLUC. (1.0) + HB (0.3)



D.I.2.- CON HOMOGENADOS TOTALES.

T A B L A XXXIX

Valores de los componentes analizados de Ascaris hembras recién traídos del Matadero.

	<u>Nº exp.</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>X²</u>
Peso.- gr.	10	21,29	2,13	9,25	4,67
Adenosina.-Micromoles	10	22,21	2,28	36,23	3,59
Trehalosa.-mgr./gr.	10	19,08	3,12	39,38	3,63
Glucosa.-mgr./gr.	10	20,99	2,99	47,04	4,41
Hemoglobina.-Nanomoles.	10	469,85	47,48	23620,14	2207,59
Proteínas.- mgr./gr.	10	401,88	40,19	17221,82	1615,24
Glucógeno libre.-mgr./gr.	10	158,67	16,69	2841,65	251,70
Glucógeno combinado.-mgr./gr10		347,26	35,15	12521,55	1205,83

T A B L A X L

Valores de los componentes analizados de Ascaris hembras, cultivadas durante 72 horas, a 30°C. Renovación del medio cada 4 horas, en Tyrode sin nutrientes.

	<u>N° exp.</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>X²</u>
Peso total.-gr.	15	43,21	2,74	129,64	10,43
Adenosina.-Micromoles	15	28,94	1,69	57,49	2,86
Trehalosa.-mgr./gr.	15	27,83	1,76	60,21	3,10
Glucosa.-mgr./gr.	15	29,83	1,99	62,28	6,20
Hemoglobina.-Nanomoles	15	620,00	44,28	27616,05	2855,83
Proteinas.-mgr./gr.	15	458,38	30,56	14082,48	1381,16
Glucógeno libre.-mgr./gr	10	105,05	12,24	1586,15	149,82
Glucógeno combinado.mgr./gr	15	412,19	26,85	11882,48	620,92

T A B L A X L I

Valores de los componentes analizados de Ascaris hembras cultivados durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas, en Tyrode adicionado de glucosa 0,3 gr. por litro.

	<u>N°exp.</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total.-gr.	15	50,23	3,35	195,27	11,22
Adenosina.-Micromoles	15	23,14	1,54	38,26	2,37
Trehalosa.-mgr./gr.	10	16,51	1,10	20,15	1,21
Glucosa.-mgr./gr.	15	32,40	2,16	82,14	4,67
Hemoglobina.-Nanomoles	15	684,37	45,62	32246,42	2081,18
Proteinas.-mgr./gr.	15	509,71	33,98	16969,80	1154,64
Glucógeno libre.-mgr./gr.	15	264,59	17,64	5244,14	311,17
Glucógeno combinado.-mgr./gr.	15	431,25	28,75	12090,28	826,56

T A B L A XLII

Valores de los componentes analizados de Homogenado total de *Ascaris* hembras, cultivados durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas, en Tyrode adicionado de 0,3 gr. de glucosa y 0,3 gr. de hemoglobina de cerdo por litro.

	<u>Nº exp.</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total.-gr.	10	21,29	2,13		4,54
Adenosina.-Micromoles	10	18,97	1,89	36,23	3,59
Trehalosa.-mgr./gr.	10	19,08	1,90	39,38	3,63
Glucosa.-mgr./gr.	10	20,99	2,10	47,04	4,41
Hemoglobina.-Nanomoles	10	469,85	46,98	23620,14	2207,59
Proteinas.-mgr./gr.	10	401,88	40,19	17221,82	1615,24
Glucógeno libre.-mgr./gr.	10	158,67	15,86	2841,65	251,70
Glucógeno combinado.-mgr./gr	10	347,26	34,72	12521,55	1205,83

T A B L A XLIII

Valores de los componentes analizados de Homogenado total de Ascaris hembras, cultivados durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas, en Tyrode adicionado de 1 gr. de glucosa y 0,3 gr. de hemoglobina de cerdo por litro.

	<u>N°exp.</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total.-gr.	10	25,13	2,51		6,30
Adenosina.-Micromoles	10	19,40	1,94	37,99	3,76
Trehalosa.-mgr./gr.	10	23,86	2,38	59,09	4,77
Glucosa.-mgr./gr.	10	28,71	2,87	89,02	8,24
Hemoglobina.-Nanomoles	10	486,63	48,66	23908,25	2177,16
Proteinas.-mgr./gr.	10	351,70	35,17	12635,68	1133,67
Glucógeno libre.-mgr./gr.	10	171,21	17,12	3449,89	293,27
Glucógeno combinado.-mgr/gr	10	284,00	28,40	8089,46	475,2-

T A B L A XLIV

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenado total de Ascaris hembras, en cultivo, en ayunas, frente a los valores Iniciales.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}_1</u>	<u>S²\bar{X}_2</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,07	0,041	0,007	0,220	-2,409	23	>0,05+
Trehalosa	0,80	0,69	0,053	0,069	0,349	-3,381	23	>0,05+
Glucosa	0,21	0,32	0,014	0,154	0,410	-2,707	28	>0,05+
Hemoglobina	11,60	60,40	0,773	6,040	2,610	-2,034	23	>0,05+
Proteinas	5,31	49,32	0,354	3,288	1,908	-2,579	28	>0,05+
Glucógeno libre	30,03	44,39	3,003	2,959	2,624	-1,896	23	>0,05+
Glucógeno combinado	58,23	60,72	3,882	4,048	2,816	-2,947	28	>0,05+

T A B L A XLV

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados totales de *Ascaris* hembras en cultivo, en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 0,3 gr. de glucosa por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}₁</u>	<u>S²\bar{X}₂</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,29	0,041	0,029	0,265	0,566	23	<0,05-
Trehalosa	0,80	0,22	0,053	0,022	0,274	2,409	23	>0,05+
Glucosa	0,21	1,35	0,014	0,135	0,149	-1,141	23	<0,05-
Hemoglobina	11,60	113,94	0,773	11,394	3,488	-0,384	23	<0,05-
Proteínas	5,31	38,90	0,354	3,89	2,060	-1,860	23	>0,05+
Glucógeno libre	30,03	64,09	3,003	6,409	3,068	-1,760	18	>0,05+
Glucógeno combinado	58,23	34,24	3,882	3,424	2,703	-0,703	23	<0,05-

T A B L A XLVI

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados totales de Ascaris hembras en cultivo en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 0,3 gr. de glucosa y 0,3 gr. de hemo globina de cerdo por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}_1</u>	<u>S²\bar{X}_2</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,04	0,041	0,004	0,212	-1,943	23	>0,05+
Trehalosa	0,80	0,35	0,053	0,035	0,297	-0,471	23	<0,05-
Glucosa	0,21	0,33	0,014	0,033	0,217	-0,507	23	<0,05-
Hemoglobina	11,60	171,84	0,773	17,184	4,238	-0,651	23	<0,05-
Proteinas	5,31	118,92	0,354	11,892	3,512	-4,675	23	>0,05+
Glucógeno libre	30,03	36,13	3,003	3,613	2,572	-1,907	18	>0,05+
Glucógeno combinado	58,23	51,63	3,882	5,163	3,007	-2,617	23	>0,05+

T A B L A XLVII

Significación de las diferencias entre la medias de los valores finales de Homogenados totales de Ascaris hembras, en cultivo, en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 1,00 gr. de glucosa y 0,3 gr. de hemoglobina de cerdo por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}_1</u>	<u>S²\bar{X}_2</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,04	0,041	0,004	0,212	-1,779	23	>0,05+
Trehalosa	0,80	0,26	0,053	0,026	0,281	-2,206	23	>0,05+
Glucosa	0,21	0,741	0,014	0,074	0,297	-2,963	23	>0,05+
Hemoglobina	11,60	25,43	0,773	2,543	1,821	-2,405	23	>0,05+
Proteinas	5,31	29,60	0,354	2,960	1,820	-2,533	23	>0,05+
Glucógeno libre	30,03	57,64	3,003	5,764	2,961	-2,648	18	>0,05+
Glucógeno combinado	58,25	2,65	3,882	0,265	2,036	-1,761	23	>0,05+

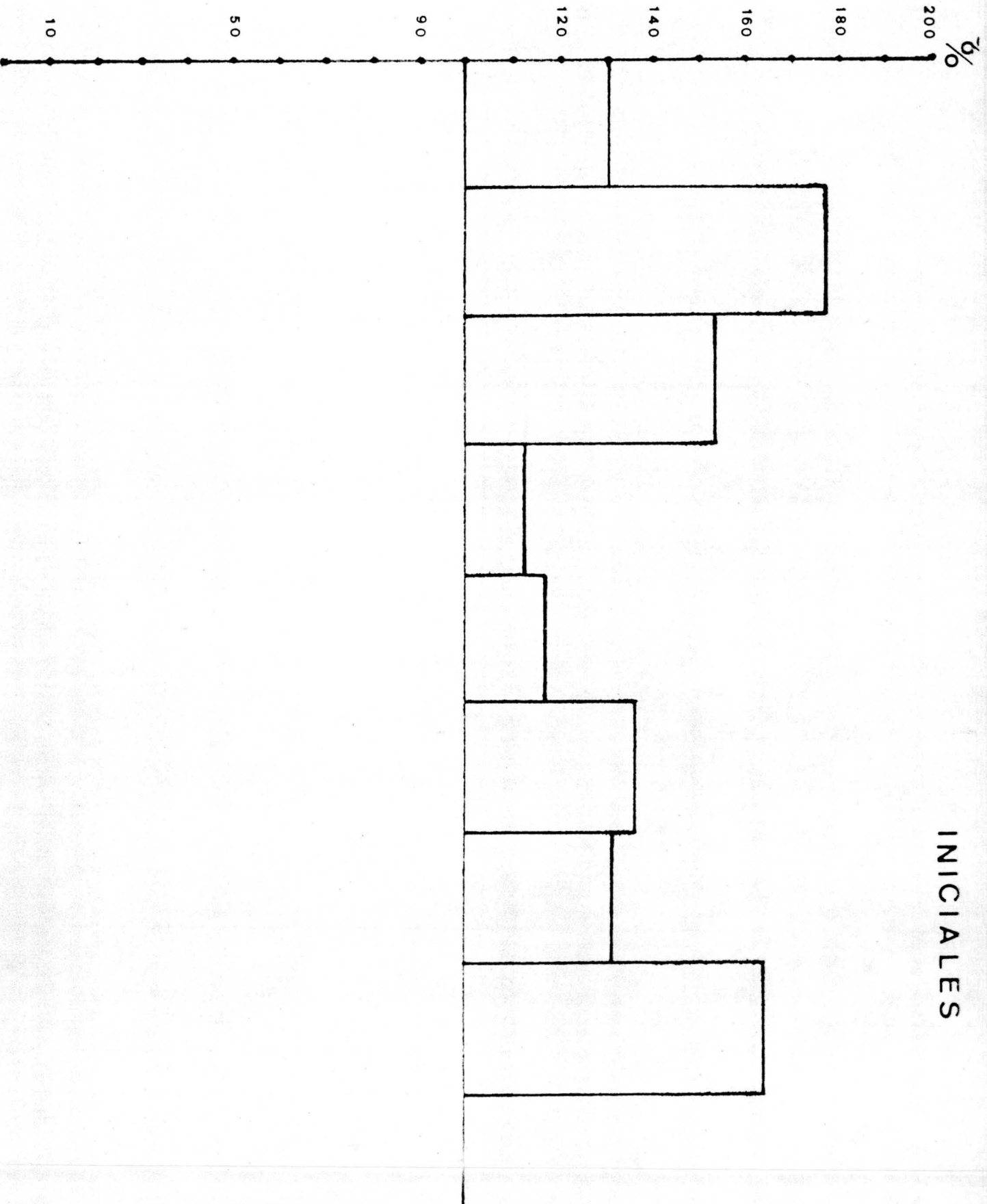
T A B L A XLVIII
(RESUMEN)

Diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados totales de Ascaris hembras en cultivo, en ayunas, y a los valores encontrados en los diversos medios.

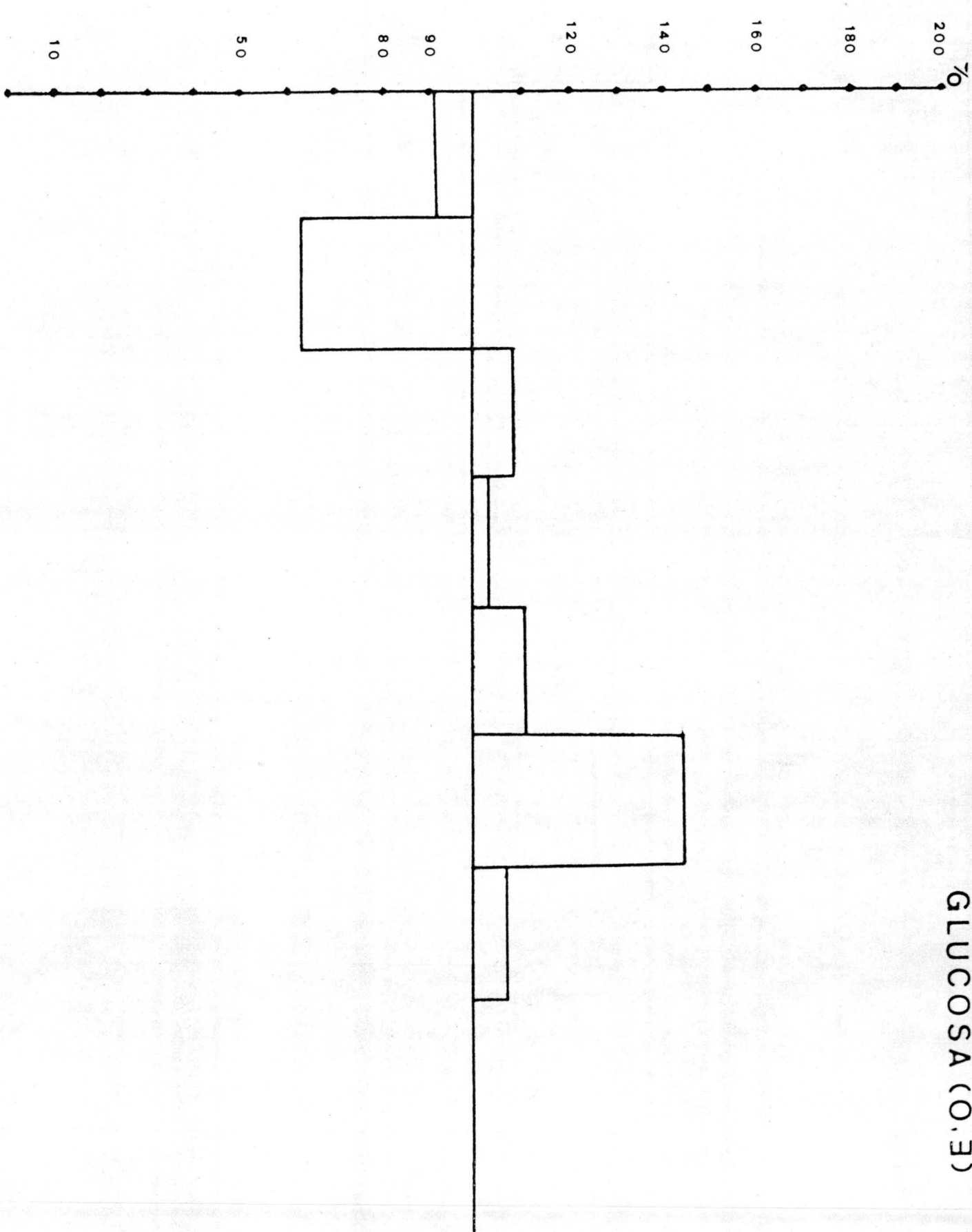
	INICIALES		GLUC (0,3)		GLUC+Hb(0,3)		GLUC(1,0)+Hb	
	+ % A	SE.5%	+ % A	SE.5%	+ % A	SE.5%	+ % A	SE.5%
Adenosina	+31,3	+	- 8,9	-	+11,8	+	+14,8	+
Trehalosa	+77,3	+	-37,5	+	+ 7,9	-	+35,2	+
Glucosa	+53,1	+	+ 8,5	-	- 5,5	-	+44,2	+
Hemoglobina	+12,0	+	+ 3,0	-	+ 6,1	-	+ 9,9	+
Proteinas	+16,1	+	+11,2	+	+31,5	+	+15,1	+
Glucógeno libre	+36,4	+	+44,1	+	+27,7	+	+39,5	+
Glucógeno combinado	+30,9	+	+ 7,1	-	+29,3	+	+22,5	+

REPRESENTACION GRAFICA.

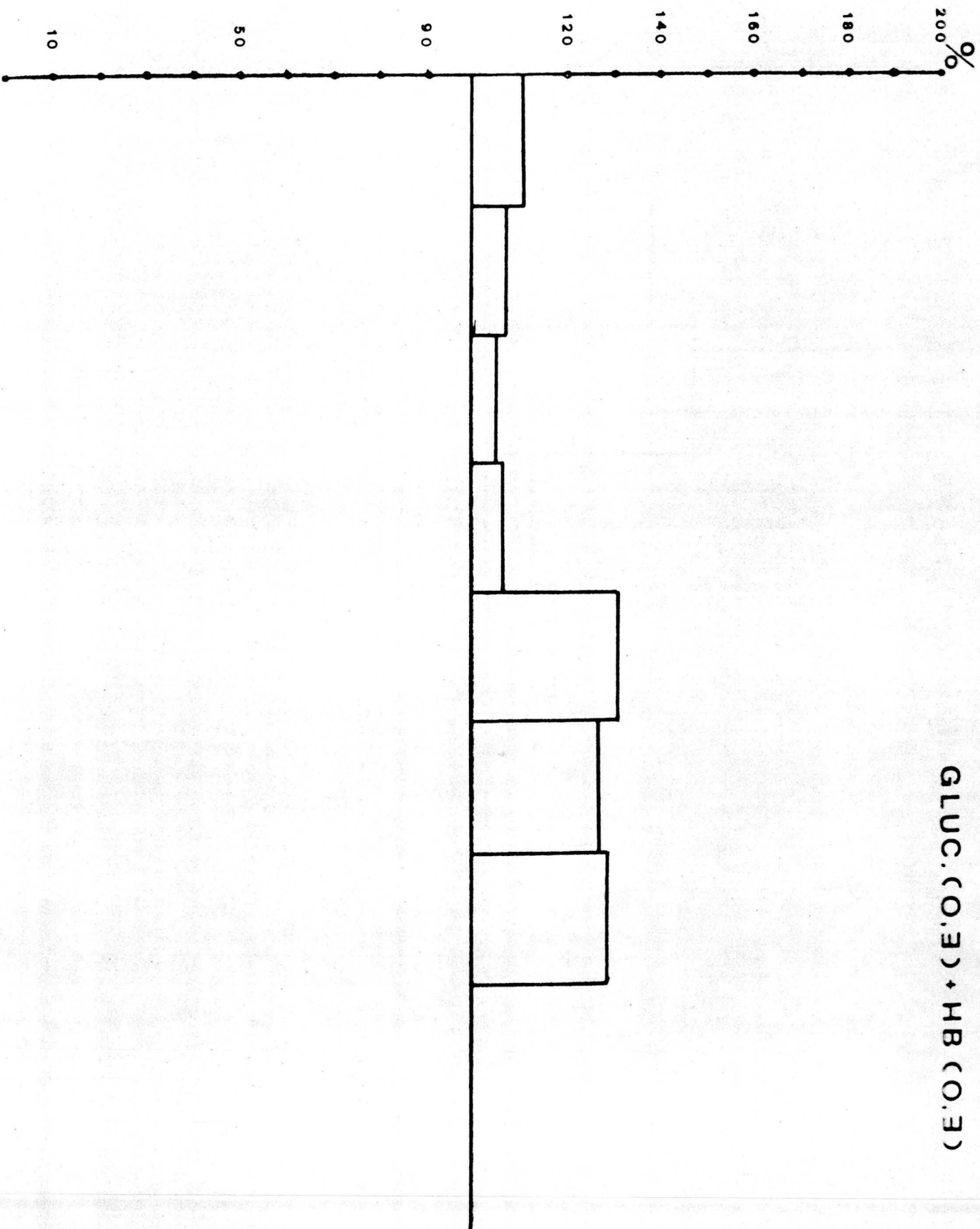
INICIALES



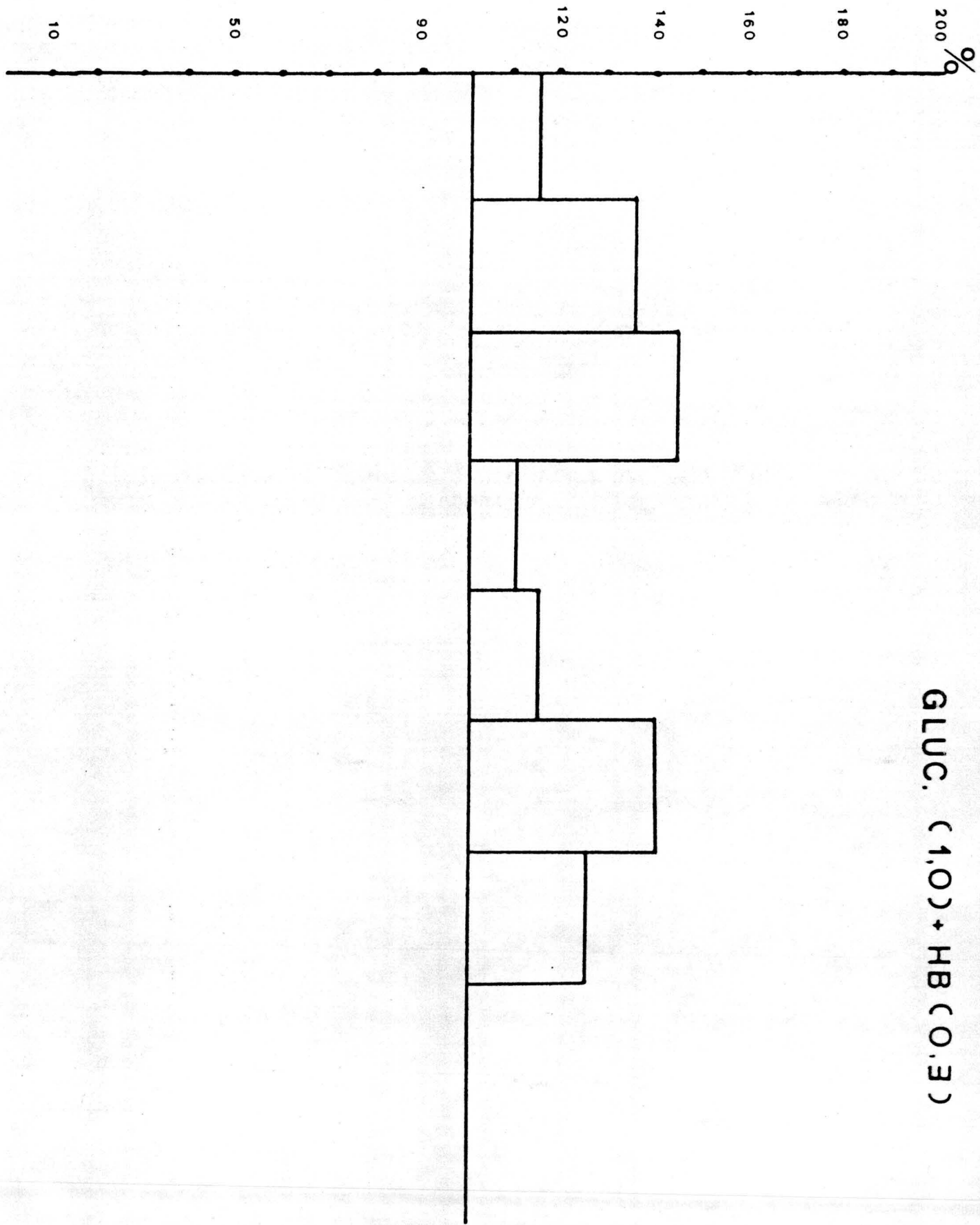
GLUCOSA (O.3)



GLUC. (O.3) + HB (O.3)



GLUC. (1,0) + HB (0,3)



D.I.3.- ADICION AL MEDIO DE INHIBIDORES DEL CRECIMIENTO
MICROBIANO.

T A B L A I L

Valores de los componentes analizados de Homogenados totales de Ascaris hembras cultivados durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas en Tyrode adicionado de 200 mg. de gantrisona por litro.

	<u>N°exp.</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total	10	37,19	3,72	146,54	13,84
Adenosina	10	17,56	1,75	31,66	3,08
Trehalosa	10	17,89	1,79	34,92	3,20
Glucosa	10	23,58	2,36	65,73	5,57
Hemoglobina	10	380,07	38,01	14613,50	1444,76
Proteinas	10	254,84	25,48	6791,98	649,23
Glucógeno libre	10	170,87	17,08	3014,38	291,90
Glucógeno combinado	10	328,95	32,89	10995,96	1081,92

T A B L A L

Valores de los componentes analizados de Homogenados totales de Ascaris hembras cultivados durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas en Tyrode adicionado de 1.0 gr. de glucosa, 0,3 de hemoglobina y 200 mg. de gantrisona por litro.

	<u>N°exp.</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total	10	34,20	3,42	122,26	11,70
Adenosina	10	21,96	2,20	49,74	4,84
Trehalosa	10	20,27	2,03	44,95	4,12
Glucosa	10	25,00	2,50	79,84	6,25
Hemoglobina	10	473,26	47,33	22689,09	2240,13
Glucógeno libre	10	174,45	17,44	3109,37	304,15
Glucógeno combinado	10	335,17	33,52	11479,83	1123,59

T A B L A L I

Valores de los componentes analizados de Homogenados totales de Ascaris hembras cultivados durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas, en Tyrode adicionado de 30 mgr. de Nistatina por litro.

	<u>N°exp</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total	10	34,04	3,40	131,00	11,59
Adenosina	10	16,95	1,69	29,27	2,87
Trehalosa	10	13,99	1,40	20,59	1,96
Glucosa	10	14,58	1,46	27,38	2,13
Hemoglobina	10	279,82	27,98	8401,43	782,88
Proteinas	10	300,99	30,10	9346,14	906,01
Glucógeno libre	10	95,52	9,55	977,73	91,20
Glucógeno combinado	10	173,20	17,32	3161,11	299,98

T A B L A L I I

Valores de los componentes analizados de Homogenados totales de *Ascaris* hembras cultivados durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas, en Tyrode adicionado de 1.0 gr. de glucosa, 0,3 de hemoglobina y 30 mgr. de Nistatina por litro.

	<u>N°exp</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>X²</u>
Peso total	10	30,82	3,08	107,04	9,50
Adenosina	10	18,17	1,82	33,29	3,30
Trehalosa	10	15,74	1,57	26,98	2,48
Glucosa	10	34,03	3,40	126,58	11,58
Hemoglobina	10	480,07	48,00	24547,66	2304,67
Proteinas	10	310,32	31,03	9865,32	962,86
Glucógeno libre	10	177,05	17,70	3838,17	313,47
Glucógeno combinado	10	238,3	23,83	5840,07	567,87

T A B L A LIII

Valores de los componentes analizados de Homogenados totales de Ascaris hembras cultivados durante 72 horas, a 3)°C. Renovación cada 4 horas, en Tyrode adicionado de 200 mgr. de sulfoguanidina.

	<u>N°exp</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total	10	35,49	3,55	129,31	12,60
Adenosina	10	19,36	1,94	38,43	3,75
Trehalosa	10	23,55	2,35	59,24	5,55
Glucosa	10	3,29	0,33	2,62	0,11
Hemoglobina	10	371,12	37,11	11933,99	1377,30
Proteinas	10	328,72	32,87	14306,03	1080,57
Glucógeno libre	10	125,13	12,51	1638,71	156,57
Glucógeno combinado	10	258,30	25,83	6746,77	667,19

T A B L A L I V

Valores de los componentes analizados de Homogenados totales de Ascaris hembras cultivadas durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas en Tyrode adicionado de 1.00 gr. de glucosa, 0,3 gr. de hemoglobina y 200 mgr. de sulfoguanidina.

	<u>N°exp</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total	10	29,49	2,95	94,75	86,97
Adenosina	10	22,15	2,21	50,15	4,91
Trehalosa	10	23,22	2,32	57,25	5,39
Glucosa	10	31,61	3,16	114,03	9,99
Hemoglobina	10	448,48	44,85	20670,00	2011,52
Proteinas	10	312,31	31,23	10073,78	975,37
Glucógeno libre	10	163,68	16,37	2739,27	267,91
Glucógeno combinado	10	362,90	36,29	13899,01	1316,96

T A B L A LV

Valores de los componentes analizados de Homogenados totales de Ascaris hembras cultivadas durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas, en Tyrode adicionado de 250 mgr. de penicilina por litro.

	<u>N°exp</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total	10	35,03	3,50	128,35	12,27
Adenosina	10	20,78	2,08	43,64	4,32
Trehalosa	10	21,51	2,15	53,84	4,62
Glucosa	10	21,38	2,14	47,54	4,57
Hemoglobina	10	583,23	58,32	35218,01	3401,57
Proteinas	10	332,92	33,29	11424,71	1108,36
Glucógeno libre	10	125,25	12,52	1635,70	156,88
Glucógeno combinado	10	372,22	37,22	1403,77	1385,48

T A B L A G E N E R A L VII

HOMOGENADOS TOTALES

(RESUMEN)

Medios: Tyrode <u>adicionado.</u>	<u>G</u>	<u>T</u>	<u>GL.</u>	<u>Gc.</u>	<u>Hb.</u>	<u>P</u>	<u>A</u>
	<u>± % A</u>	<u>± % A</u>	<u>± % A</u>	<u>± % A</u>	<u>± % A</u>	<u>± % A</u>	<u>± % A</u>
Iniciales	+53,1	+77,3	+36,4	+30,9	+12,0	+16,1	+31,3
Glucosa (0,3)	---	-37,5	+44,1	---	---	+11,2	---
GL.(0,3)+Hb(0,3)	---	---	+27,7	+29,3	+36,0	+31,5	+11,8
GL.(1,0)+Hb(0,3)	+44,2	+35,2	+39,5	+22,5	+41,9	+15,1	+14,8
Gantrisona	+18,6	---	+39,5	+22,5	<u>-14,2</u>	-16,6	---
Gant.+GL+Hb	+25,6	+15,3	+42,2	+24,8	---	---	+30,2
Nistatina	-26,6	-20,4	-21,9	-35,5	-36,8	---	---
Nist.+GL+Hb	+70,8	---	+44,6	-11,2	+18,4	---	---
Sulfoguanidina	-83,4	+33,5	---	---	-16,2	---	+14,8
Sulfog.+GL+Hb	+58,8	+31,3	+33,3	+35,2	---	---	+30,8
Penicilina	---	+22,2	---	+40,0	+31,7	---	+24,0
Pen.+GL+Hb	+14,0	+27,4	+59,4	+20,7	+21,1	+19,8	+25,4
Estreptomycin	---	-26,7	+91,6	---	- 9,4	---	---
Estrep.+GL+Hb	+13,0	---	+49,0	+28,7	+17,8	+21,7	+21,7
Kanamycin	---	-73,1	-18,5	-14,6	---	---	---
Kanamic.+GL+Hb	---	-79,0	---	-18,1	+73,1	+65,7	+40,1
Tetraciclina	-30,1	-71,0	---	-40,0	-15,9	-20,8	---
Tetrac.+GL+Hb.	+46,3	+13,1	+25,3	+13,0	---	---	+37,7

T A B L A ~~VI~~ VI

<u>Medio</u>	<u>Nutrientes</u>			<u>Antibióticos</u>	<u>Dosis mgr.</u>
	<u>Glucosa (1,0)</u>	<u>Hb(0,3)</u>	<u>litro</u>		
1	1,0		0,3	Gantrisona	200
2	--		--	"	200
3	1,0		0,3	Nistatina	30
4	--		--	"	30
5	1,0		0,3	Sulfoguanidina	200
6	--		--	"	200
7	1,0		0,3	Penicilina	250
8	--		--	"	250
9	1,0		0,3	Estreptomycin.	250
10	--		--	"	250
11	1,0		0,3	Kanamicina	250
12	--		--	"	250
13	1,0		0,3	Tetraciclina	250
14	--		--	"	250

T A B L A ~~XXVIII~~
(RESUMEN)

AYUNAS frente GLUCOSA (1,0) + Hb (0,3)

	L. P. V.		U + O		CUBIERTAS	
	+ % A	SE 5%	+ % A	SE 5%	+ % A	SE 5%
Adenosina	- 9,2	-	+29,9	+	-15,3	+
Trehalosa	+17,9	+	+32,4	+	+48,4	+
Glucosa	+ 8,2	-	- 1,9	-	+90,9	+
Hemoglobina	+44,6	+	--	-	+39,4	+
Proteinas	- 4,2	-	+33,5	+	+53,7	+
Glucógeno libre	--	-	+43,6	+	+21,2	+
Glucógeno combinado	--		--		+16,6	+

T A B L A ~~IV~~
(RESUMEN)

AYUNAS frente - GLUCOSA (0,3) + HB (0,3)

	L. P. V.		U + O		CUBIERTAS	
	+ % A	SE 5%	+ % A	SE 5%	+ % A	SE 5%
Adenosina	- 9,2	-	- 16,1	+	-26,8	+
Trehalosa	-79,5	+	--		-21,0	+
Glucosa	-26,5	+	--		+68,2	+
Hemoglobina	+39,8	+	+150,0	+	+16,7	+
Proteinas	+21,7	+	+ 63,7	+	+34,9	+
Glucógeno libre	--	-	+ 22,9	+	-12,5	-
Glucógeno combinado	--	-			+16,9	-

T A B L A ~~VI~~ **III**
(~~RESUMEN~~)

AYUNAS frente HEMOGLOBINA

	I. P. V.		U + O		CUBIERTAS.	
	+ % A	SE 5%	+ % A	SE 5%	+ % A	SE 5%
Adenosina	-20,4	+	+11,9	+	- 4,7	-
Trehalosa	-38,5	+	+ 2,2	-	-41,0	+
Glucosa	-12,2	-	+26,2	+	+93,2	+
Hemoglobina	+ 4,6	-	-44,0	+	+25,5	+
Proteinas	-17,4	+	+38,1	+	+16,7	+
Glucógeno libre	--	-	+47,1	+	+ 1,6	-
Glucógeno combinado	--	-	--	-	+ 3,3	-

T A B L A ~~II~~
(RESUMEN)

AYUNAS frente GLUCOSA.

	L. P. V.		U + 0		CUBIERTAS	
	+ % A	SE 5%	+ % A	SE 5%	+ % A	SE 5%
Adenosina	--	-	+ 25,2	+	- 6,8	-
Trehalosa	-30,1	+	+ 33,1	+	+ 53,7	+
Glucosa	-16,3	+	+ 48,6	+	+113,6	+
Hemoglobina	+ 4,4	-	+115,5	+	+ 25,8	+
Proteínas	+19,3	+	+ 86,3	+	+ 42,0	+
Glucógeno libre.	--	-	+ 94,2	+	+ 43,7	+
Glucógeno combinado	--	--	--	-	+ 8,6	-

~~144~~
T A B L A I
 (RESUMEN)

AYUNAS frente INICIALES.

	<u>L. P. V.</u>		<u>U + O</u>		<u>CUBIERTAS</u>	
	<u>+ % A</u>	<u>SE 5%</u>	<u>+ % A</u>	<u>SE 5%</u>	<u>+ % A</u>	<u>SE 5%</u>
Adenosina	+ 16,7	+	- 2,8	-	+ 3,8	-
Trehalosa	- 9,1	-	+54,7	+	+217,9	+
Glucosa	+ 67,3	+	+ 0,9	-	+172,7	+
Hemoglobina	+ 21,5	+	+15,5	+	+33,9	+
Proteinas	+ 22,6	+	+48,8	+	+24,9	+
Glucógeno libre.	--		+ 3,4	+	+22,4	+
Glucógeno combinado	--		--		+18,0	+

T A B L A LVI

Valores de los componentes analizados de Homogenados totales de Ascaris hembras cultivados durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas, en Tyrode adicionado de 1.0 gr. de glucosa, 0,3 gr. de hemoglobina y 250 mgr. de penicilina por litro.

	<u>N°exp</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total	10	33,14	3,31	111,11	10,98
Adenosina	10	21,2	2,12	30,14	9,02
Trehalosa	10	22,40	2,24	50,11	1,50
Glucosa	10	22,54	2,25	51,98	3,76
Hemoglobina	10	536,36	53,64	30208,73	2876,82
Proteinas	10	366,06	36,61	10349,91	839,84
Glucógeno libre	10	195,08	19,51	4087,10	380,64
Glucógeno combinado	10	324,27	32,42	11062,82	1051,06

T A B L A L V I I

Valores de los componentes analizados de Homogenados totales de *Ascaris* hembras cultivados durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas, en Tyrode adicionado de 250 mgr. streptomicina por litro.

	<u>N°exp</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total	10	33,91	3,39	123,55	11,49
Adenosina	10	17,52	1,75	32,39	3,06
Trehalosa	10	12,95	1,29	19,13	1,66
Glucosa	10	20,20	2,02	42,82	4,08
Hemoglobina	10	401,94	40,19	16555,02	1615,24
Proteinas	10	283,93	28,39	8280,35	805,99
Glucógeno libre	10	234,47	23,45	6135,88	549,90
Glucógeno combinado	10	245,10	24,51	6148,24	600,74

T A B L A LVIII

Valores de los componentes analizados de Homogenados totales de Ascaris hembras cultivados durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas, en Tyrode, adicionado de 1.0 gr. de glucosa, 0,3 gr. de hemoglobina y 250 mgr. de streptomycin por litro.

	<u>N°exp</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>$S(X^2)$</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total	10	33,19	3,22	116,61	11,02
Adenosina	10	20,46	2,05	42,88	4,20
Trehalosa	10	18,29	1,83	35,02	3,35
Glucosa	10	22,47	2,25	53,16	5,06
Hemoglobina	10	521,13	52,11	29875,94	2715,45
Proteinas	10	372,04	37,20	14100,04	1383,84
Glucógeno libre	10	182,39	18,24	3631,10	332,70
Glucógeno combinado	10	345,55	34,55	12030,38	1193,70

T A B L A L I X

Valores de los componentes analizados de Homogenados totales de Ascaris hembras cultivados durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas, en Tyrode adicionado de 250 mgr. de kanamicina por litro.

	<u>N°exp</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total	10	31,18	3,12	104,10	9,72
Adenosina	10	17,41	1,74	34,49	3,03
Trehalosa	10	4,94	0,49	2,63	0,24
Glucosa	10	23,62	2,36	60,18	7,01
Hemoglobina	10	426,17	42,62	19381,79	1816,21
Proteinas	10	315,79	31,58	11044,32	997,23
Glucógeno libre	10	99,84	9,98	1086,55	99,68
Glucógeno combinado	10	229,28	22,93	5496,04	525,69

T A B L A LX

Valores de los componentes analizados de Homogenados totales de Ascaris hembras cultivadas durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas, en Tyrode adicionado de 1.0 gr. de glucosa, 0,3 gr. de hemoglobina y 250 mgr. de kanamicina por litro.

	<u>N°exp</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total	10	29,36	2,94	89,65	8,62
Adenosina	10	19,79	1,98	41,97	5,62
Trehalosa	10	3,82	0,38	3,80	0,15
Glucosa	10	19,10	1,91	42,01	2,66
Hemoglobina	10	766,95	76,69	61563,64	5882,12
Proteinas	10	506,42	50,64	27092,15	2564,61
Glucógeno libre	10	120,84	12,19	1535,12	23,12
Glucógeno combinado	10	219,60	21,96	5064,41	227,50



T A B L A L X I

Valores de los componentes analizados de Homogenados totales de *Ascaris* hembras cultivados durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas, en Tyrode adicionado de 250 mgr. de tetraciclina por litro.

	<u>N°exp</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total	10	35,10	3,51		12,32
Adenosina	10	17,00	1,70	29,15	2,89
Trehalosa	10	5,10	0,51	3,68	0,26
Glucosa	10	13,90	1,39	20,69	1,93
Hemoglobina	10	372,53	37,25	1524,12	1387,56
Proteinas	10	241,96	24,20	6006,36	585,54
Glucógeno libre	10	117,70	11,77	1426,23	138,53
Glucógeno combinado	10	163,70	16,37	2863,99	267,98

T A B L A LXII

Valores de los componentes analizados de Homogenados totales de Ascaris hembras cultivados durante 72 horas, a 30°C. Renovación cada 4 horas, en Tyrode adicionado de 1.0 gr. de glucosa, 0,3 gr. de hemoglobina y 250 mgr. de tetraciclina por litro.

	<u>N°exp</u>	<u>S(X)</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S(X²)</u>	<u>\bar{X}^2</u>
Peso total	10	24,81	2,48	62,17	6,15
Adenosina	10	23,08	2,31	54,09	5,34
Trehalosa	10	19,95	1,99	42,77	3,96
Glucosa	10	29,90	2,91	91,20	8,47
Hemoglobina	10	429,86	42,99	187	1848,14
Proteinas	10	291,79	29,18	8595,26	851,47
Glucógeno libre	10	153,38	15,34	2407,95	235,32
Glucógeno combinado	10	302,38	30,24	8460,37	914,46

T A B L A L X I I I

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados totales de Ascaris hembras, en cultivo, en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 200 mgr. de gantrisona por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}₁</u>	<u>S²\bar{X}₂</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,10	0,040	0,010	0,226	-0,310	23	<0,05-
Trehalosa	0,80	0,32	0,053	0,032	0,291	-0,103	23	<0,05-
Glucosa	0,21	1,12	0,014	0,112	0,355	-9,284	23	>0,05+
Hemoglobina	11,60	18,56	0,773	1,856	1,621	3,868	23	>0,05+
Proteínas	5,31	33,13	0,354	3,313	1,915	2,653	23	>0,05+
Glucógeno libre	30,03	10,66	3,003	1,066	2,017	-2,400	18	>0,05+
Glucógeno combinado	58,23	19,64	3,882	1,964	2,418	-2,498	23	>0,05+

T A B L A LXIV

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados totales de Ascaris hembras en cultivo, en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 1,00 gr. de glucosa, hemoglobina de cerdo 0,3 gr. y gantrisona 200 mgr. por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}_1</u>	<u>S²\bar{X}_2</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,16	0,041	0,016	0,240	-2,134	23	>0,05+
Trehalosa	0,80	0,42	0,053	0,042	0,308	-4,133	23	>0,05+
Glucosa	0,21	1,93	0,014	0,193	0,455	-2,121	23	>0,05+
Hemoglobina	11,60	32,19	0,773	3,219	1,998	-1,526	23	<0,05-
Proteinas	5,31	26,78	0,354	2,678	1,741	-0,902	23	<0,05-
Glucógeno libre	30,03	7,44	3,003	0,744	1,936	-2,686	18	>0,05+
Glucógeno combinado	58,23	27,21	3,882	2,721	2,570	-2,595	23	>0,05+

T A B L A LXV

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados de Ascaris hembras, en cultivo, en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 30 mgr. de nistatina por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}₁</u>	<u>S²\bar{X}₂</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,07	0,041	0,007	0,219	0	23	
Trehalosa	0,80	0,112	0,053	0,011	0,253	1,923	23	>0,05+
Glucosa	0,21	0,68	0,014	0,068	0,285	1,860	23	>0,05+
Hemoglobina	11,60	63,56	0,773	6,356	2,670	6,105	23	>0,05+
Proteinas	5,31	31,82	0,354	3,182	1,880	0,245	23	<0,05-
Glucógeno libre	30,03	7,28	3,003	0,728	1,932	1,892	18	>0,05+
Glucógeno combinado	58,23	17,92	3,882	1,792	2,382	4,001	23	>0,05+

T A B L A LXVI

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados totales de Ascaris hembras, en cultivo, en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 1 gr. de glucosa, 0,3 gr. de hemoglobina de cerdo y 30 mgr. de nistatina por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}_1</u>	<u>S²\bar{X}_2</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,02	0,041	0,0024	0,208	-0,625	23	<0,05-
Trehalosa	0,80	0,25	0,053	0,0252	0,280	0,679	23	<0,05-
Glucosa	0,21	1,2087	0,014	0,1209	0,367	-3,842	23	>0,05+
Hemoglobina	11,60	167,144	0,773	16,7144	4,182	-1,889	23	>0,05+
Proteinas	5,31	26,232	0,354	2,623	1,725	-0,272	23	<0,05-
Glucógeno libre	30,03	78,265	3,003	7,826	3,291	-1,959	18	>0,05+
Glucógeno combinado	58,23	17,93	3,882	1,793	2,382	-1,268	23	<0,05-

T A B L A LXVII

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados de Ascaris hembras, en cultivo, en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de sulfoguanidina 200 mgr. por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}_1</u>	<u>S²\bar{X}_2</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>T</u>
Adenosina	0,61	0,097	0,041	0,010	0,225	-1,811	23	>0,05+
Trehalosa	0,80	0,43	0,053	0,043	0,310	-1,903	23	>0,05+
Glucosa	0,21	0,17	0,014	0,017	0,176	+9,432	23	>0,05+
Hemoglobina	11,60	204,25	0,77	20,604	4,604	+1,957	23	>0,05+
Proteinas	5,31	389,00	0,354	38,900	6,265	-0,369	23	<0,05-
Glucógeno libre	30,03	8,15	3,003	0,815	1,954	-0,138	18	<0,05-
Glucógeno combinado	58,23	8,32	3,882	0,832	2,171	0,470	23	<0,05-

T A B L A LXVIII

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados de Ascaris hembras, en cultivo, en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 1,00 gr. de glucosa, 0,3 gr. de hemoglobina de cerdo y 200 mgr. de sulfognanidina por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}_1</u>	<u>S²\bar{X}_2</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,13	0,041	0,013	0,323	-1,810	23	>0,05+
Trehalosa	0,80	0,37	0,053	0,037	0,300	-1,867	23	>0,05+
Glucosa	0,21	1,57	0,014	0,157	0,413	-2,832	23	>0,05+
Hemoglobina	11,60	61,74	0,773	6,174	2,636	-0,216	23	<0,05-
Proteínas	5,31	35,59	0,354	3,559	1,978	-0,339	23	<0,05-
Glucógeno libre	30,03	6,65	3,003	0,665	1,915	-2,157	18	>0,05+
Glucógeno combinado	58,23	81,04	3,882	8,104	3,449	-2,737	23	>0,05+

T A B L A LXIX

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados totales de Ascaris hembras, en cultivo, en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 250 mgr. de penicilina por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}_1</u>	<u>S²\bar{X}_2</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,05	0,041	0,005	0,2145	-1,8181	23	>0,05+
Trehalosa	0,80	0,84	0,053	0,084	0,3701	-1,7293	23	>0,05+
Glucosa	0,21	0,20	0,014	0,020	0,1844	-0,8134	23	<0,05-
Hemoglobina	11,60	113,78	0,773	11,378	3,4887	-4,0244	23	>0,05+
Proteinas	5,31	37,98	0,354	3,798	2,0376	-1,3039	23	<0,05-
Glucógeno libre	30,03	7,51	3,003	0,751	1,9375	-0,1445	18	<0,05-
Glucógeno combinado	58,23	20,27	3,88	2,027	2,4308	-4,5252	23	>0,05+

T A B L A LXX

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados totales de Ascaris hembras, en cultivo, en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 1 gr. de glucosa, 0,3 gr. de hemoglobina de cerdo y 250 mgr. de penicilina por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}_1</u>	<u>S²\bar{X}_2</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,0617	0,041	0,0062	0,2172	-0,1881	23	<0,05-
Trehalosa	0,80	0,0073	0,053	0,0007	0,2317	-2,0716	23	>0,05-
Glucosa	0,21	0,1405	0,014	0,0140	0,1673	-1,4943	23	>0,05-
Hb	11,60	159,879	0,773	15,9879	4,0940	-2,2862	23	>0,05-
Proteinas	5,31	39,9171	0,354	3,9917	2,0846	-1,5037	23	>0,05-
Glucógeno libre	30,03	31,2321	3,003	3,1232	2,4751	-2,9372	18	>0,05-
Glucógeno combinado	58,23	61,1097	3,882	6,1110	3,1612	-1,7620	23	>0,05-

T A B L A LXXI

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Hemogenados totales de Ascaris hembras, en cultivo, en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 250 mgr. de estreptomycin por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S² \bar{X}_1</u>	<u>S² \bar{X}_2</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,1922	0,041	0,0192	0,0602	-0,9967	23	<0,05-
Trehalosa	0,80	0,2964	0,053	0,0269	0,2827	1,8625	23	>0,05+
Glucosa	0,21	0,2240	0,014	0,0224	0,1908	-0,1572	23	<0,05-
Hb	11,60	44,5613	0,773	4,4561	2,2867	1,7886	23	>0,05+
Proteinas	5,31	24,3975	0,354	2,4397	1,6714	1,2983	23	<0,05-
Glucógeno libre	30,03	70,8398	3,003	7,0840	3,1760	-3,5296	18	>0,05+
Glucógeno combinado	58,23	15,6488	3,882	1,5649	2,3339	0,8569	23	<0,05-

T A B L A LXXII

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados totales de Ascaris hembras en cultivo en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 1.0 gr. de glucosa, 0,3 gr. de hemoglobina y 250 mgr. de estreptomycin por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S² X̄₁</u>	<u>S² X̄₂</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,1041	0,041	0,0104	0,2267	-1,7880	23	>0,05+
Trehalosa	0,80	0,1721	0,053	0,0172	0,2649	-0,2642	23	<0,05-
Glucosa	0,21	0,2892	0,014	0,0289	0,2071	-1,7554	23	>0,05+
Hb	11,60	302,2062	0,773	30,2206	5,5671	-1,9865	23	>0,05+
Proteinas	5,31	28,9058	0,354	2,8906	1,8013	-3,6823	23	>0,05+
Glucógeno libre	30,03	33,8118	3,003	3,3812	2,5267	-2,3746	18	>0,05+
Glucógeno combinado	58,23	10,1809	3,882	1,0181	2,2136	-3,4784	23	>0,05+

T A B L A LXXIII

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados totales de Ascaris hembras, en cultivo, en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 250 mgr. de kanamicina por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}_1</u>	<u>S²\bar{X}_2</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,4663	0,041	0,04663	0,2960	-0,1689	23	<0,05-
Trehalosa	0,80	0,0233	0,053	0,00233	0,2352	5,3997	23	>0,05+
Glucosa	0,21	0,4930	0,014	0,0493	0,2519	+1,9688	23	>0,05+
Hb	11,60	135,3805	0,773	13,5380	3,7830	0,4388	23	<0,05-
Proteinas	5,31	119,0746	0,354	11,9075	3,5016	-0,2856	23	<0,05-
Glucógeno libre	30,03	10,0163	3,003	1,0016	2,0011	1,1894	18	>0,05+
Glucógeno combinado	58,23	26,5166	3,882	2,6517	2,5561	1,7336	23	>0,05+

T A B L A LXXIV

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados totales de Ascaris hembras, en cultivo, en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 1.00 gr. de glucosa, 0,3 gr. de hemoglobina y 250 mgr. de kanamicina por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}_1</u>	<u>S²\bar{X}_2</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,3095	0,041	0,0309	0,2681	-1,8816	23	>0,05+
Trehalosa	0,80	0,2609	0,053	0,0261	0,2812	4,9076	23	>0,05+
Glucosa	0,21	0,6143	0,014	0,0614	0,2746	0,2913	23	<0,05-
Hb	11,60	305,138	0,773	30,5138	5,5935	-5,7942	23	>0,05+
Proteinas	5,31	160,782	0,354	16,0782	4,0537	-4,9535	23	>0,05+
Glucógeno libre	30,03	5,7867	3,003	0,5787	1,8925	0,0252	18	<0,05-
Glucógeno combinado	58,23	26,8882	3,882	2,6888	2,5634	1,9076	23	>0,05+

T A B L A LXXV

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados totales de Ascaris hembras, en cultivo, en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 250 mgr. de tetraciclina por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}_1</u>	<u>S²\bar{X}_2</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,0279	0,041	0,0028	0,2093	-0,0478	23	<0,05-
Trehalosa	0,80	0,1200	0,053	0,0120	0,2549	4,9339	23	>0,05+
Glucosa	0,21	0,1521	0,014	0,0152	0,1709	3,5109	23	>0,05+
Hb	11,60	151,4866	0,773	15,1487	3,9902	1,7618	23	>0,05-
Proteínas	5,31	16,7698	0,354	1,6770	1,4251	4,4628	23	>0,05+
Glucógeno libre	30,03	4,5445	3,003	0,4544	1,8594	0,2528	18	>0,05-
Glucógeno combinado	58,23	20,4690	3,882	2,0469	2,4349	4,3041	23	>0,05+

T A B L A LXXVI

Significación de las diferencias entre las medias de los valores finales de Homogenados totales de Ascaris hembras, en cultivo, en ayunas, frente a los valores en Tyrode adicionado de 1.00 gr. de glucosa, 0,3 de hemoglobina y 250 mgr. de tetraciclina por litro.

	<u>S₁²</u>	<u>S₂²</u>	<u>S²\bar{X}_1</u>	<u>S²\bar{X}_2</u>	<u>SD</u>	<u>T</u>	<u>GL</u>	<u>P</u>
Adenosina	0,61	0,0861	0,041	0,0086	0,2227	-2,7840	23	>0,05+
Trehalosa	0,80	0,3410	0,053	0,0341	0,2951	-1,7794	23	>0,05-
Glucosa	0,21	0,4660	0,014	0,0466	0,2462	-3,7368	23	>0,05+
Hb	11,60	33,611	0,773	3,3611	2,0332	0,6345	23	<0,05-
Proteinas	5,31	3,9809	0,354	0,8909	1,1158	1,2368	23	>0,05-
Glucógeno libre	30,03	6,1223	3,003	0,6122	1,9014	-1,7304	18	>0,05-
Glucógeno combinado	58,23	35,1560	3,882	3,5156	2,7198	-1,8464	23	>0,05-

T A B L A LXXVII
(RESUMEN)

	<u>Grantrisona</u>		<u>Gant+GL+Hb</u>		<u>Nistatina.</u>		<u>Nist+GL+Hb</u>		<u>Sulfoguanid.</u>		<u>Sul+GL+Hb</u>	
	<u>+ % A</u>	<u>SE.5%</u>	<u>+ % A</u>	<u>SE.5%</u>	<u>+ % A</u>	<u>SE.5%</u>	<u>+ % A</u>	<u>SE.5%</u>	<u>+ % A</u>	<u>SE.5%</u>	<u>+ % A</u>	<u>SE.5%</u>
Adenosina	+ 3,6	-	+30,2	+	-	-	+ 7,7	-	+14,8	+	+30,8	+
Trehalosa	+ 1,7	-	+15,3	+	-20,4	+	-10,8	-	+33,5	+	+31,8	+
Glucosa	+18,6	+	+25,6	+	-26,6	+	+70,8	+	-83,4	+	+58,8	+
Hemoglobina	-14,2	+	+ 6,9	-	-36,8	+	+18,4	+	-16,2	+	+ 1,3	-
Proteinas	-16,6	+	+ 5,2	-	- 1,5	-	+ 1,5	-	+ 7,6	-	+ 2,2	-
Glucógeno libre	+39,5	+	+42,2	+	-21,9	+	+44,6	+	+ 2,2	-	+33,3	+
Glucógeno combinado	+22,5	+	+24,8	+	-35,5	+	-11,2	+	- 3,8	-	+35,2	+

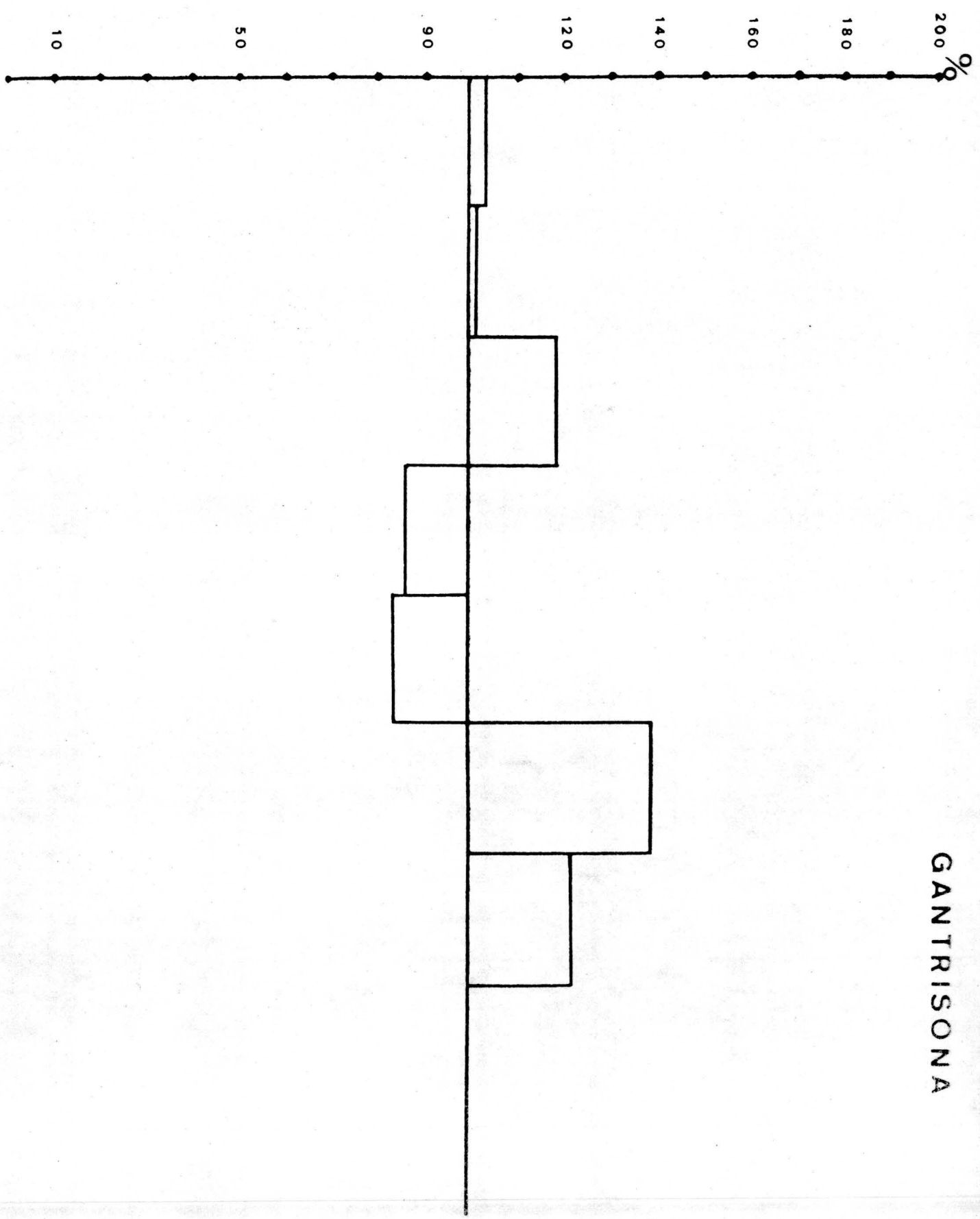
T A B L A LXXVII

(RESUMEN)

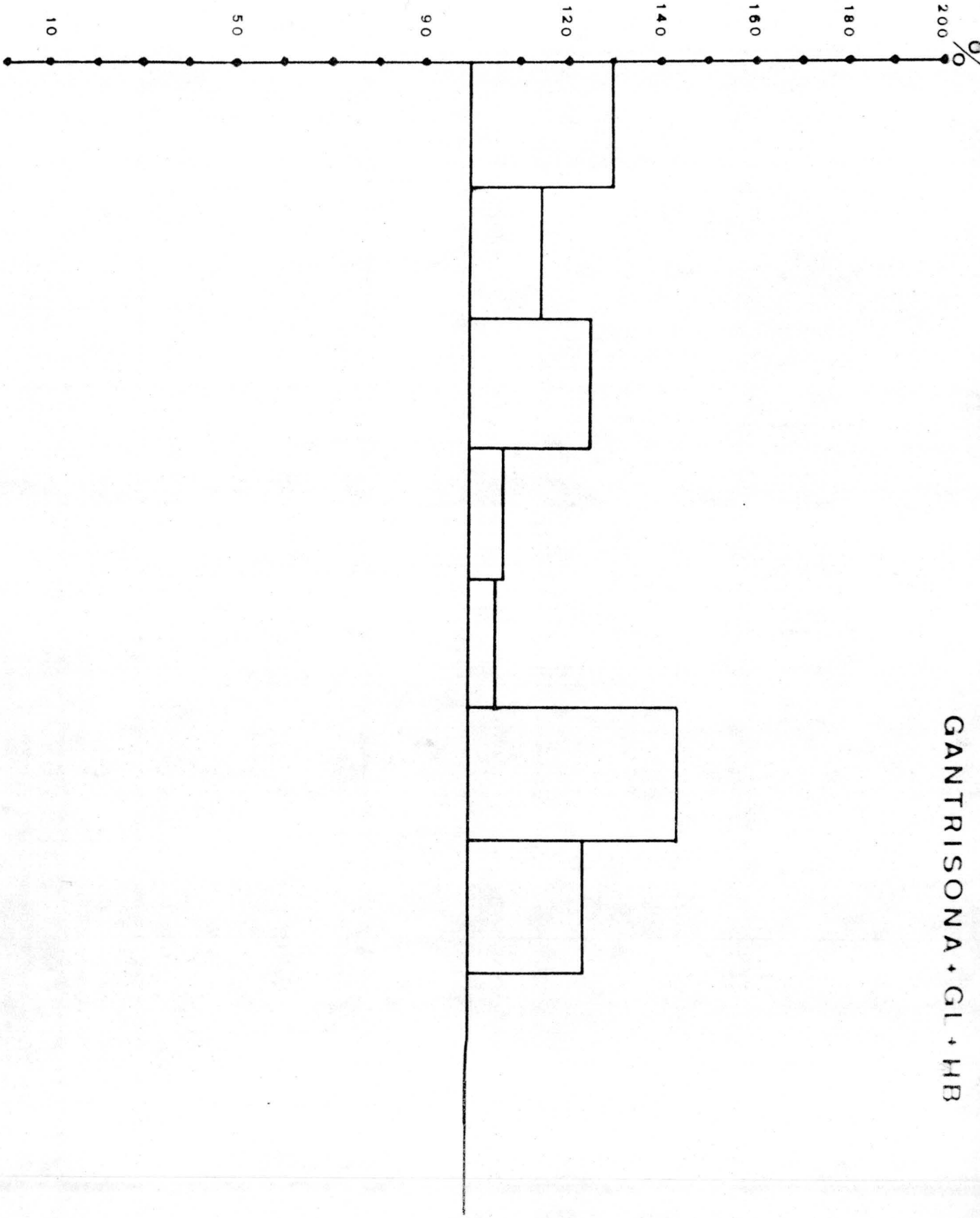
	<u>Penicilina</u>		<u>Pen.+GL+Hb</u>		<u>Estreptom.</u>		<u>Est.+GL+Hb</u>		<u>Kanamicina</u>		<u>Kan.+GL+Hb</u>		<u>Tetracicl.</u>		<u>Tetr+GL+Hb</u>	
	<u>+ % A</u>	<u>SE5%</u>	<u>+ % A</u>	<u>SE5%</u>	<u>+ % A</u>	<u>SE5%</u>	<u>+ % A</u>	<u>SE5%</u>	<u>+ % A</u>	<u>SE5%</u>	<u>+ % A</u>	<u>SE5%</u>	<u>+ % A</u>	<u>SE5%</u>	<u>+ % A</u>	<u>SE5%</u>
Adenosina	+24,0	+	+25,4	+	+ 3,5	-	+21,7	+	+ 2,9	-	+40,1	+	+ 0,6	-	+37,7	+
Trehalosa	+22,2	+	+27,4	+	-26,7	+	+ 4,0	-	-73,1	+	-79,0	+	-71,0	+	+13,1	+
Glucosa	+ 7,5	-	+14,0	+	+ 1,5	-	+13,0	+	-18,6	-	- 4,0	-	-30,1	+	+46,3	+
Hemoglobi- na	+31,7	+	+21,1	+	- 9,4	+	+17,8	+	- 4,0	-	+73,1	+	-15,9	+	- 3,0	-
Proteinas	+ 8,9	-	+19,8	+	- 7,1	-	+21,7	+	+ 3,4	-	+65,7	+	-20,8	+	- 4,5	-
Glucógeno libre	+ 2,4	-	+59,4	+	+91,6	+	+49,0	+	-18,5	+	- 0,4	-	- 4,0	-	+25,3	+
Glucógeno combinado	+40,0	+	+20,7	+	- 8,7	-	+28,7	+	-14,6	+	-18,1	+	-40,0	+	+13,0	+

REPRESENTACION GRAFICA

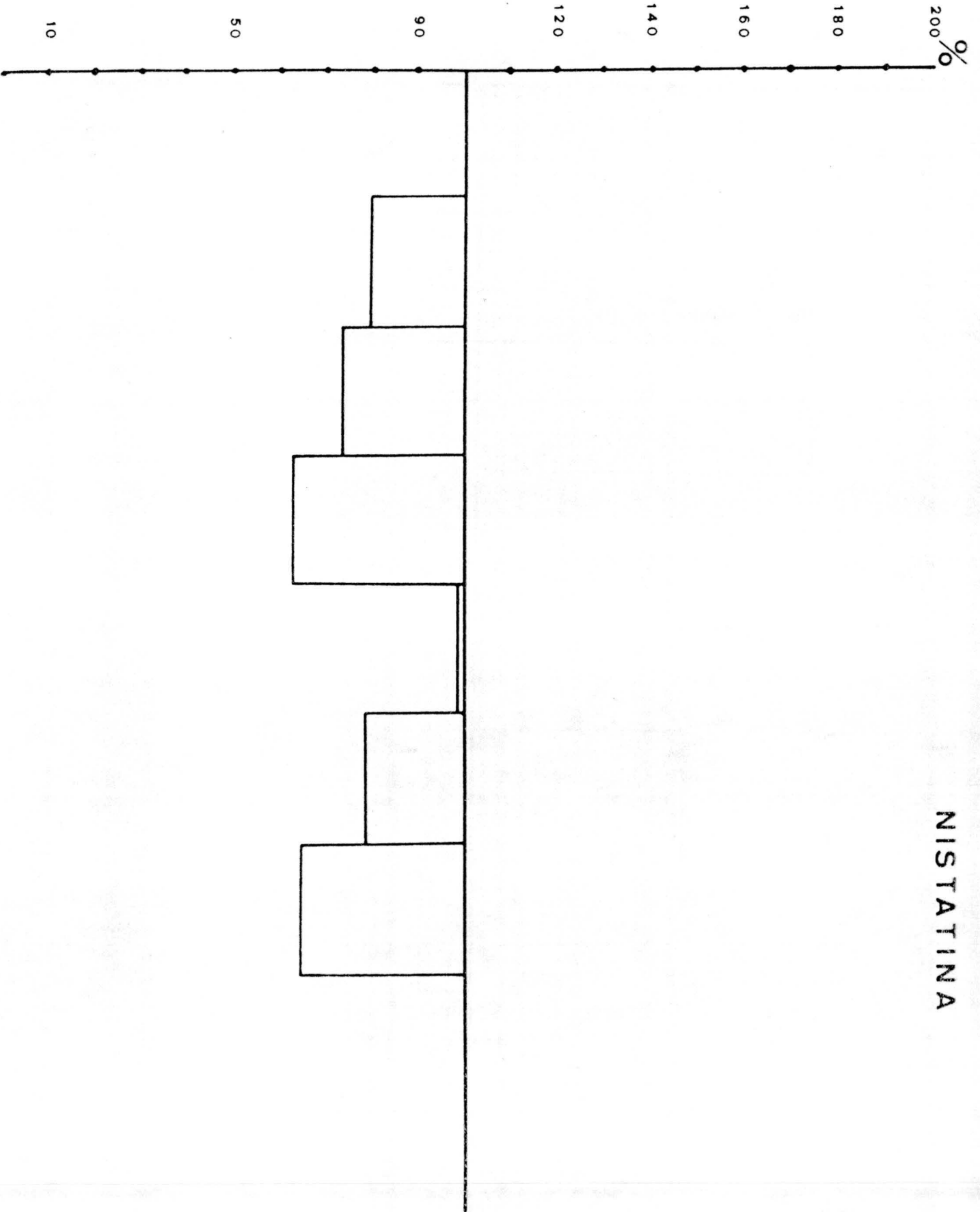
GANTRISONA

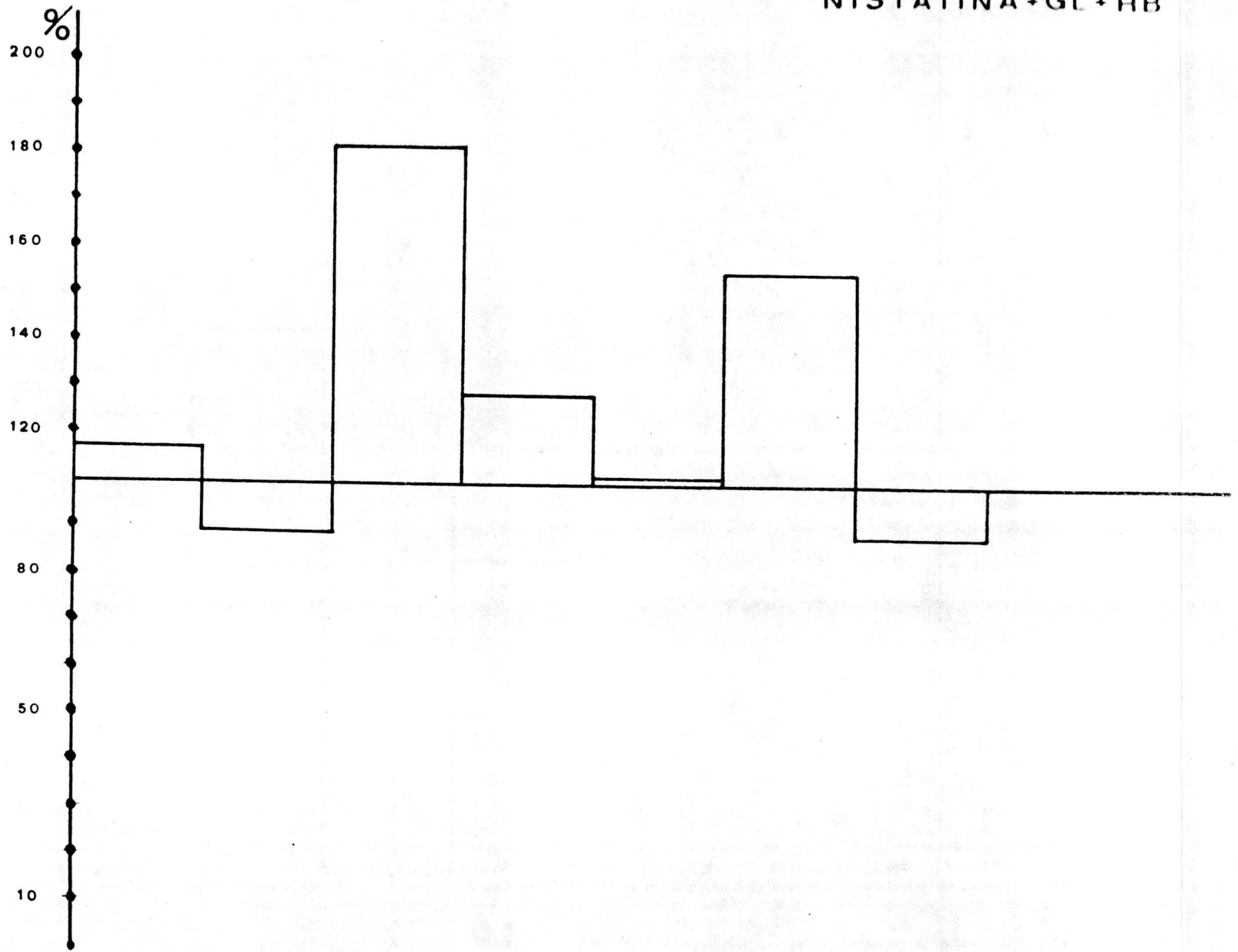


GANTRISONA + GL + HB

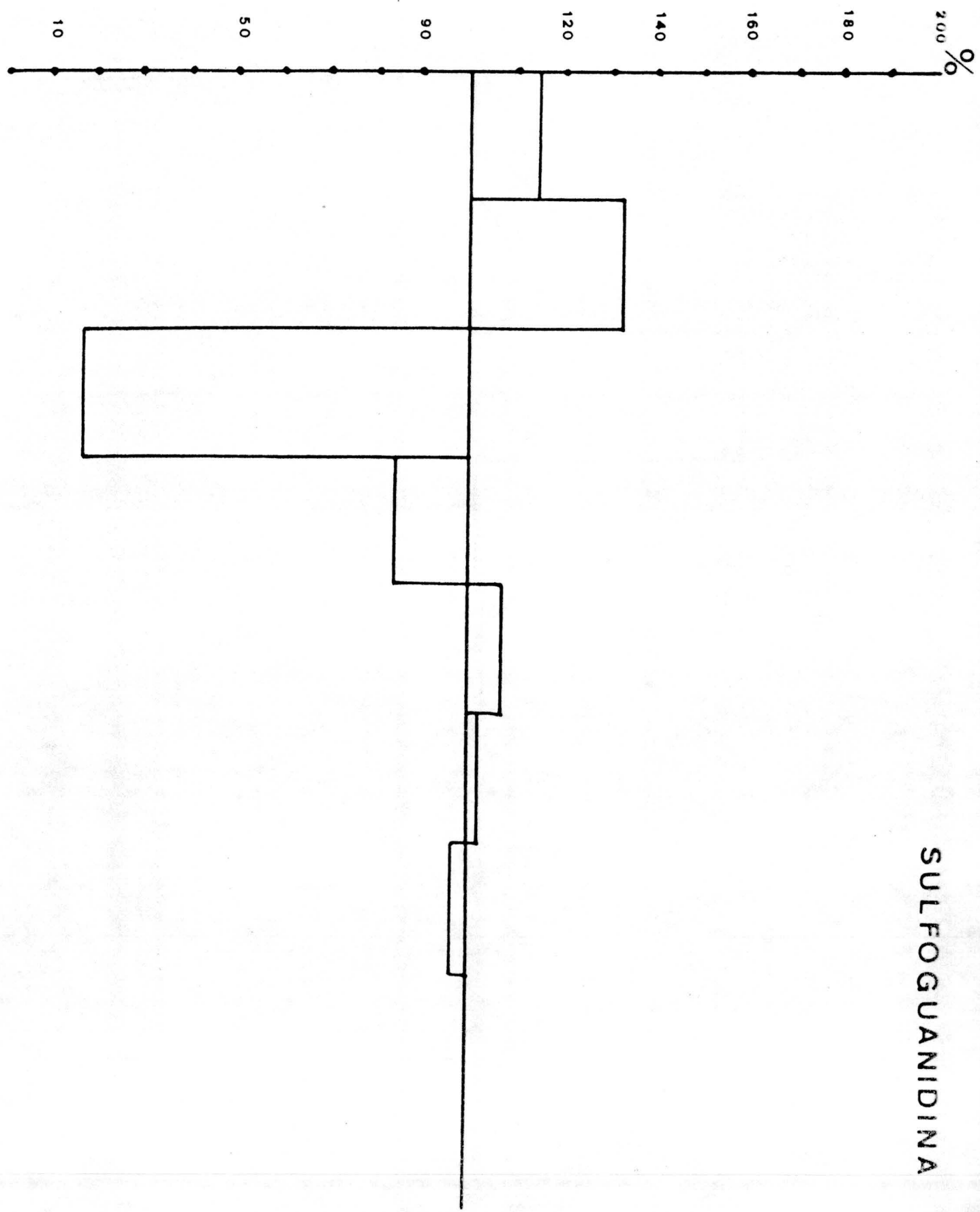


NISTATINA

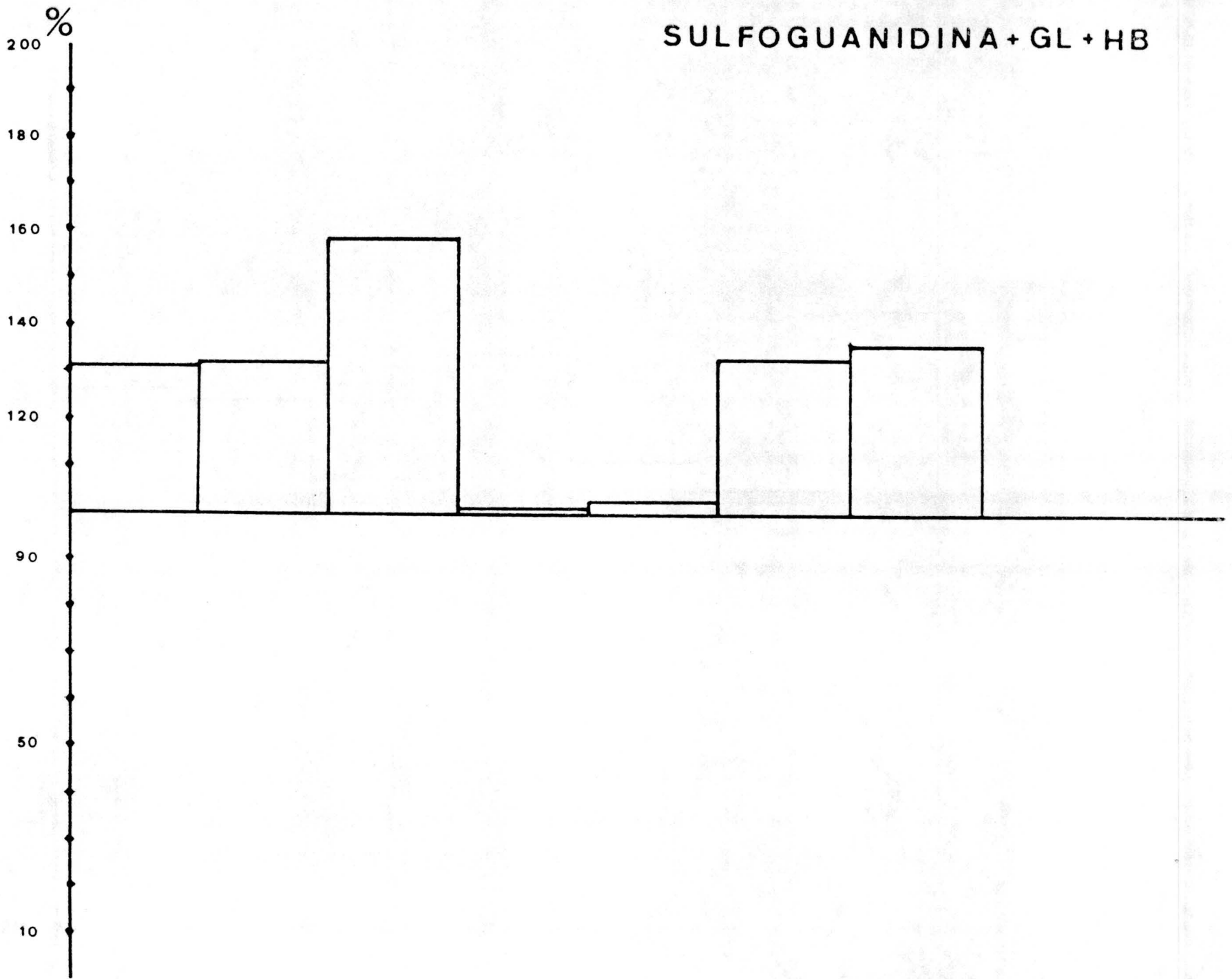




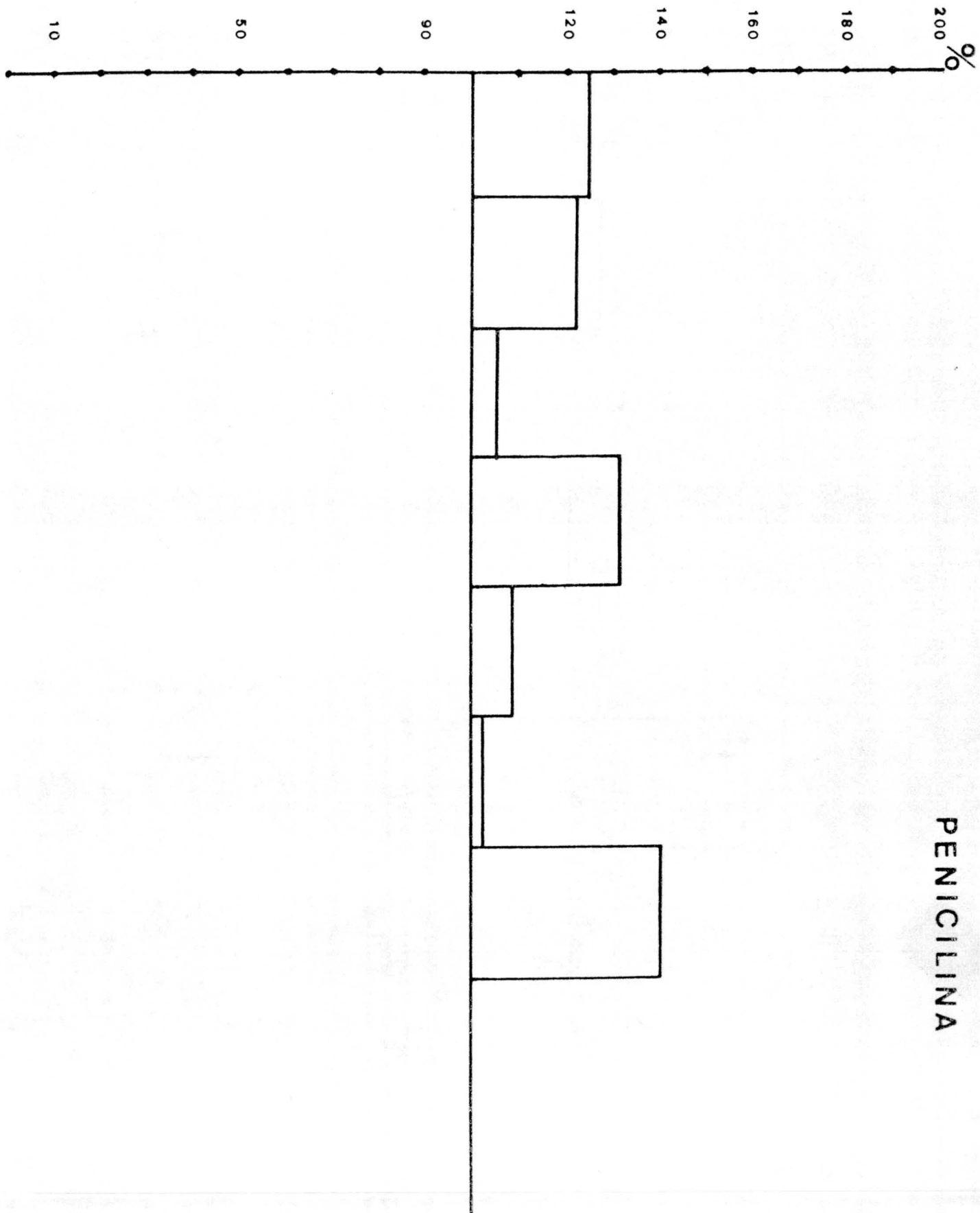
SULFOGUANIDINA



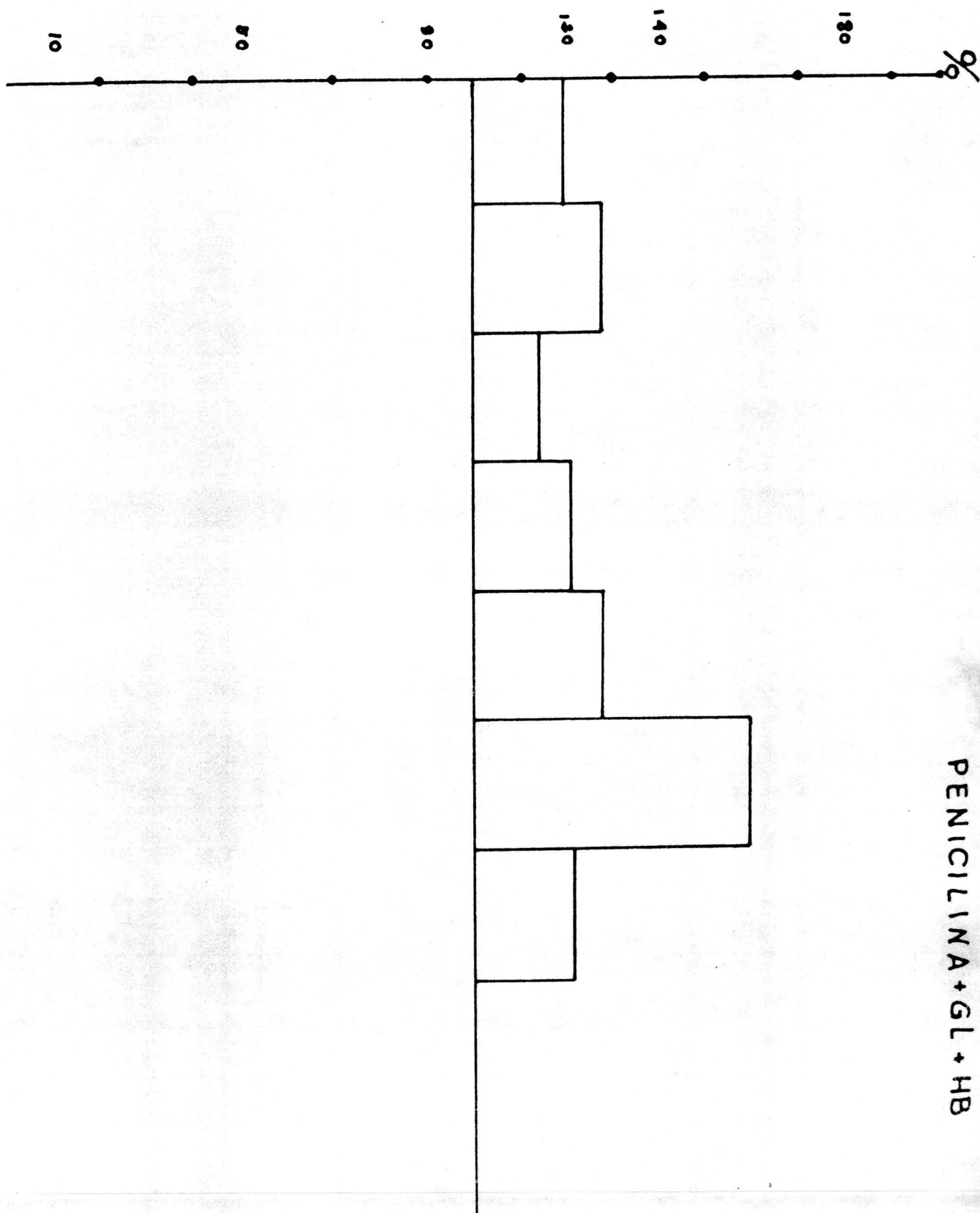
SULFOGUANIDINA + GL + HB



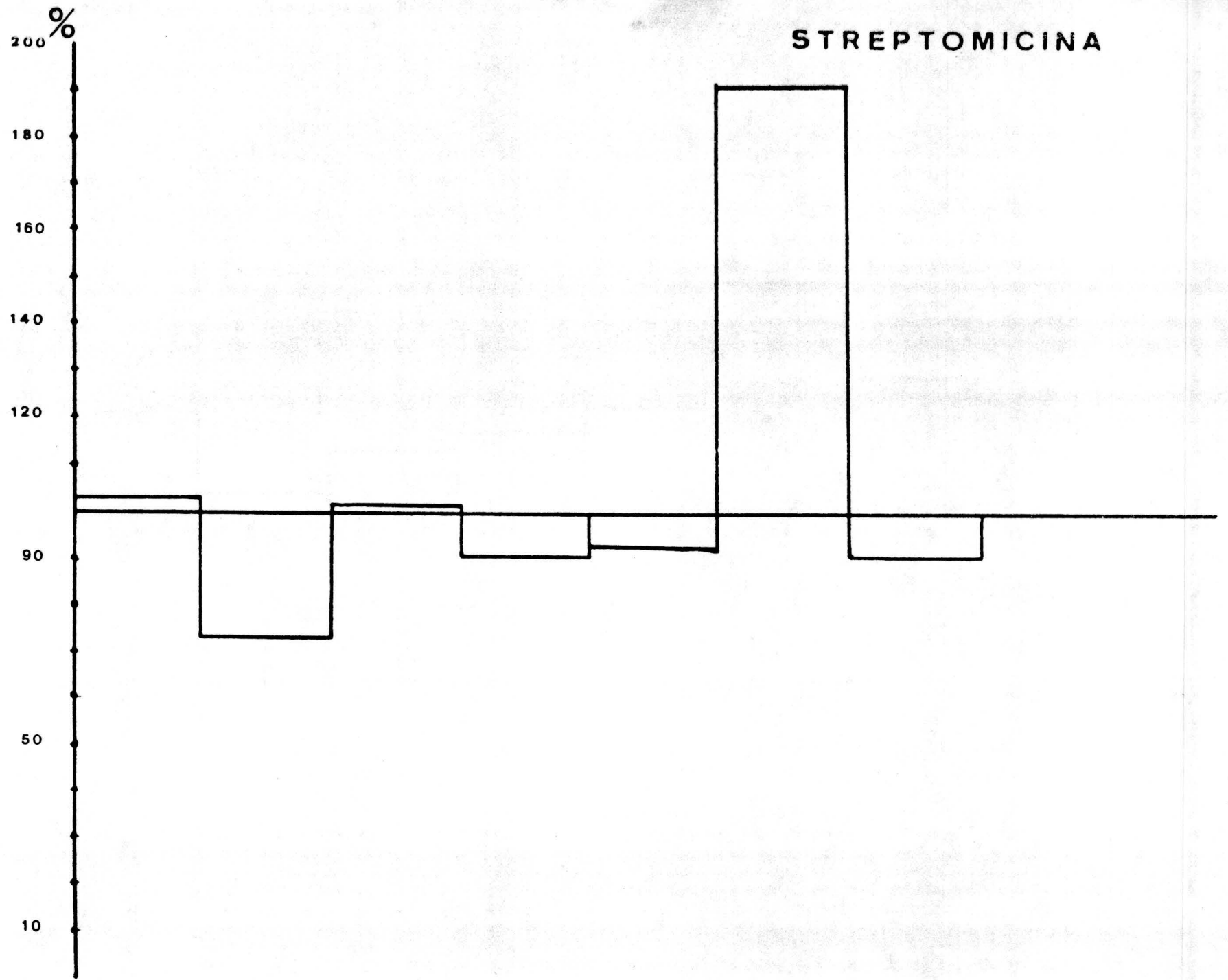
PENICILINA



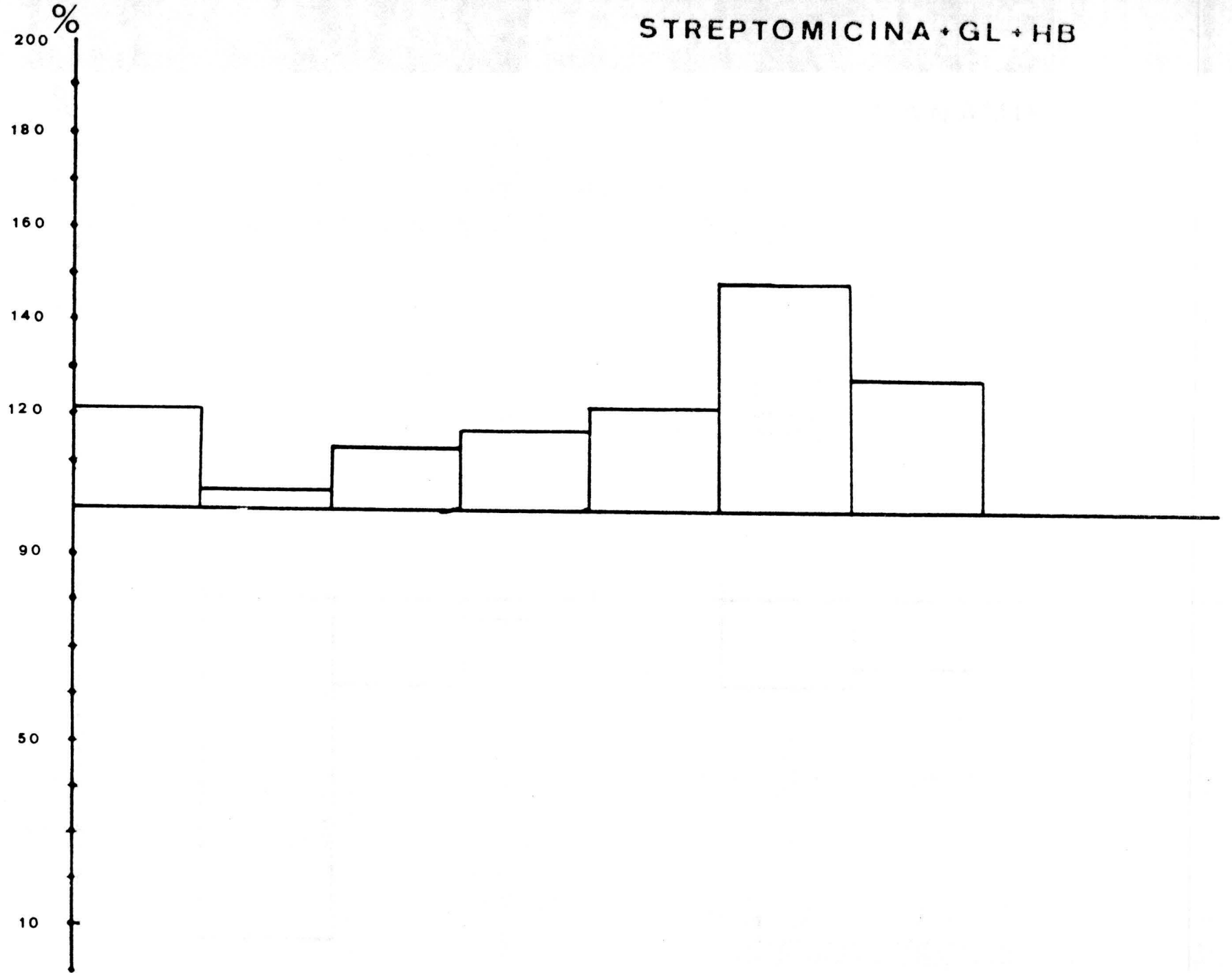
PENICILINA + GL + HB



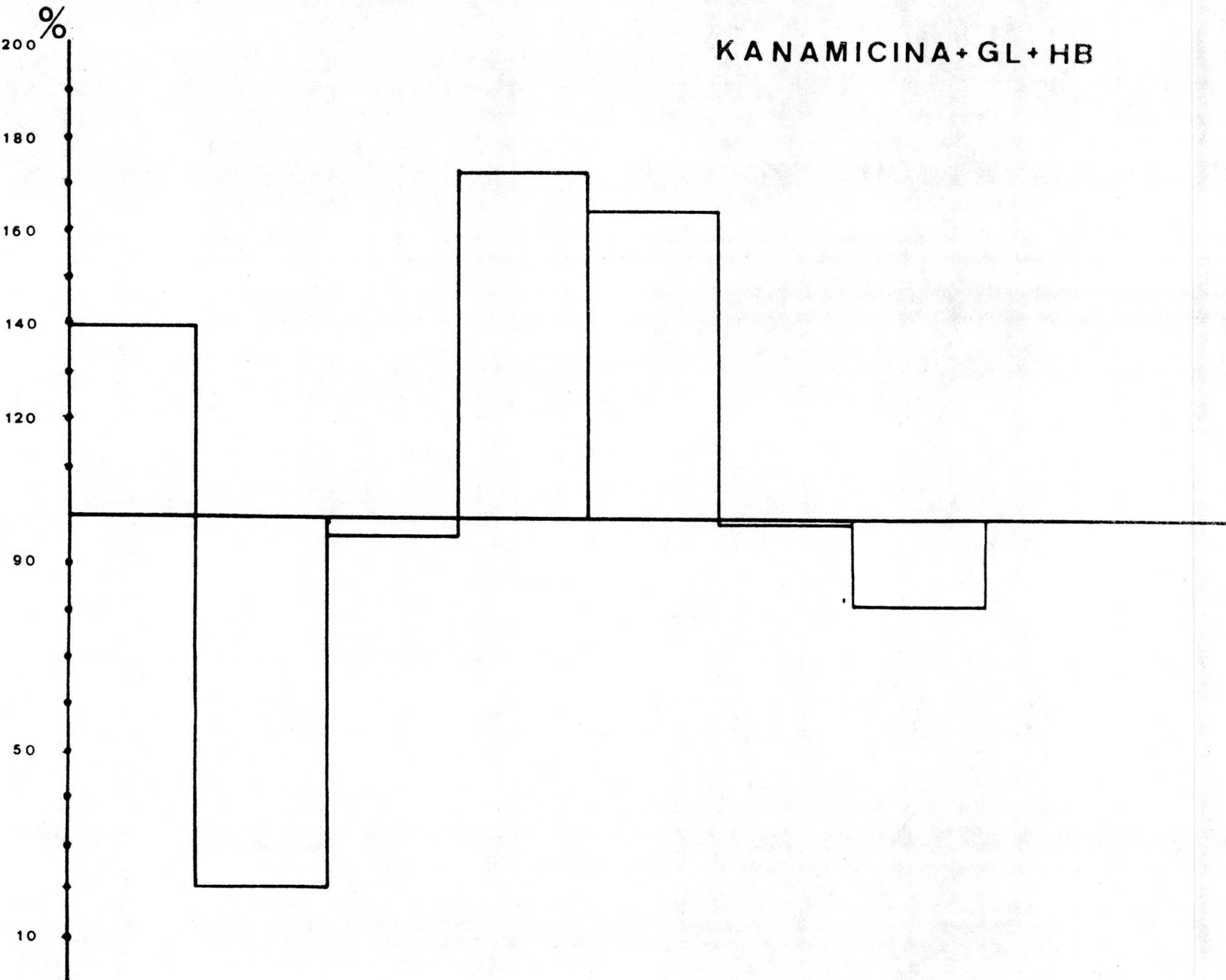
STREPTOMICINA



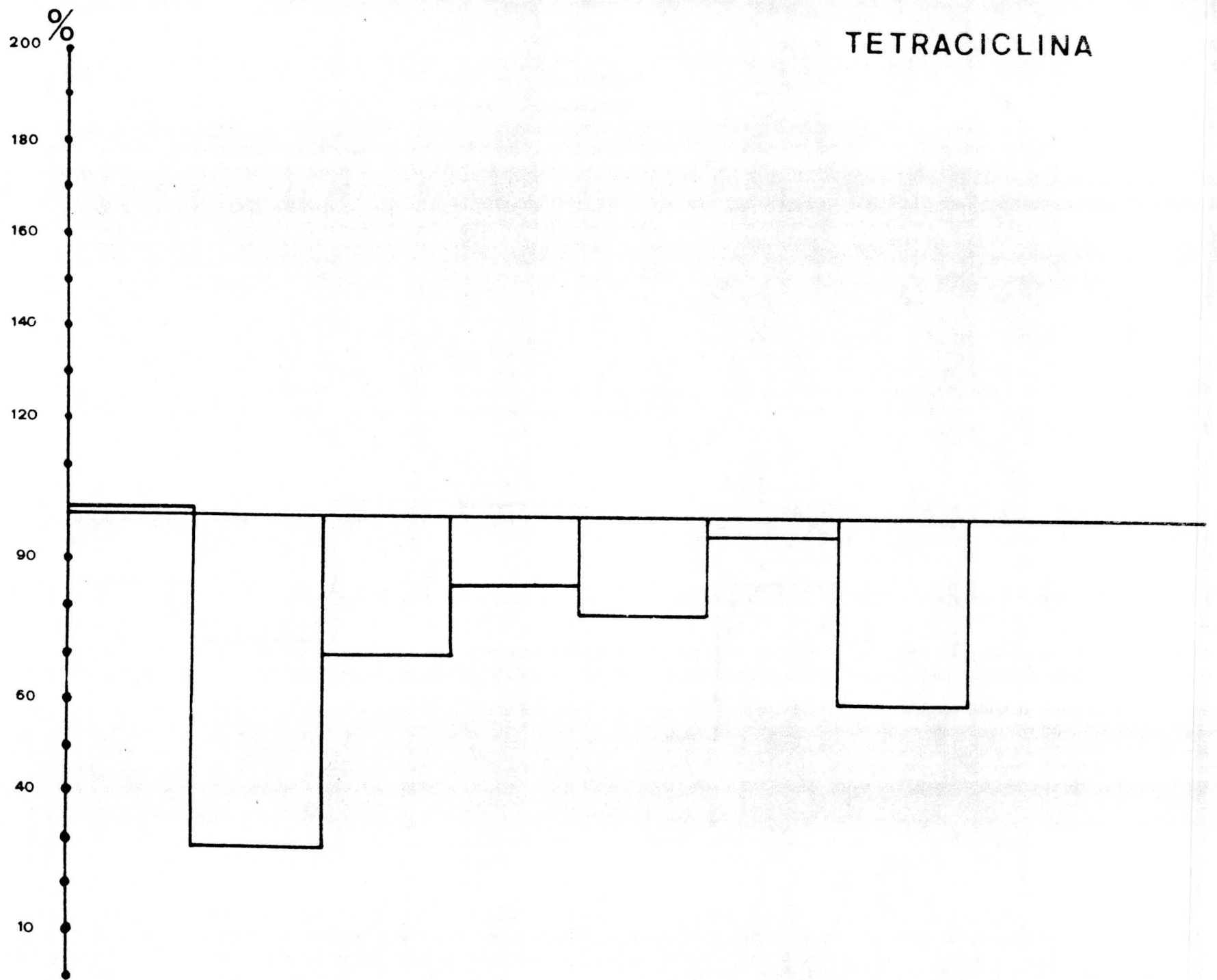
STREPTOMICINA + GL + HB



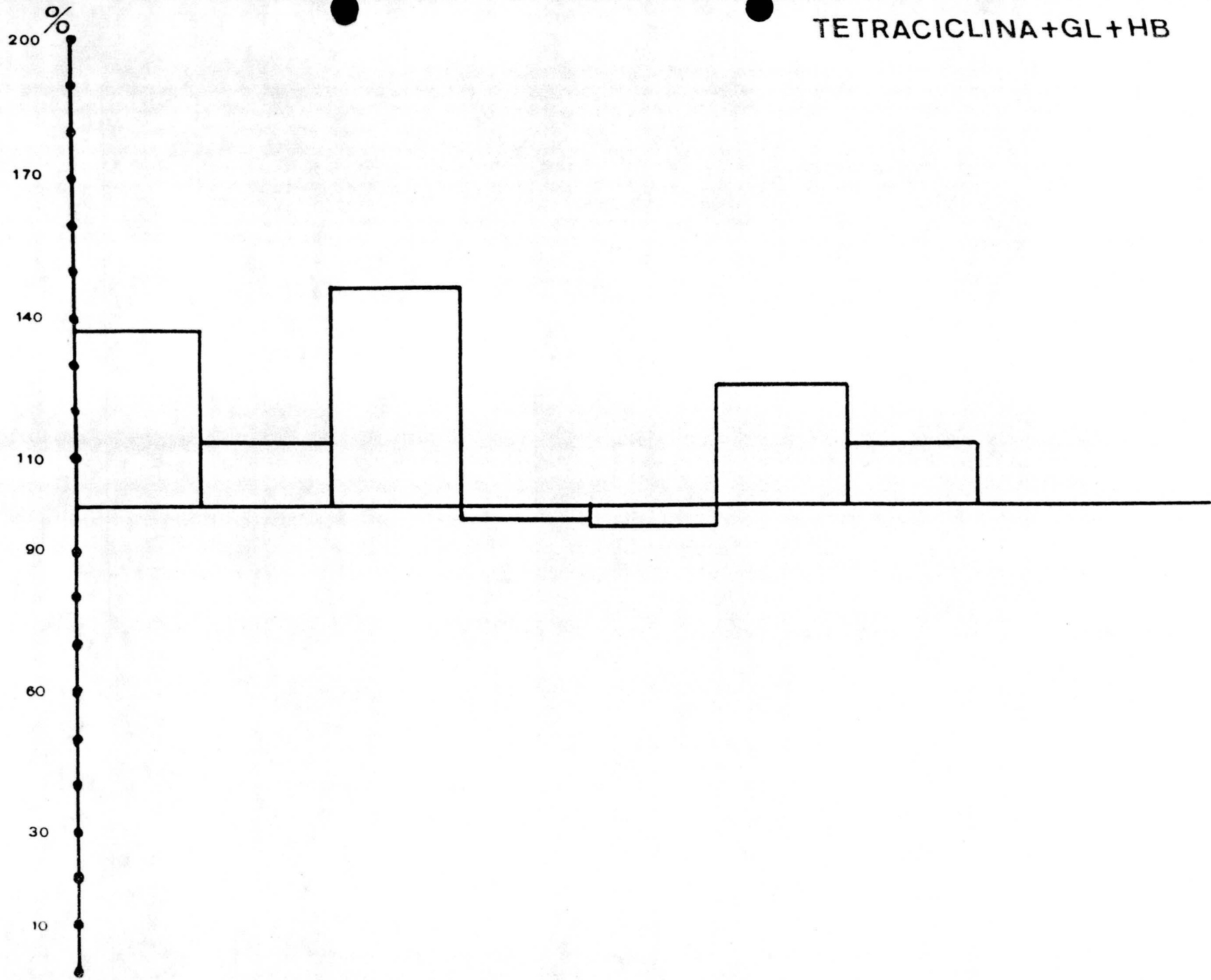
KANAMICINA+GL+HB



TETRACICLINA



TETRACICLINA+GL+HB



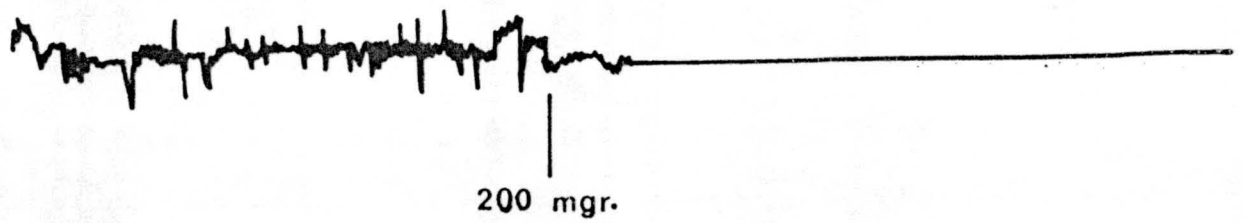
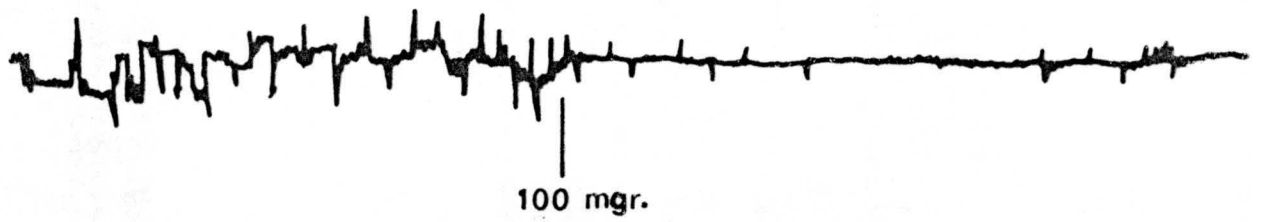
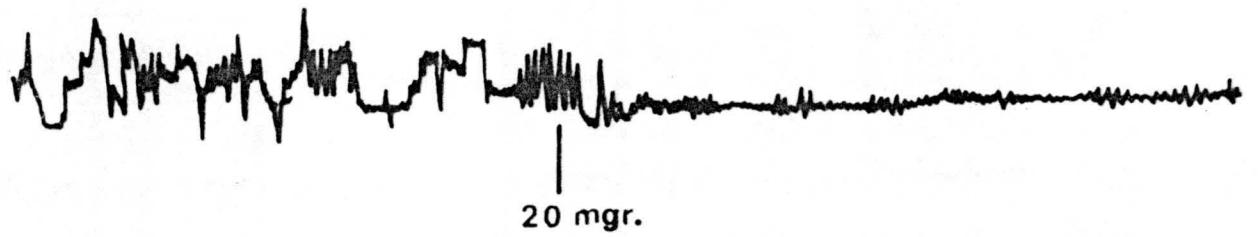
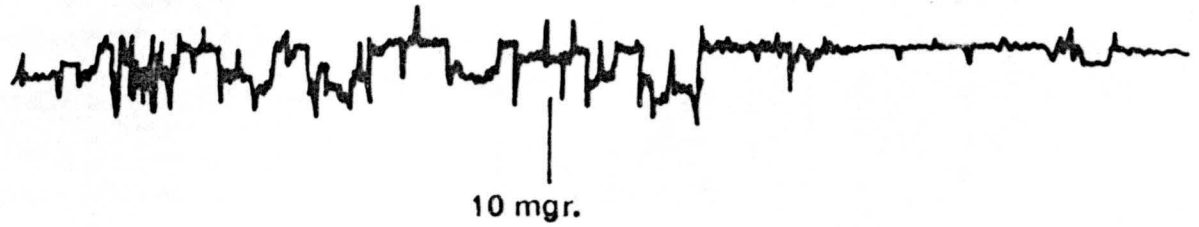
D.II.1.- EFECTO DE LOS ANTIHELMINTICOS.

T A B L A LXXVIII

Pamotato de Pirvinio, adicionado al vaso de cultivo a las 18 horas.

		E X P E R I E N C I A S				
		<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>	<u>4°</u>	<u>5°</u>
Dosis antihelmíntico, mgr./100		500	200	100	20	10
Número de ensayos		5	5	5	5	5
Peso medio de los <i>Ascaris</i> , mgr.		2,45	3,10	2,90	2,85	2,55
Periodo previo a la inhibición	Total	0	3	-	-	-
	Parcial	-	-	0	1	6
Positividad inhibición		++	++	+	+	+
Recuperación (horas)		-	-	-	-	-

PAMOATO DE PIRVINIO.-



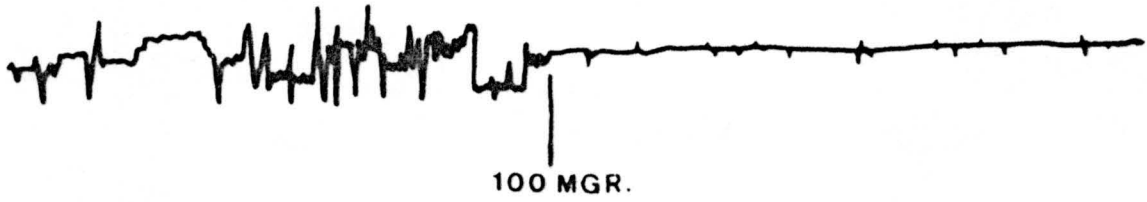
0 10 horas 18

T A B L A LXXIX

Fenotiacina, adicionada al vaso de cultivo a las 18 horas.

		<u>E X P E R I E N C I A S</u>				
		<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>	<u>4°</u>	<u>5°</u>
Dosis antihelmíntico, mgr./100		100	50	25	10	1
Número de ensayos		4	5	5	5	5
Peso medio de los <i>Ascaris</i> , mgr.		2,47	2,55	2,18	2,18	2,77
Periodo previo a la Inhibición	Total	-	-	-	-	-
	Parcial	0	0	2	3 ¹ / ₂	-
Positividad inhibición		+	+	+	+	-
Recuperación (horas)		-	-	-	-	-

FENOTIACINA.-



0 10 horas 18

T A B L A LXXX

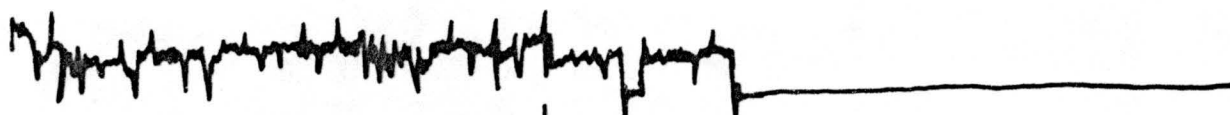
Piperazina, adicionada al vaso de cultivo a las 18 horas.

		E X P E R I E N C I A S				
		<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>	<u>4°</u>	<u>5°</u>
Dosis antihelmíntico, mgr./100		200	100	50	25	10
Número de ensayos		3	4	5	5	5
Peso medio de los <i>Ascaris</i> , mgr.		1,93	2,38	2,20	3,15	2,45
Periodo previo a la inhibición (horas)	Total	0	0	6	-	-
	Parcial	-	-	-	0	-
Positividad inhibición		++	++	++	+	-
Recuperación (horas)		-	-	-	-	-

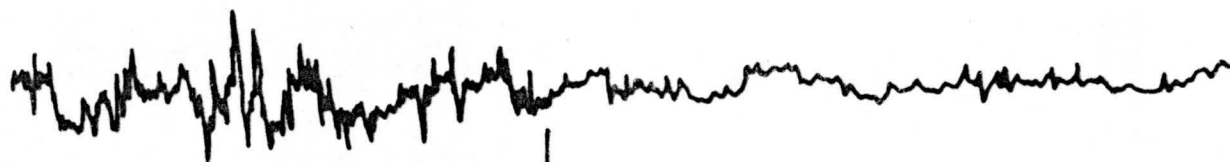
PIPERAZINA.-



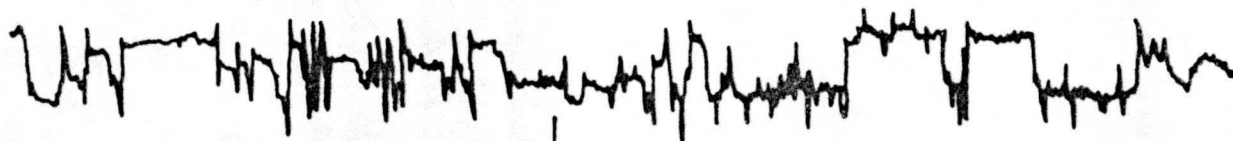
100 MGR



50 MGR



25 MGR



10 MGR

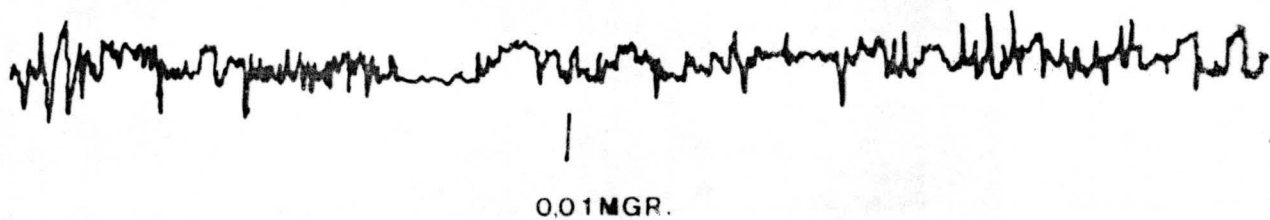
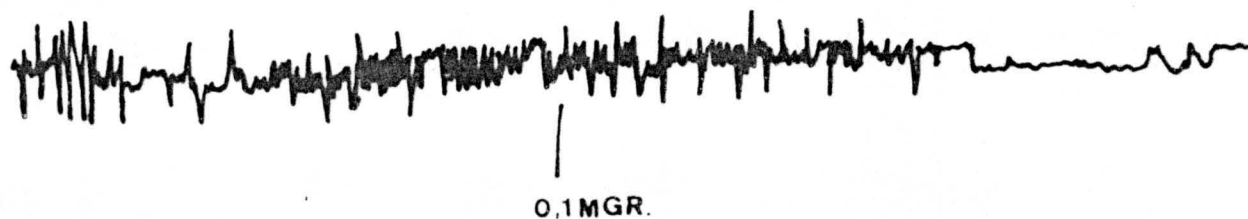
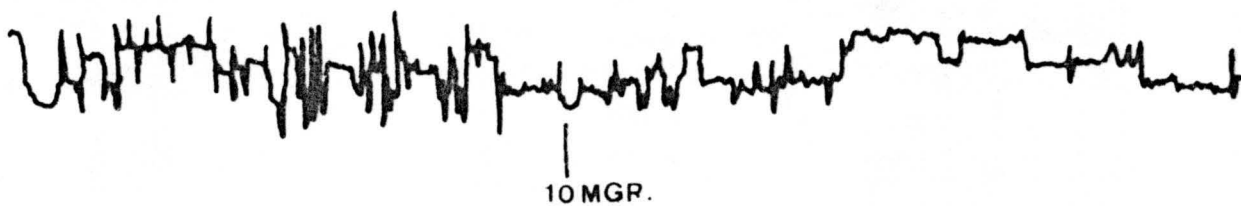
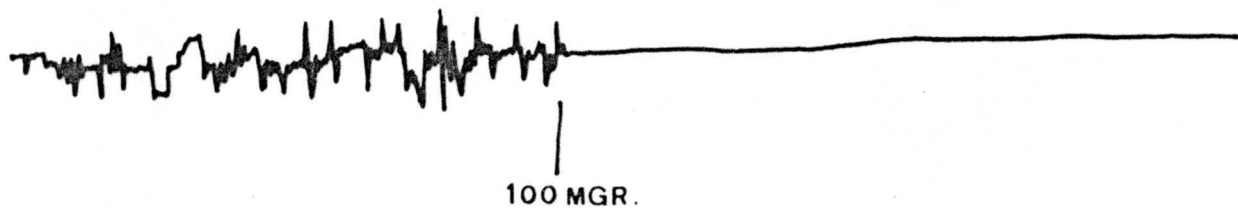
0 10 HORAS 18

T A B L A LXXXI

Tiobendazol, adicionado al vaso de cultivo a las 18 horas.

		<u>E X P E R I E N C I A S</u>				
		<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>	<u>4°</u>	<u>5°</u>
Dosis antihelmíntico, mgr./100		100	10	1	0,1	0,01
Número de ensayos		4	4	4	4	4
Peso medio de los <i>Ascaris</i> , mgr.		3,72	2,65	2,66	3,03	3,48
Periodo previo a la inhibición (horas)	Total	0	-	-	-	-
	Parcial	-	0	0	12	-
Positividad inhibición		++	+	+	+	-
Recuperación (horas)		-	-	-	-	-

TIOBENDAZOL.-



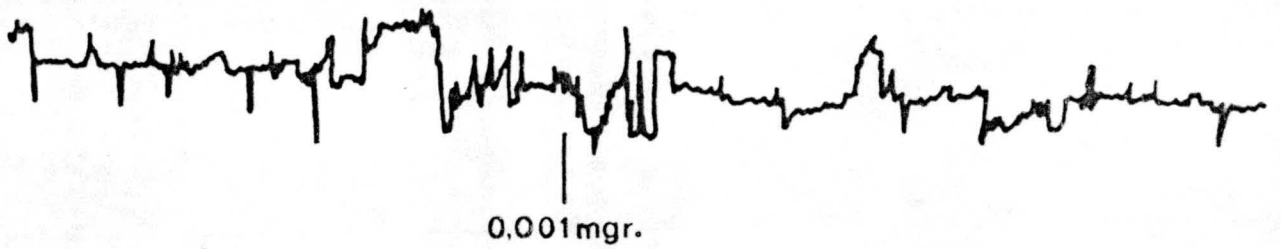
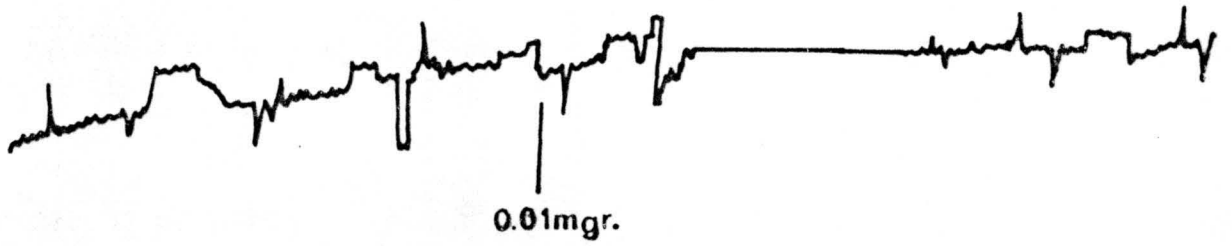
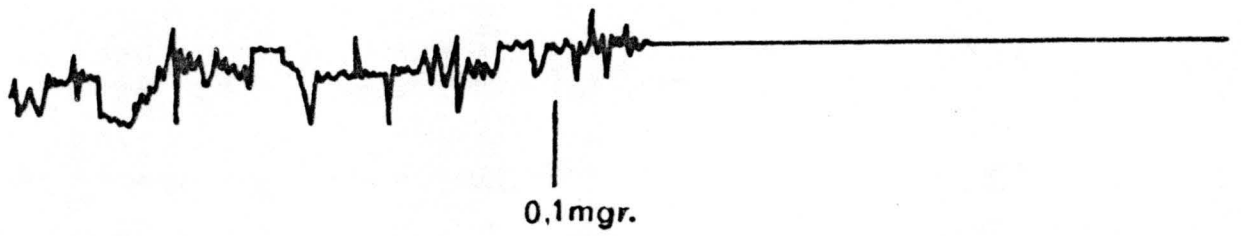
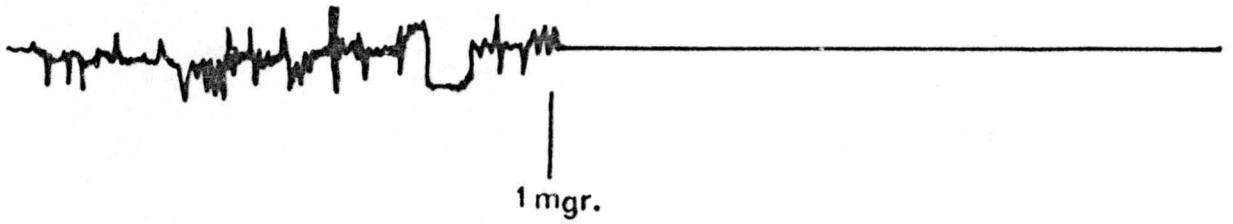
0 10 horas 18

T A B L A LXXXII

Tetramisol, adicionado al vaso de cultivo a las 18 horas.

		<u>E X P E R I E N C I A S</u>				
		<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>	<u>4°</u>	<u>5°</u>
Dosis antihelmíntico, mgr./100		10	1	0,1	0,01	0,001
Número de ensayos		5	5	5	5	5
Peso medio de los <i>Ascaris</i> , mgr.		1,63	2,12	2,47	1,92	2,55
Periodo previo a la inhibición (horas)	Total	0	0	-	-	-
	Parcial	-	-	3	5	-
Positividad inhibición		++	++	+	+	-
Recuperación (horas)		-	-	-	12	-

TETRAMISOL



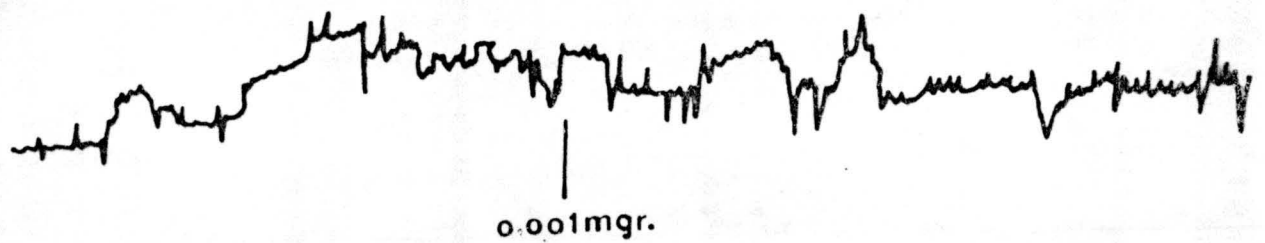
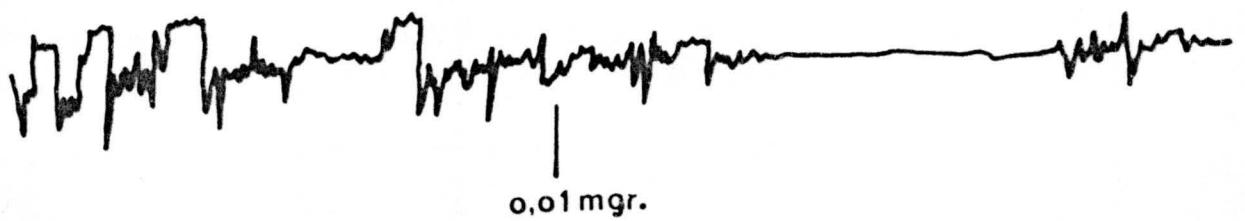
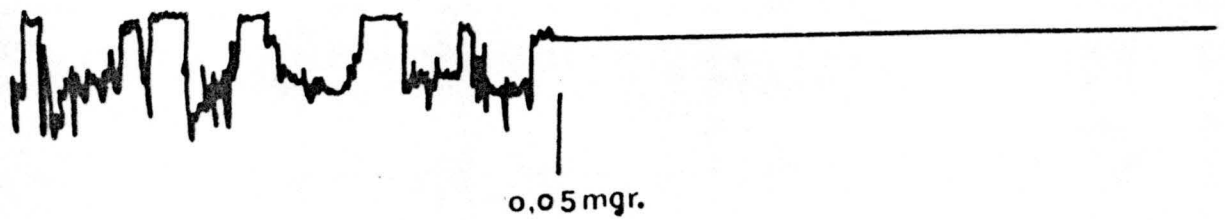
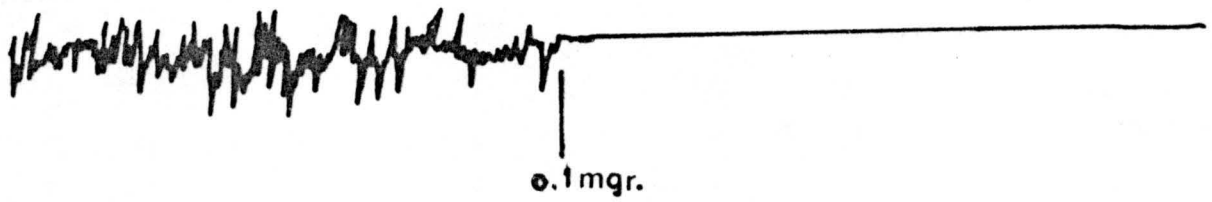
0 10 horas 18

T A B L A LXXXIII

Pamotato de Pirantel, adicionado al vaso de cultivo a las 18 horas.

		<u>E X P E R I E N C I A S</u>				
		<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>	<u>4°</u>	<u>5°</u>
Dosis antihelmíntico, mgr./100		1	0,1	0,05	0,01	0,001
Número de ensayos		5	5	5	5	5
Peso medio de los <i>Ascaris</i> , mgr.		2,13	2,82	2,16	2,63	1,94
Periodo previo a la inhibición (horas)	Total	0	0	0	-	-
	Parcial	-	-	-	7	-
Positividad inhibición		++	++	++	+	-
Recuperación (horas)		-	-	-	16	-

PAMOATO DE PIRANTEL



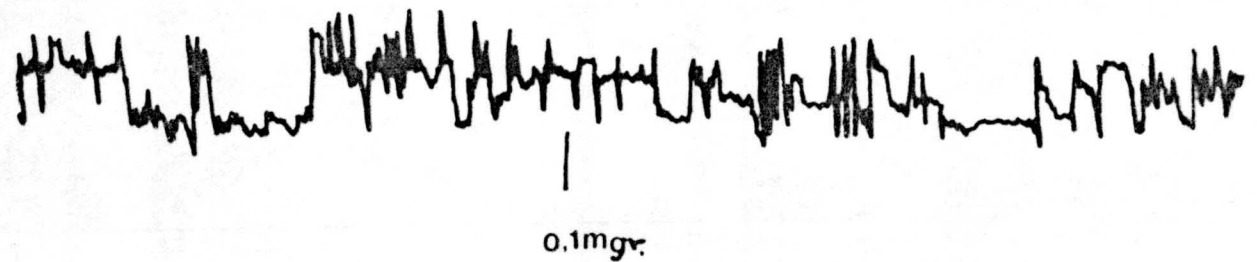
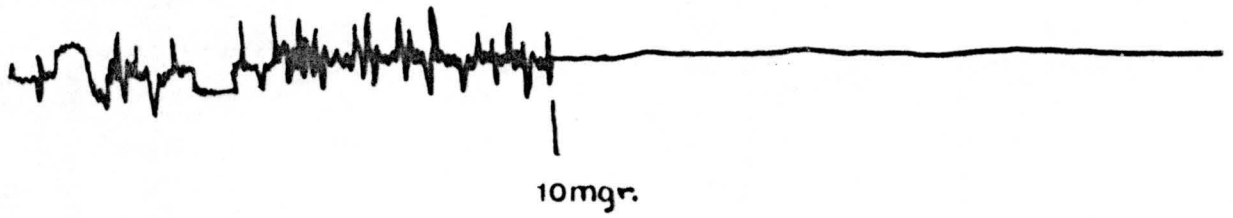
0 10 horas 18

T A B L A LXXXIV

Santonina, adicionada al vaso de cultivo a las 18 horas.

		E X P E R I E N C I A S				
		<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>	<u>4°</u>	<u>5°</u>
Dosis antihelmíntico, mgr./100		10	5	1	0,1	0,01
Número de ensayos		5	5	5	5	5
Peso medio de los <i>Ascaris</i> , mgr.		2,93	3,99	2,79	2,46	3,05
Periodo previo a la inhibición (horas)	Total	0	5	-	-	-
	Parcial	-	-	0	-	-
Positividad inhibición		++	++	+	-	-
Recuperación (horas)		-	-	-	-	-

SANTONINA.-



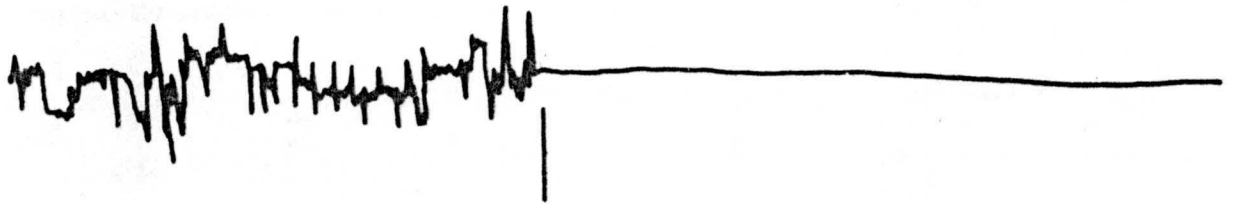
0 10 horas 18

T A B L A LXXXV

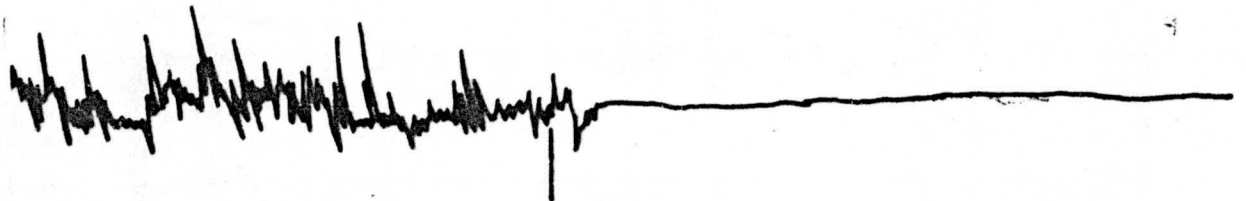
Hexil-resorcinol, adicionado al vaso de cultivo a las 18 horas

		<u>E X P E R I E N C I A S</u>				
		<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>	<u>4°</u>	<u>5°</u>
Dosis antihelmíntico, mgr./100		100	50	25	10	1
Número de ensayos		5	5	5	5	5
Peso medio de los <i>Ascaris</i> , mgr.		3,01	2,44	2,67	3,35	2,92
Periodo previo a la inhibición (horas)	Total	0	1 ¹ / ₂	-	-	-
	Parcial	-	-	0	7 ¹ / ₂	-
Positividad inhibición		++	++	+	+	-
Recuperación (horas)		-	-	-	-	-

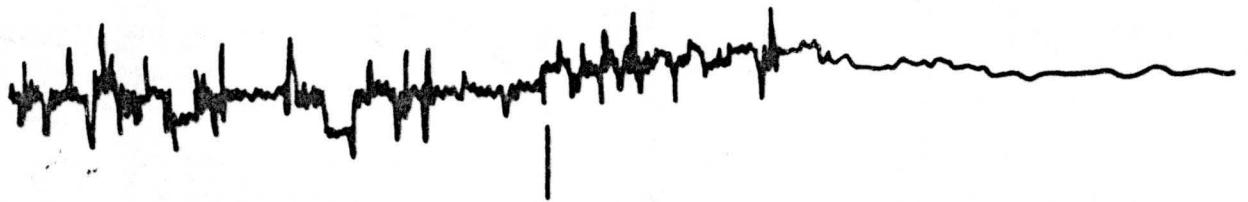
HEXIL-RESORCINOL.



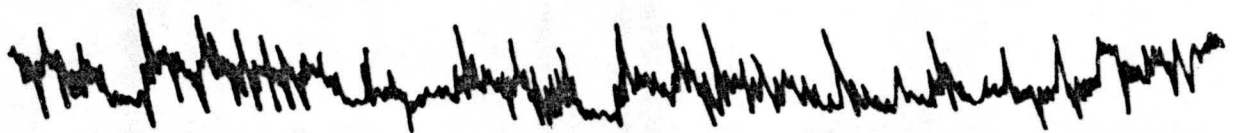
100 MGR



50 MGR



10 MGR



1 MGR

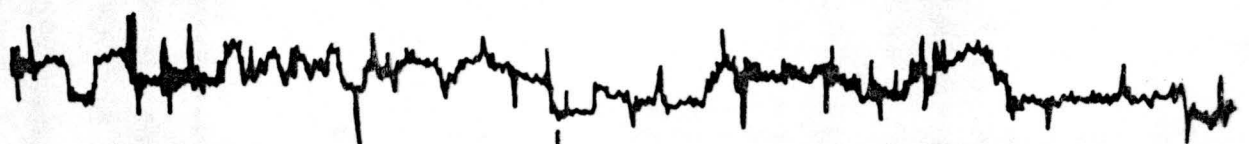
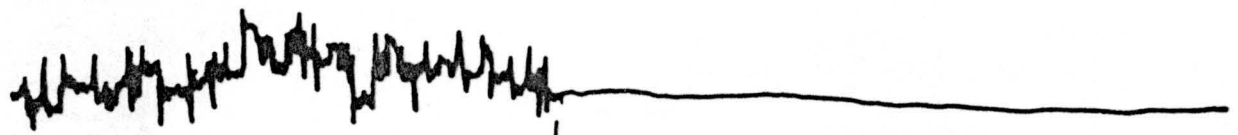
0 10 HORAS 18

T A B L A LXXXVI

Acido amino-butírico (GABA), adicionado al vaso de cultivo a las 18 horas.

		E X P E R I E N C I A S				
		<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>	<u>4°</u>	<u>5°</u>
Dosis antihelmíntico, mgr./100		150	100	75	50	25
Número de ensayos		5	5	5	5	5
Peso medio de los <i>Ascaris</i> , mgr.		2,85	3,11	2,49	3,09	2,52
Periodo previo a la inhibición (horas)	Total	0	-	-	-	-
	Parcial	-	0	4	5	-
Positividad inhibición		++	+	+	+	-
Recuperación (horas)		-	-	-	-	-

GABA.-



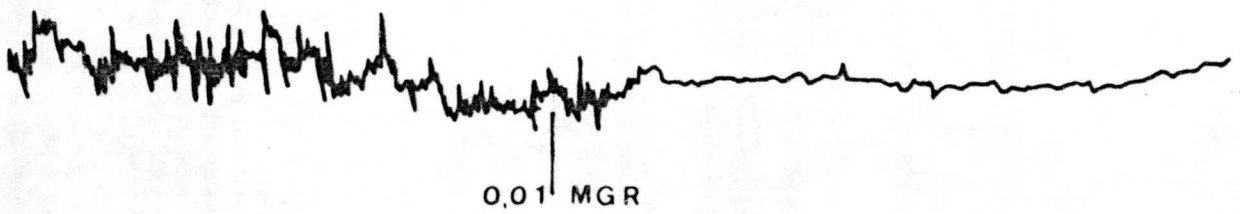
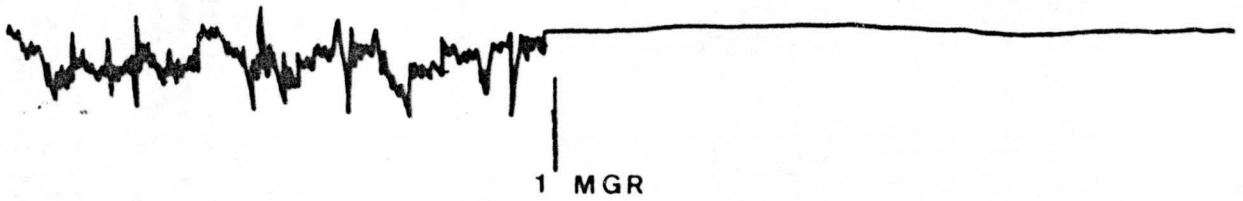
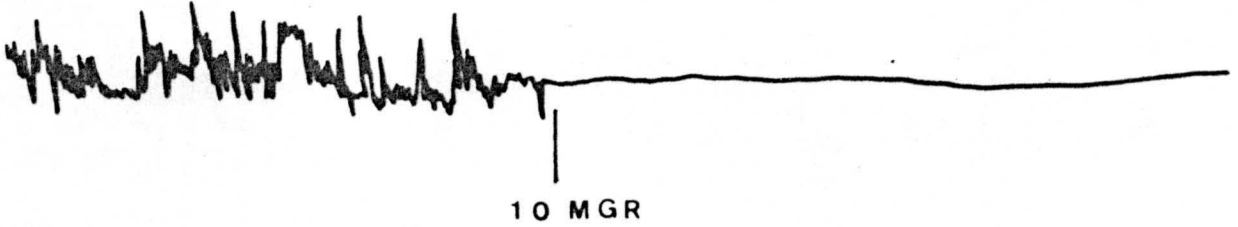
0 10 HORAS 18

T A B L A LXXXVII

Sevin, adicionado al vaso de cultivo a las 18 horas.

		E X P E R I E N C I A S				
		<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>	<u>4°</u>	<u>5°</u>
Dosis antihelmínticos, mgr./100		10	1	0,1	0,01	0,001
Número de ensayos		5	5	5	5	5
Peso medio de los <i>Ascaris</i> , mgr.		1,96	2,33	2,54	3,06	3,17
Periodo previo a la inhibición (horas)	Total	0	0	-	-	-
	Parcial	-	-	0	0	-
Positividad inhibición		++	++	+	+	-
Recuperación (horas)		-	-	-	-	-

SEVIN.



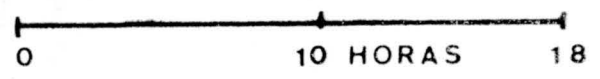
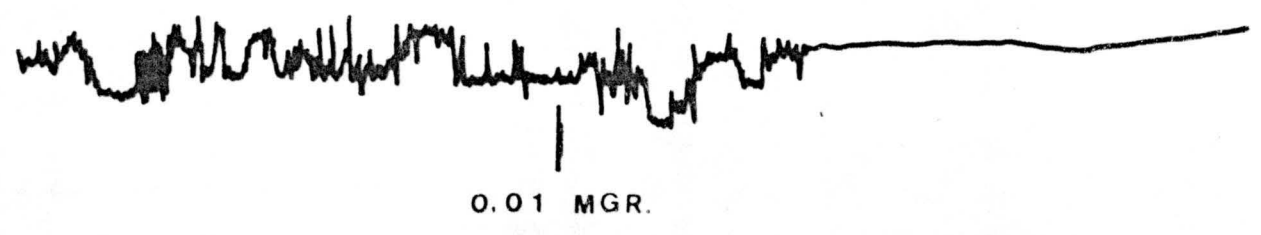
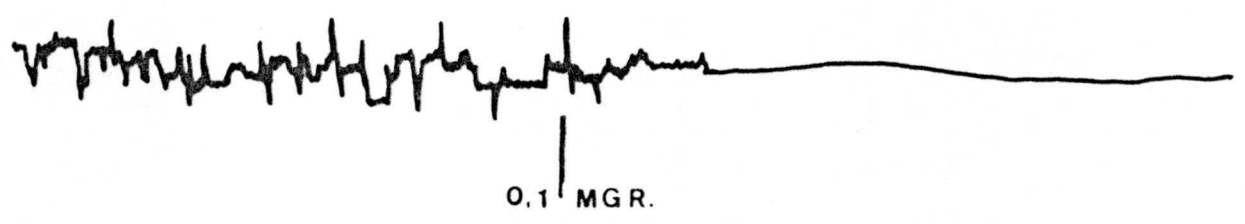
0 10 HORAS 18

T A B L A LXXXVIII

Dichlorvos, adicionado al vaso de cultivo a las 18 horas

		E X P E R I E N C I A S				
		<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>	<u>4°</u>	<u>5°</u>
Dosis antihelmíntico, mgr./100		0,1	0,05	0,01	0,001	0,0001
Número de ensayos		5	5	5	4	7
Peso medio de los <i>Ascaris</i> , mgr.		3,185	3,21	2,96	2,78	3,39
Periodo previo a la inhibición (horas)	Total	5	7 1/2	8 1/2	-	-
	Parcial	-	-	-	0	0
Positividad inhibición		++	++	++	+	+
Recuperación (horas)		-	-	-	-	-

DICHLORVOS.-



T A B L A LXXXIX

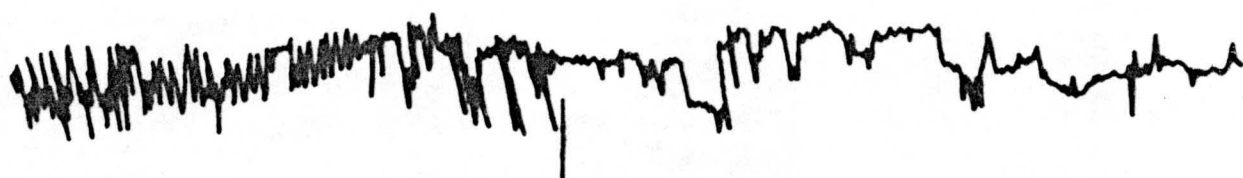
DDT, adicionado al vaso de cultivo a las 18 horas.

		<u>E X P E R I E N C I A S</u>				
		<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>	<u>4°</u>	<u>5°</u>
Dosis antihelmíntico, mgr./100		0,1	0,01	0,001	0,0001	0,00001
Número de ensayos		5	5	5	5	5
Peso medio de los <i>Ascaris</i> , mgr.		2,045	2,58	3,01	2,96	1,995
Periodo previo a las inhibición (horas)	Total	-	-	-	-	-
	Parcial	0	-	-	-	-
Positividad de inhibición		+	-	-	-	-
Recuperación (horas)		-	-	-	-	-

DDT.-



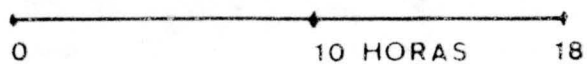
0.1 MGR



0.05 MGR



0.01 MGR

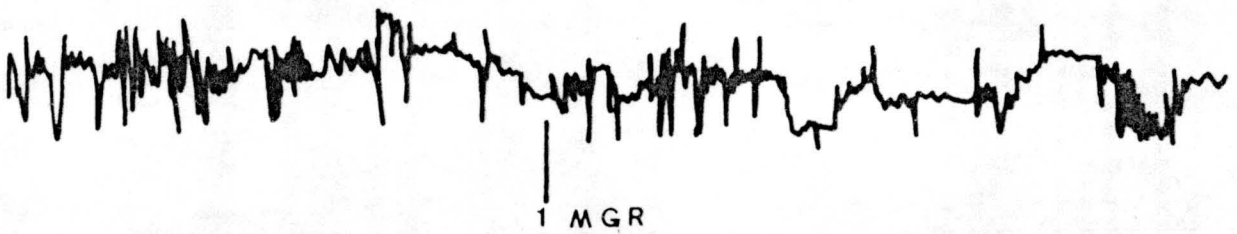
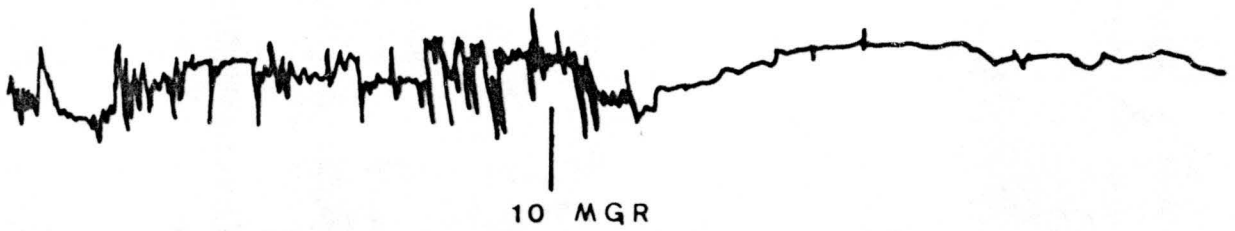
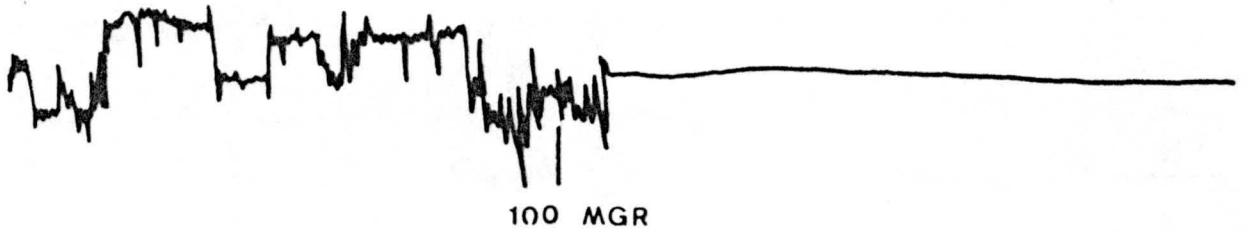


T A B L A X C

Dipterex, adicionado al vaso de cultivo a las 18 horas.

		E X P E R I E N C I A S				
		<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>	<u>4°</u>	<u>5°</u>
Dosis de antihelmínticos, mgr./100		100	50	25	10	1
Número de ensayos		5	5	5	5	5
Peso medio de los <i>Ascaris</i> , mgr.		3,33	2,57	3,17	2,05	2,73
Periodo previo a las inhibición (horas)	Total	1 ¹ / ₂	5	-	-	-
	Parcial	-	-	0	2 ¹ / ₂	-
Positividad de inhibición		++	++	+	+	-
Recuperación (horas)		-	-	-	-	-

DIPTEREX.-



0 10 HORAS 18

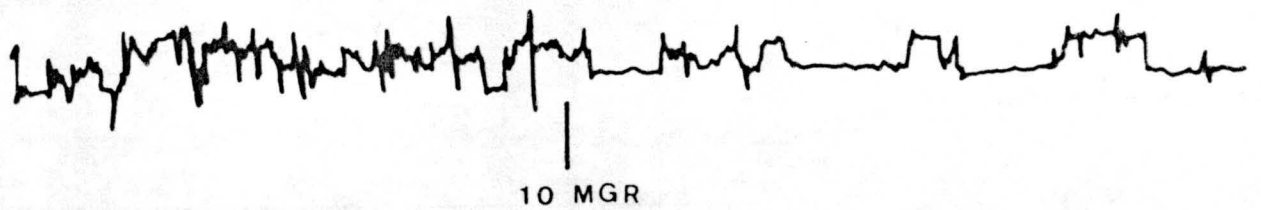
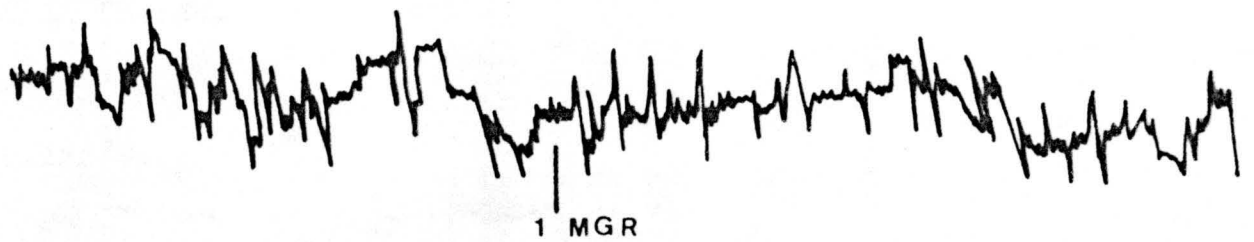
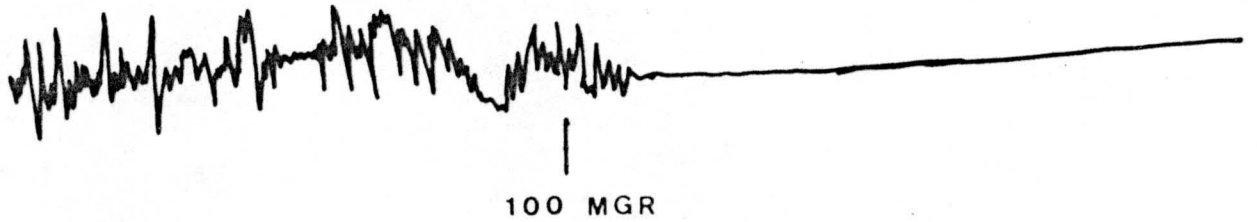
A horizontal scale bar is located at the bottom right of the page, with tick marks at 0, 10, and 18, representing hours.

T A B L A X C I

Metasystex-R, adicionado al vaso de cultivo a las 18 horas.

	E X P E R I E N C I A S					
	<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>	<u>4°</u>	<u>5°</u>	
Dosis de antihelmíntico, mgr./100	250	100	50	10	1	
Número de ensayos	5	5	5	5	5	
Peso medio de los <i>Ascaris</i> , mgr.	3,86	3,05	2,58	3,39	3,25	
Periodo previo a la inhibición (horas)	Total	0	2	-	-	-
	Parcial	-	-	0	0	-
Positividad de inhibición	++	++	+	+	-	
Recuperación (horas)	-	-	-	-	-	

METASYSTOX-R.



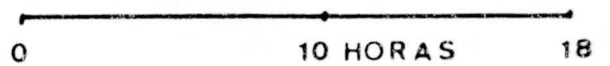
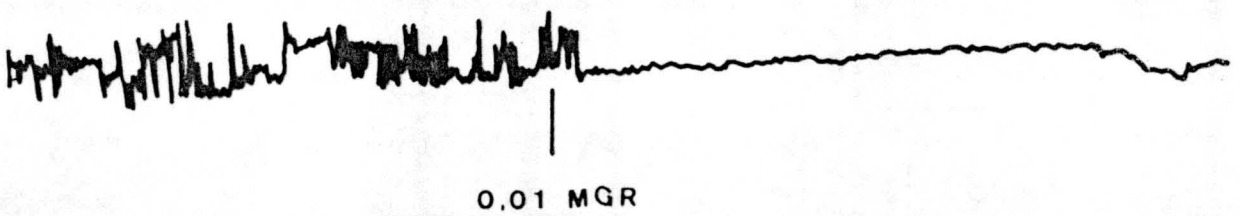
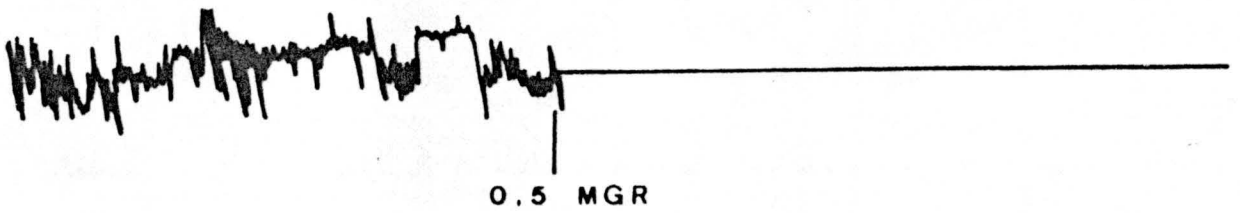
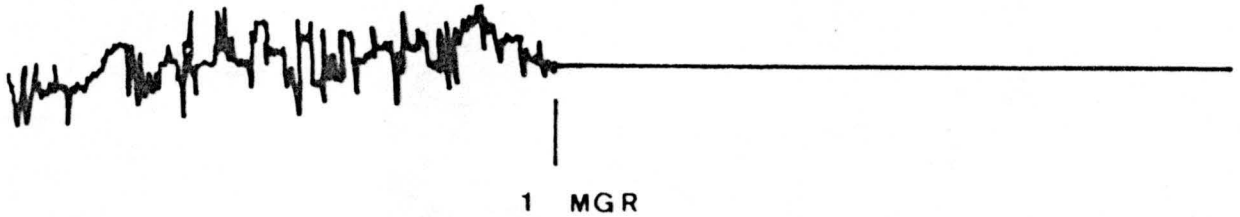
0 10 HORAS 18

T A B L A X C I I

Mebendazol, adicionado al vaso de cultivo a las 18 horas.

		<u>E X P E R I E N C I A S</u>				
		<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>	<u>4°</u>	<u>5°</u>
Dosis antihelmíntico, mgr./100		1	0,5	0,1	0,05	0,01
Número de ensayos		4	5	5	5	5
Peso medio de los <i>Ascaris</i> , mgr.		2,69	3,12	2,73	2,22	3,15
Periodo previo a la inhibición (horas)	Total	0	0	0	-	-
	Parcial	-	-	-	0	0
Positividad de inhibición		++	++	++	+	+
Recuperación (horas)		-	-	5	-	-

MEBENDAZOL.



E.- DISCUSSION

Como se ha indicado anteriormente el estudio de la acción y de la eficacia de las sustancias medicamentosas que actúan como antihelmínticos, se realiza a diferentes niveles según el estado de integración del complejo hospedador-parásito. Bien *in vivo*, administrando la droga al hospedador parasitado y controlando la desaparición del agente infectante, bien *in vitro* aislando el parásito y operando con este en el laboratorio. En este caso hay variantes que según la mayor o menor integridad del parásito van desde el empleo del parásito íntegro, sus órganos aislados, homogenizados de los mismos o enzimas aislados. Es evidente que el mejor procedimiento a emplear es la utilización de los parásitos aislados puesto que se eliminan las interferencias producidas por el hospedador y carece de las posibles falsas interpretaciones de considerar que una droga que es activa frente a un enzima aislado pueda serlo igualmente frente al parásito entero al hacer abstracción de los diferentes condicionantes que influyen en su acción global (absorción, transporte, etc.).

Por consiguiente, el primer problema a resolver es el mantenimiento del parásito en el laboratorio, fuera del organismo del hospedador. El *Ascaris lumbricoides*, parásito empleado en nuestro estudio, en el hombre está prácticamente erradicado en casi todo el país como consecuencia de la elevación del nivel de vida y consiguiente aumento de la higiene de las poblaciones. No así la variedad *suum*, en el que estos factores no se han producido y sigue siendo un parásito frecuente en el ganado de cerda y con bastante incidencia en los aspectos económicos de la producción porcina. Estas razones y el tamaño del parásito, que per

mite su fácil manipulación y disección es lo que nos ha inducido a su elección, amén de ser prototipo de los nematodos, grupo ampliamente difundido y de gran importancia sanitaria y económica.

A pesar de que el habitat normal de este parásito es el intestino del cerdo que en principio podía considerarse como un medio simple en comparación a tejidos, donde habitan otros parásitos, aun hoy día no se ha conseguido encontrar un medio artificial idóneo para el mantenimiento continuada del *Ascaris* en el laboratorio. Estrictamente hablando no se puede decir cultivo *in vitro* del *Ascaris*, sino sobrevivencia *in vitro*, puesto que indefectiblemente antes o después el *Ascaris* fallece.

Se han dado periodos de sobrevivencia de hasta 30 días, pero son datos cuestionables dado que la observación de la vitalidad del *Ascaris* se ha realizado visualmente observando, cada 24 horas, el movimiento del apéndice cefálico frente a un estímulo físico (luz por ejemplo). Es posible que algún ejemplar pueda sobrevivir este tiempo pero es evidente que no lo hace en una perfecta normalidad fisiológica.

Tampoco son totalmente correctas las experiencias realizadas empleando para el mismo ensayo grupos de 5 ó más *Ascaris* cultivados en el mismo medio y analizados conjuntamente después. A efectos estadísticos es más corrector el cultivo y análisis individual de cada ejemplar.

Por estos motivos hemos realizado el cultivo con el aparato anteriormente descrito (C.III) que nos permite cultivar 5 *Ascaris* al mismo tiempo y por separado. También nos permite que la

renovación del medio sea automática y regularmente cada 4 horas y así evitamos que la acumulación de metabolitos procedentes del metabolismo del verme en el medio y además está más de acuerdo con la renovación del medio intestinal.

• La temperatura de la cámara es de 30°C ya que aparentemente el *Ascaris* goza de mayor vitalidad (MONTEOLIVA, 1973) a temperaturas inferiores a la de la sangre caliente (37°).

• Por mucho tiempo se ha venido considerando al *Ascaris* como anaerobio aunque progresivamente se han detectado en él, sistemas bioquímicos que orientan hacia un mecanismo aerobio (MALCOLM y SIMITH, 1969). Por esto nosotros hemos operado con un medio semianaerobio, con la tensión de oxígeno correspondiente al oxígeno disuelto en el medio.

Aunque no se descarta la posibilidad de contaminación de los medios durante los ensayos de sobrevivencia, en los primeros ensayos realizados, no hemos adicionado ninguna clase de antibióticos, sulfamidas, etc., en consideración a que el medio intestinal donde vive el *Ascaris* no es normalmente un medio totalmente aséptico.

Consideramos también como más correcto el control de la vitalidad del parásito mediante una serie de tests fisiológicos (capacidad de mover una aguja inscriptora mediante un mecanismo que controle continuamente sus movimientos) o bioquímicos (control analíticos de diversos componentes del parásito).

La elección de los controles bioquímicos, sin existir

antecedentes que orientasen hacia un determinado elemento definitorio de la normalidad fisiológica, no ha podido hacerse más que sobre la base de poder realizar el mayor número de análisis diversos sobre la misma muestra a fin de poder referir los resultados obtenidos al mismo animal.

Este control individual de cada parásito compensa la heterogenidad de la procedencia de las muestras. Los *Ascaris* que nos son suministrados procedentes del sacrificio de cerdos en el Matadero Municipal, no proceden todos del mismo intestino (en cuyo caso las muestras podrían considerarse homogéneas) sino que son mezclas de *Ascaris* de diversos cerdos y por consiguiente sometidos previamente a condiciones diferentes. El análisis individual permite separar del grupo aquellos ejemplares que se manifiestan claramente en estado agónico o muertos. Por esta razón, utilizamos como punto de referencia para el cálculo estadístico los valores finales encontrados en las condiciones de sobrevivencia más desfavorables (valores en ayunas) supuesto que, en los tres días de cultivo han podido igualarse las diferencias que tuviesen de origen los parásitos. Son muy patentes estas diferencias con relación a la hemoglobina (MONTEOLIVA y col., 1973).

El contenido de Hb de los *Ascaris* es dependiente del cerdo del que procede.

Las constantes bioquímicas elegidas son: dos azúcares solubles y difusibles, glucosas y trehalosa (éste último característico de los invertebrados) y dos tipos de glucógeno el que denominamos "libre" que se solubiliza fácilmente aunque no es difusible en el "combinado" que debe de estar asociado a proteínas

estructurales y para su solubilización se requiere un tratamiento con potasa. Las proteínas se determinan en bloque las que son solubles diferenciando entre ellas la hemoglobina. Los derivados "adenílicos" que se determinan en la fracción dializable no tienen más valor que una orientación global en cuanto al conjunto de sustancias que absorben al ultravioleta a 260 y cuyo cociente de extinción entre 260/280 es semejante a la adenosina.

Los métodos analíticos seguidos ya se han descrito y comentado en apartados anteriores, buscando, como se ha dicho, más que unos valores absolutos del contenido de componentes en el *Ascaris* una constancia y seguridad en el método analítico que nos permitiese comparar estadísticamente las diferencias encontradas entre unos lotes de otros.

Inicialmente las experiencias se establecieron a fin de determinar que elementos nutricios eran los convenientes para mantener la normalidad fisiológica del *Ascaris*, prescindiendo de la esterilidad del medio y del ambiente anaerobio preconizado por muchos autores, en consideración a que el habitat normal de *Ascaris* es séptico y que la anaerobiosis estricta del *Ascaris* es cuestionable. En esta primera fase los análisis se realizaron previa disección del parásito, por tejidos suponiendo que podrían encontrarse diferencias más o menos significativas según el tejido considerado. Los resultados expresados en las Tablas I a XXXVIII, que señalan que las diferencias encontradas según ensayos y según tejidos eran a veces contradictorias y que sólo manifestaban significación estadística cuando los valores parciales se referían a *Ascaris* total, nos indujo a realizar los análisis finales en homogenados totales con lo cual se simplificaban la

En la Tabla XCIII, anotamos los distintos nutrientes empleados y su concentración:

T A B L A X C I I I

<u>Medios</u>	<u>Tyrode (ml.)</u>	<u>Glucosa (mgr.)</u>	<u>Hemoglobina(mgr.)</u>
1	1.000	--	--
2	1.000	300	--
3	1.000	--	300
4	1.000	300	300
5	1.000	1.000	300

Dentro de los antibióticos, sulfadiaz y antifúngicos, y si siguiendo la clasificación de JAWETZ y ROSSI (1965), hemos utilizado los siguientes:

Bactericidas: Penicilina, Estreptomina y Kanamicina

Bacteriostáticos: Tetraciclina.

Sulfamidaz: Sulfoguanidina y Gantrisona.

Antifúngicos: Nistatina.

Las concentraciones utilizadas, la anotamos en la Tabla XCIV

El análisis de los tejidos del *Ascaris* presenta ciertas dificultades, debido a la existencia de determinados componentes de naturaleza lipoprotéica que durante la homogeneización de los tejidos para la obtención de extractos dificultan la centrifugación o filtración de los mismos. Sólo cuando se hacen extractos muy diluidos es posible la centrifugación o filtración pero tiene el inconveniente de que los componentes que se encuentran en pequeña concentración no son medibles.

Por esta razón, se ha establecido un proceso que conjuga la maceración tisular con la diálisis simultánea de las sustancias solubles objeto de los análisis. El proceso es rápido para el líquido perivisceral y lento para los tejidos, órganos sexuales y cubiertas (cutícula más capa muscular). Para ello se procede en cámara fría a 4°C con agitación y usando como solución dializante una de borato sódico 0,02M. Se emplea el borato por carecer de absorción en el ultravioleta no interfiriendo en las medidas que se hacen a 280 y 260 nm, por utilizarse en la separación cromatográfica de azúcares y además por su poder antiséptico que contribuye a la no contaminación de las soluciones durante la diálisis.

Los tiempos utilizados (HERMOSO y MONTEOLIVA, 1973) son distintos para cada tejido (24 horas para L.P.V. y 72 horas para órganos sexuales y cubiertas) y permiten alcanzar el equilibrio de la misma, encontrándose en este punto los componentes difusibles en la proporción 1/9 (no dializado/dializado). Es decir las determinaciones que se realizan en el dializado recaen sobre el 90% del contenido total. Renovado el medio de diálisis se podría recuperar un 9% más pero se ha prescindido de ello puesto que

alartaria enormemente los tiempos de análisis, sin que ello signi-
fique una mayor exactitud analítica.

En realidad lo que nosotros buscamos en nuestras experien-
cias son las diferencias existentes en la constitución del *Ascaris*
sometido a diferentes condiciones y estas diferencias son demostra-
bles tanto si se determina el 100% de un componente como si se mi-
de sólo el 90% en todos los casos.

Expresamos en la Tabla XCV el tanto por ciento en relación
al peso total del *Ascaris*:

T A B L A XCV

	<u>L.P.V.</u>	<u>U + 0</u>	<u>Cubierta</u>	<u>Suma</u>
Inicial	21,1	20,8	40,7	82,6
Ayunas	18,5	20,1	46,5	85,1
Glucógeno (0,3)	20,2	20,2	45,9	86,3
Hemoglobina (0,3)	21,8	19,5	45,6	86,9
Glucog. + Hb	17,7	19,0	49,0	85,7
Glucog. (0,1) + Hb	22,2	20,9	46,4	89,5

Tanto el *Ascaris* entero como los tejidos por separado,
cuando sacados de la solución salina para la disección y pesada
sufren un rápido proceso de deshidratación lo que hace que, a pe-
sar de la rapidéz de las operaciones de disección y pesada, no se
recupere el 100% del peso inicial sino que los porcentajes de teji-
dos acumulados constituyen sólo el 85%. Hay un 15% de pérdida que

sin error apreciable puede ser distribuido proporcionalmente entre todos los tejidos (MONTEOLIVA, 1973).

DETERMINACION DE AZÚCARES EN TEJIDOS.-

Para la determinación cuantitativa de azúcares se ha seguido el método de la antrona de TREVEYLAN y HARRISON (1956). Por ello es necesario hacer las separaciones de cada una de las sustancias que interesa estudiar antes de su determinación cuantitativa.

El glucógeno combinado es el extraído por digestión y no se analiza en los órganos sexuales por la dificultad que plantea para recoger éstos después de la extracción del glucógeno soluble. Insistiendo en lo que dijimos anteriormente lo que buscamos no son valores absolutos sino unos controles bioquímicos que orienten hacia la composición de un medio de cultivo idóneo para el *Ascaris*.

La destrucción del material protéico en el proceso de aislamiento del glucógeno se ha efectuado por otros autores con un álcali más concentrado. Sin embargo, se ha comprobado que una solución de potasa al 30% es suficiente para provocar la hidrólisis del material protéico sin que el glucógeno no se altere ostensiblemente, siempre y cuando no se prolongue excesivamente el tiempo de hidrólisis (HEARTEY, 1935).

En la Tabla XCVI expresamos el contenido total de los azúcares determinados en los diferentes medios ensayados:

T A B L A XCVI

<u>Medios ensayados</u>	<u>Trehalosa mgr./gr.</u>	<u>Glucosa mgr./gr.</u>	<u>Glucógeno soluble. mgr./gr.</u>	<u>Glucógeno combinado mgr./gr.</u>
Ayunas	1,47	0,50	10,57	19,76
Iniciales	2,44	0,89	12,76	25,51
Glucosa (0,3)	1,59	0,83	16,08	26,28
Hemoglobina (0,3)	1,40	0,72	10,99	19,74
Glucog.(0,3) y Hb(0,3)	0,66	0,62	12,19	25,42
Glucog.(1,0) y Hb(0,3)	2,02	0,92	13,33	23,20

En primer lugar haremos un estudio comparativo entre los valores de los azúcares encontrados en los diferentes medios ensayados frente a los valores de ayunas (según la Tabla XCVI).

Vemos que los valores iniciales frente a los de ayunas suponen un valor superior de 65,99; 78,00; 20,72; y 29,10% para trehalosa, glucosa, glucógeno soluble y combinado respectivamente.

Conviene resaltar que los valores iniciales, puesto que son la media de numerosos análisis hechos con *Ascaris* recién traídos del Matadero, serian los valores normales de estos parásitos en el hospedador.



Según se desprende de la Tabla XCVI, vemos que cuando al medio se le adiciona glucosa (1,00) y Hb (0,3) por litro es cuando los valores de los componentes azucarados son más parecidos a los iniciales.

· DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS ADENÍLICOS, HEMOGLOBINA Y PROTEINAS EN TEJIDOS.-

En la Tabla XCVII expresamos el contenido total de estas sustancias en los distintos medios ensayados:

<u>T A B L A XCVII</u>			
<u>Medios</u>	<u>Adenosina microm.</u>	<u>Hemoglobina Nanom.</u>	<u>Proteinas mgr.</u>
Ayunas	1,27	25,85	15,16
Iniciales	1,48	28,31	19,36
Glucosa (0,3)	1,48	29,20	22,36
Hemeglobina (0,3)	1,13	26,44	18,04
Glucog.(0,3) y Hb(0,3)	1,42	40,67	27,32
Glucog.(1,0) y Hb(0,3)	1,49	30,83	20,92

Los valores encontrados en todos los medios experimentan un aumento con respecto a los de ayunas, como se desprende de la Tabla XCVII exceptuando en el medio sólo con hemoglobina que los compuestos adenílicos experimentan una pérdida de 10,80%.

Igual que en el caso de los componentes azucarado, aquí también cuando al medio se le adiciona glucosa (1,00) gr. y 0,3 mgr. de Hb por litro, es cuando estos valores se asemejan mas a los iniciales.

DETERMINACIÓN DE AZÚCARES EN EL HOMOGENADO TOTAL DE ASCARIS.

En este caso se sigue igual modo de operar que en el fraccionado, pero con la salvedad de que aquí no hay que realizar la disección, sino que una vez pasado los tres días de cultivo se procede a trocear los *Ascaris* y se dializan; el tiempo de diálisis, para el homogenado, es de 12 horas, igual que el que seguimos anteriormente para órganos sexuales y cubiertas.

A continuación pasamos a hacer el estudio comparativo entre los valores encontrados en los distintos medios ensayados y los de ayunas:

Al comparar los valores iniciales frente a los de ayunas encontramos que las pérdidas de los componentes azucarados durante el cultivo en ayunas son notables alcanzándose valores hasta del 77,3 y 53,1% para trehalosa y glucosa respectivamente. Para el glucógeno (libre y combinado) las pérdidas oscilan alrededor del 30%.

Si al medio le adicionamos 300 mgr. de glucosa se observa una disminuci3n frente a ayunas para la trehalosa de 37,5%; el gluc3geno soluble experimenta un aumento del 44,1%; mientras que la glucosa y el gluc3geno combinado permanecen sin variaci3n significativa.

En la Tabla XCVIII expresamos el contenido total de estas sustancias en los distintos medios ensayados:

T A B L A XCVIII

<u>Medios</u>	<u>Trehalosa mgr.</u>	<u>Glucosa mgr.</u>	<u>Gluc3geno soluble. mgr.</u>	<u>Gluc3geno combinado mgr.</u>
Ayunas	1,76	1,99	12,24	26,85
Iniciales	3,12	2,99	16,69	35,15
Glucosa (,3)	1,10	2,16	17,64	28,75
Glucosa + Hb (0,3)	1,90	2,10	15,86	34,72
Glucosa (1,0) + Hb (0,3)	2,38	2,87	17,12	28,40

Si al medio le adicionamos, adem3s de la glucosa, hemoglobina observamos que aunque el valor de la trehalosa no aumenta

frente al de ayunas, tampoco experimenta pérdida; y sí hay por el contrario aumento con respecto al valor encontrado cuando al medio sólo se le adicionaba glucosa; la glucosa sigue permaneciendo constante, pero en cambio el glucógeno, tanto soluble como combinado, aumenta en un 27,7 y 29,3 % respectivamente.

Ahora si aumentamos la concentración de glucosa hasta 1 gr. y la hemoglobina la dejamos constante se observa un aumento altamente significativo en todos los azúcares del orden del 35,2; 44,2; 39,9; y 25,8% para trehalosa, glucosa, glucógeno, soluble y combinado, respectivamente.

DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS ADENÍNICOS, HEMOGLOBINA Y PROTEÍNAS EN HOMOGENADOS TOTAL DE ASCARIS:

En la Tabla IC expresamos el contenido total de estas sustancias en los distintos medios ensayados:

<u>T A B L A IC</u>			
<u>Medios</u>	<u>Adenosina microm.</u>	<u>Hemoglobina nanomoles</u>	<u>Proteínas mgr.</u>
Ayunas	1,69	44,28	30,56
Iniciales	2,22	47,48	40,19
Glucosa (0,3)	1,54	45,62	33,98
Glucosa (0,3) + Hb(0,3)	1,89	46,98	40,19
Glucosa (1,0) + Hb(0,3)	1,94	48,66	35,17

Al realizar el estudio comparativo entre los medios y el de ayunas, encontramos:

En iniciales hay un aumento del orden de 31,3; 12,0; y 16,1% para adenosina, hemoglobina y proteínas respectivamente.

En el medio con glucosa (0,3) no hay ninguna variación significativa entre los valores de adenosina y hemoglobina, pero si es significativa el de proteínas. Si al medio, junto con la glucosa, adicionamos hemoglobina (0,3) observamos que se recuperan los valores de adenosina (11,8%) y los de proteínas (31,5%), pero la hemoglobina, aunque hay un poco de recuperación con respecto al anterior medio, no llega a alcanzar un aumento significativo.

Si aumentamos la concentración de glucosa hasta un gramo y la hemoglobina la dejamos a la misma concentración anterior, observamos que hay un aumento de 14,8; 9,9; y 15,1% para adenosina, hemoglobina y proteínas respectivamente.

Si realizamos comparaciones entre las medias de los componentes analizados obtenidas en tejidos y homogenados totales observamos que son superiores en el caso del homogenado.

DETERMINACIÓN DE LOS COMPONENTES, EN MEDIOS ADICIONADOS CON ANTI-BIÓTICOS, SULFAMIDAS Y ANTIFÚNGICOS.

Se han realizado experiencias en las cuales se han usado un medio sin nutrientes y medios con nutrientes (glucosa, 1gr.

+ hemoglobina, 0,3gr.) y a éstos dos se le ha adicionado las distintas concentraciones reseñadas anteriormente en las Tablas XCIII y XCIV.

En la Tabla C, expresamos el contenido de estos componentes en los medios ensayados con diferentes inhibidores del crecimiento microbiano.

T A B L A C

<u>Medios</u>	<u>Aden.</u> <u>mm/gr.</u>	<u>Trehal.</u> <u>mgr/gr</u>	<u>Gluc.</u> <u>mgr/gr</u>	<u>Hb</u> <u>nm/gr</u>	<u>Prot.</u> <u>mgr/gr</u>	<u>Glucóg.</u> <u>libre.</u> <u>mgr/gr</u>	<u>Glucóg.</u> <u>combin.</u> <u>mgr/gr</u>
Cantrisona	1,75	1,79	2,36	38,01	25,48	17,08	32,89
Can+gluc+Hb	2,20	2,03	2,50	47,33	32,13	17,44	33,52
Nistatina	1,69	1,40	1,46	27,98	30,10	9,55	17,32
Nist+gluc+Hb	1,82	1,57	3,40	48,00	31,03	17,70	23,83
Sulfoguanidina 1	,94	2,35	0,33	37,11	32,87	12,51	25,83
Sulf+gluc+Hb	2,21	2,32	3,16	44,85	31,23	16,37	36,29
Penicilina	2,08	2,15	2,14	58,32	33,29	12,52	37,22
Pen+gluc+Hb	2,12	2,24	2,25	53,64	36,61	19,51	32,42
Estreptomocina	1,75	1,29	2,02	40,19	28,39	23,45	24,51
Estrep+gluc+Hb	2,05	1,83	2,25	52,11	37,20	18,24	34,55
Clamamicina	1,74	0,49	2,36	42,62	31,58	9,98	22,93
Can+gluc+Hb	1,98	0,38	1,91	76,69	50,64	12,19	21,96
Tetraciclina	1,70	0,51	1,39	37,25	24,20	11,77	16,37
Tetrac+gluc+Hb	2,31	1,99	2,91	42,99	29,18	15,34	30,24

El análisis detallado y por componentes de la Tabla nos indica que:

T A B L A G E N E R A L (RESUMEN)

T E J I D O S

Medios:Tyrode adicionado.	<u>G</u>	<u>T</u>	<u>GL.</u>	<u>Gc.</u>	<u>Hb.</u>	<u>P</u>	<u>A</u>
	<u>+ % A</u>	<u>+ % A</u>	<u>+ % A</u>	<u>+ % A</u>	<u>+ % A</u>	<u>+ % A</u>	<u>+ % A</u>
Iniciales	+78,0	+65,9	+20,7	+29,1	+29,6	+27,7	+16,5
Glucosa	+66,0	---	+52,1	+17,8	+33,6	+47,5	+16,5
Hemoglobina	+44,0	---	---	---	+21,0	+19,0	-10,8
Glucosa (0,3) + Hb (0,3).	+24,0	-55,1	+15,3	+28,6	+86,1	+80,2	+11,8
Glucosa (1,0) + Hb (0,3)	+84,0	+37,4	+26,1	+68,0	+41,1	+38,0	+17,3

1°) GLUCOSA.- La glucosa desciende en todos los casos en ausencia de nutrientes incluso cuando al medio se adiciona glucosa a baja concentración (0,3 g/litro). En presencia de antibióticos este descenso es superior al valor en ayunas destacando la sulfoguanidina con un -83,4%. En contraste, la otra sulfamida ensayada, la gantrisona, frena el descenso de la glucosa en ayunas dando un tanto por ciento positivo. La adición de nutrientes al medio (glucosa como elemento hidrocarbonado y hemoglobina del cerdo como nutriente protéico y aportador de grupos hemo) neutraliza los efectos anteriores incluso superando el valor inicial. Es el caso de la nistatina que de un -26,6% pasa a un +70,8%.

2°) TREHALOSA.- La trehalosa desacárido no reductor característico de los invertebrados tanto artrópodos como no artrópodos ha sido relacionado su contenido en la hemolinfa de los insectos voladores con la intensa actividad muscular que han de desarrollar durante el vuelo. Su existencia en el líquido celómico y tejidos de los nematodos y cuya actividad muscular es pequeña puede estar relacionada con la formación de ATP como fuente energética inmediata, dado a que los fosfágenos (fosfoarginina y fosfocreatina) son prácticamente inexistentes en los nematodos. Su descenso durante el cultivo en ayunas no se recupera en ningún caso, e incluso la presencia sola de glucosa o de algunos antibióticos incrementan aún más las pérdidas en sobrevivencia. Casos extremos son la kanamicina y la tetraciclina que hacen bajar la trehalosa a cifras de -73,1 y -71,0%. Sin embargo la sulfoguanidina mantiene el nivel de trehalosa en un 33,5%. La presencia de hemoglobina en el medio mejora estos valores finales sin que en ningún caso llegue a alcanzarse el nivel inicial. El nivel más

alto se obtiene precisamente en ausencia de sulfamidas y antibióticos.

3º) GLUCOGENO LIBRE.- Durante mucho tiempo ha sido objeto de discusión la presencia de dos formas de glucógeno en los tejidos: el que denominamos libre o lio-glucógeno y el combinado o desmo-glucógeno. Muchos autores han considerado estos tipos como artefactos del proceso analítico pero es evidente que si fuese así, utilizando sistemáticamente la misma técnica la relación entre ambos valores debía ser constante y no ocurre así como se observa en nuestras experiencias.

La fracción libre que puede considerarse como un polisacárido de reserva de inmediato uso es poco influenciado por los medios manteniendo sus valores en las proximidades de los valores iniciales. Son excepción la nistatina sola y la kanamicina sola que descienden su contenido final por bajo del de ayunas. Podría admitirse que hay un mecanismo operativo de regulación de esta fracción hidrocarbonada que es alterado por estos antibióticos. Por esta razón el efecto de los nutrientes es menos evidente, salvo en el caso de los antibióticos indicados que en el caso de la kanamicina neutraliza en parte el efecto nocivo de la misma y totalmente en el caso de la nistatina.

4º).- GLUCOGENO COMBINADO.- El glucógeno combinado es el que en tanto por ciento constituye la mayor parte de los componentes hidrocarbonados del *Ascaris*. Sus variaciones por consiguiente son las que reflejan más aproximadamente las modificaciones de los glúcidos totales. De forma análoga a la glucosa su descenso

en medio Tyrode sólo o adicionado de antibióticos o sulfamidas es compensado por la adición de glucosa y hemoglobina al medio. Si se conjuga el efecto de las sulfamidas y antibióticos sobre las reservas hidrocarbonadas (ambos tipos de glucógeno) el efecto más desfavorable lo produce la nistatina, seguida de la kanamicina y tetraciclina y el efecto más favorable lo produce la estreptomina la gantrisona y la penicilina.

5°) PROTEINAS.- El nivel de proteínas se mantiene en medios sépticos cuando se adicionan nutrientes y desciende a nivel de ayunas o por debajo cuando se agrega al medio antibióticos o sulfamidas. El caso más extremo es el de la gantrisona y tetraciclina que ponen el nivel final en un -16,6 y -20,8 %. La adición de glucosa y hemoglobina al medio recuperan las proteínas del *Ascaris* en el caso de la penicilina, kanamicina y estreptomina pero no tienen efecto en los restantes.

6°) HEMOGLOBINA.- El color rosado del *Ascaris* es debido en su mayor parte a la hemoglobina muscular. A simple vista se observa la diferente tonalidad rosada, mas o menos intensa entre lotes de *Ascaris* procedentes de diferentes cerdos. El *Ascaris* no parece estar capacitado para la biosíntesis de la protoporfirina, aunque si para su propia globina. Su contenido en hemoglobina es prácticamente dependiente del aporte exógeno. La presencia en el medio de hemoglobina debe de mantener los valores iniciales o incrementarlos. Esto es lo que ocurre en todos los casos analizados incluso cuando el antiséptico sólo hace descender el valor final por debajo del nivel en ayunas.

7º) "DERIVADOS ADENILICOS".- Como se ha indicado anteriormente expresa un grupo de sustancias que absorben a 260 milimicras y que son dializables y que engloban tanto a derivados púricos y pirimidínicas como a aminoácidos aromáticos como triptfano y fenilalanina. La diferencia entre nucleósidos y aminoácidos se puede establecer por el cociente de extinción a 260/280. El cociente obtenido en todos los casos en que se ha calculado es próximo a 0,2 lo que indica que prácticamente los componentes principales de esa fracción son los derivados adenílicos.

En este caso la presencia de sulfamidas o antibióticos en el medio sin nutrientes no afecta más al nivel final que afecta el ayuno y la presencia de hemoglobina en el medio recupera el valor inicial.

En términos generales puede deducirse que salvo en el caso de los derivados adenílicos en que los antibióticos no modifican los resultados de las condiciones de ayunas en medio séptico, en los restantes casos influyen negativamente sobre la sobrevivencia del *Ascaris*. Influencia que en parte y no en todos los casos es neutralizada por la adición de nutrientes al medio. La recuperación mas homogénea de todos los componentes analizados se realiza en medio séptico en presencia de glucosa al 1 por mil y de hemoglobina al 0,3 por mil. El antibiótico menos perjudicial es la penicilina seguido de la tetraciclina y sulfoguanidina. En conclusión el medio que consideramos mejor para mantener en sobrevivencia al *Ascaris* durante tres días en condiciones óptimas es el siguiente:

Solución de Tyrode con bicarbonato ...	1.000 ml.
Glucosa	1 gramo.
Hemoglobina de cerdo	0,3 gramos
Penicilina	0,25gramos
Nistatina	0,03gramos

Aunque la nistatina no favorece el mantenimiento de los niveles de los componentes analizados en el *Ascaris* hemos optado por su adición al medio para evitar las contaminaciones circunstanciales por hongos ambientales.

EFFECTO DE LOS ANTIHELMÍNTICOS SOBRE EL ASCARIS.

Los estudios del modo de acción de las drogas antihelmínticas han demostrado que sus efectos quimioterápicos pueden ser considerados en unos casos por depresión de la actividad muscular y en otros por inhibición de mecanismos bioquímicos que suministran la energía para la integridad funcional del parásito.

Una vez establecido un medio de cultivo idóneo para la sobrevivencia del *Ascaris* continuamos nuestro estudio para ver los efectos que tienen una serie de sustancias sobre el verme.

Hemos ensayado con una serie de sustancias ya conocidas por sus cualidades de la serie de los pesticidas. El hecho de utilizar pesticidas podría dar lugar a pensar que algunos serian perjudiciales para el hospedador, pero conviene aclarar que nosotros en todo momento hemos tenido presente el índice de toxicidad y hemos ensayado dosis por debajo de este índice.

Para determinar el efecto que la droga causa en el *Ascaris*, hemos utilizado la capacidad que tiene el *Ascaris* con sus movimientos de mover la aguja del registro gráfico del aparato de cultivo utilizado.

Los criterios que hemos seguido es el siguiente:
Los *Ascaris* recién traídos del Matadero, se pesan y a continuación se ponen en cultivo, se dejan durante 18 horas, para comprobar que la movilidad del *Ascaris* es correcta y a continuación se le inyecta, en el vaso donde se encuentra la sustancia a ensayar, la inyección de la sustancia se realiza a continuación de una de las renovaciones y de esta forma se deja al *Ascaris* expuesto a la acción del antihelmíntico durante 4 horas, después es nuevamente renovado el medio del vaso y a continuación dejamos al *Ascaris* otras 18 horas, ya que pensamos que si la acción del antihelmíntico no se produce dentro de las 12 después de la inyección de éste, no se ha de producir.

Hemos intentado determinar las dosis en las cuales es inhibido en su movilidad de una forma total y la dosis en la cual el *Ascaris* no es inhibido pero sin matarlo.

Dentro de los antihelmínticos ensayados, hemos probado el Pamoato de Pyrantel, los efectos que hemos observado coinciden con los observados por AUBRY, COWELL, DAVEY y SHERDE (1970) y GOODWIN (1975) que vieron que al suministrar al medio dosis del orden 100-10 mgr./100 que el gusano cesaba bruscamente en sus movimientos. Nosotros hemos probado con dosis más inferiores del orden de 1, 0,1, 0,05, 0,01 y 0,001 mgr./100 y observamos que las dosis 1, 0,1 y 0,05 producían también parálisis brusca en el

Ascaris; cuando ensayamos la dosis de 0,01 vimos que se produce un inhibición parcial a las 7 horas de suministrar el antihelmíntico, pero la parálisis que produce es tempral, ya que a las 16 horas, el *Ascaris* vuelve a recuperar sus movimientos, aunque estos ya no son tan rítmicos como los anteriores. Cuando ensayamos la dosis de 0,001 observamos que no se produce inhibición de la movilidad del *Ascaris*.

Según nuestras experiencias, estamos de acuerdo con ANBRY COWELL, DAREY y SHERDE (1970); BOTERO y AMANDA CASTAÑO (1972); GOODWIN (1975) sobre la acción del Pamoato de Pyrantel, causando un bloqueo sobre el sistema neuro-muscular del parásito ocasionándo parálisis y la muerte.

Ningún autor encuentra efectos secundarios en el hospedador tratado con este antihelmíntico (NETO, LEVI y CAMPOS, 1970). Por lo tanto podemos concluir que el Pamoato de Pyrantel es un antihelmíntico recomendable para combatir al *Ascaris*, ya que a dosis sumamente pequeñas es efectivo.

Está demostrado que en el tratamiento de la oxyuriasis se ha consiedrado muy eficáz el Pamoato de Pirvinio (OTERO DOMINGUEZ y ARGUDIN ROMERO, 1967; CARLIER Y WITRY, 1965). Este mismo antihelmíntico ha sido ensayado por HERMOSO y MONTEOLIVA en 1970 en *Ascaris*, y encuentran que a dosis de 18 mgr.inhiben la actividad muscular tardando en producirse esta acción unas nueve horas aproximadamente; dosis de 168, mgr., continuan los autores, provocan una inhibición total, mas o menos, a la hora de inyectar el antihelmíntico. Nosotros hemos ensayado diversas dosis y vemos que a

dosis de 10 mgr./100 de medio, se produce una cierta inhibición de la actividad muscular del *Ascaris*, a las 6 horas, aproximadamente, de la inyección de la droga. Si la dosis la aumentamos a 20 mgr., esta inhibición se produce aproximadamente a las 3 horas y si la dosis es de 100 mgr., la disminución de la actividad muscular se produce desde el mismo momento en que se suministra la droga. A dosis de 200 mgr. se produce una inhibición total a partir de las 3 horas y a 500 mgr. la inhibición es total desde el mismo momento en que se suministra la droga. En ningún caso hemos observado recuperación.

Aunque se sabe que el producto no es tóxico, presenta ligeros inconvenientes digestivos (MILOSARLJEVIE y LAMBRECHTS, 1964); no es desde luego uno de los mejores remedios para combatir la Ascariasis.

La fenotiazina es otro de los antihelmínticos ensayados, y hemos podido observar que no es de una gran eficacia, por lo cual estamos de acuerdo con otros autores BENNET (1968); HERMOSO Y MONTEOLIVA (1970). Hemos ensayado dosis desde 1 mgr. hasta 100 mgr., y sólo a partir de las dosis desde 10 mgr. hemos podido apreciar una ligera inhibición de la actividad muscular, pero esta inhibición no se hace total sino en dosis sumamente alta. HARWOOD (1953) señala que tiene un limitado efecto sobre el *Ascaris*. Esto está de acuerdo con otros autores, DIAZ UNGRIA (1960); CASTRO y BACH (1966) y THOMAS W. y col. (1969), indican que su actividad antihelmíntica está relacionada con la concentración de semiquinona. HARWOOD (1953) utilizando hígado de rata apunta que su acción va dirigida hacia la contribución de la succinoxidasa de mi-

tocondrias. Este mismo autor afirma que la fenotiazina atraviesa la cutícula del *Ascaris*. KROTOV (1970) clasifica a la fenotiazina como inhibidora enzimática, pero de menor efecto que el tiabendazol.

La piperaina reúne las cualidades de todo buen antihelmíntico se ha ensayado dosis que van desde 10 mgr. a 200 mgr./100 y observamos que a las dosis de 200 y 100 mgr. la inhibición es total desde el mismo momento de la inyección, si bajamos la dosis a 50 mgr. la inhibición también se produce pero tarda 6 horas, por el contrario a 25 mgr. la inhibición no es total sino parcial. Es un inhibidor de la actividad muscular del *Ascaris*, aunque algunos autores (OSTENX y col., 1971) apuntan que la parálisis producida por este antihelmíntico es reversible y el *Ascaris* paralizado se recupera por adición ulterior de CoA o de ATP; aunque HERMOSO y MONTEOLIVA (1970) no encuentran en sus experiencias recuperación.

Han sido ensayados diversas sales de piperazina encontrándose que todas ellas son igualmente eficaces. Se puede concluir que la piperazina es un antihelmíntico bastante aceptable.

El tiobendazol es uno de los antihelmínticos empleados en la lucha contra *Strongyloides*, *Ascaris* y *Trichinidos*, por ser de amplio espectro antihelmíntico. Según THOMAS y col. (1969) tiene la ventaja sobre la fenotiazina de actuar sobre las formas larvarias. Hemos ensayado diversas dosis la mayor que es de 100 mgr./100 produce inhibición total instantánea, a dosis de 1 mgr. también se produce inhibición pero esta no es total y si disminuimos la dosis a 0,1 mgr./100 la inhibición se sigue produciendo pero a las 12 horas de haberla inyectado. En ningún caso se observa recuperación.

Antes de la aparición del tetramisol, la piperazina era el antihelmíntico predilecto; son numerosos los autores que lo han estudiado y todos están de acuerdo en que es más activo que la piperazina e igual al tiobendazol (GRUMBERG y CLEELAND, 1967 y CHERNYAERA y col., 1971).

Nosotros hemos comprobado que lo anteriormente dicho es cierto, ya que a dosis de 1 mgr./100 la inhibición que produce es total e instantánea y aun a dosis menores (0,1 y 0,01) se sigue produciendo inhibición parcial, en el caso de dosis de 0,01 a las 5 horas se produce inhibición temporal ya que el *Ascaris* a las 12 horas recupera su movilidad.

La santonina es un antihelmíntico conocido desde hace bastante tiempo por su acción inhibidora sobre el metabolismo respiratorio del *Ascaris in vitro* (KASHIYAMA y col., 1961). KROTOV (1958) y MIYAGAWA (1961) señalan su acción inhibidora de la actividad catalásica, peroxidásica y descende marcadamente el contenido de histamina del líquido perivisceral. Hemos encontrado que a dosis de 10 y 5 mgr. produce inhibición total de la movilidad del *Ascaris*, incluso a 1 mgr. también produce algo de inhibición.

El hexilresorcinol se ha usado como antihelmíntico por su efecto ovicida y ascaricida. Dosis de 100 y 50 mgr./100 inhiben la actividad muscular del *Ascaris* totalmente y aun con dosis menores 10 mgr. se consigue la inhibición aunque en este caso no sea total. Su acción puede explicarse porque inhibie la dehidrogenasa (MIURA y col., 1956) y el metabolismo respiratorio del músculo del *Ascaris* (KOSHIYAMA y col., 1961); en resumen, tiene una acción similar a la santonina (KOSHIYAMA y col., 1963; KROTOV, 1958).

El ácido γ -aminobutyrico (GABA) fue ensayado (Del CASTILLO y col., 1964) como antihelmíntico y observaba que tenía una acción similar a la de la piperazina. Nosotros observamos esta similitud, aunque quizá sea menos efectiva ya que la inhibición total de la movilidad del *Ascaris* se consigue a dosis de 150 mgr. y con dosis de 25 mgr. no se observa ningún efecto inhibitor, mientras que la piperazina a dosis de 10 mgr. aun produce inhibición.

Los organofosfatos y carbamatos utilizados ampliamente para combatir las plagas del campo últimamente se vienen utilizando en parasitosis ganaderas. Se ha ensayado el sevin como antihelmíntico encontrando que posee una acción inhibitora de la actividad muscular del *Ascaris* a dosis relativamente bajas, sin llegar al índice de toxicidad, tal como se observa en la Tabla LXXXVII, a dosis de 1 mgr. se produce inhibición total y a 0,01 mgr. sigue produciendo inhibición. Parece ser que su acción se realiza produciendo inhibición de la colinesterasa.

También hemos ensayado una serie de organofosforados: uno de ellos es el Dichlorvos, TARAZONA VILAS (1968) dice que el efecto paralizante del Dichlorvos sobre el *Ascaris* es muy superior al de la piperazina. Nosotros hemos encontrado que a dosis de 0,01 mgr./100 se produce inhibición total del *Ascaris* a las 8¹/₂ horas de suministrar el antihelmíntico y aun a dosis mas bajas 0,0001 mgr. se sigue produciendo inhibición parcial desde el mismo momento de inyectar el antihelmíntico. KNOWLES y CASIDA (1966) apuntan que el efecto de los organofosforados sobre el *Ascaris* es produciendo inhibición sobre la colinesterasa.

También hemos ensayado el DDT (organoclorado) sobre el

Ascaris, pero hemos observado que la inhibición que produce es muy pequeña y sólo a dosis de 0,1 mgr. tiene lugar inhibición parcial.

Hemos probado la acción de otros organofosforados sobre el cultivo de *Ascaris*: *Dipterex* y *Metasystox*, ambos presentan una actividad sobre los *Ascaris* produciendo inhibición de la movilidad a dosis inferiores a los índices de toxicidad; observando las Tablas XC y XCI, vemos que el *Dipterex* parece ser más potente que el *Metasystox*.

El mebendazol es uno de los últimos antihelmínticos ensayado para ver la acción sobre los *Ascaris*, encontrándose que posee un potente efecto inhibitor de la motilidad de *Ascaris* (PEÑA CHEVARRIA y col., 1973). Además reúne las cualidades de todo buen antihelmíntico ya que posee toxicidad muy baja. A dosis de 0,5 mgr. produce inhibición total del *Ascaris* (Tabla XCII) y a 0,1 mgr. también aunque a las 5 horas presenta recuperación. A otras dosis inferiores sigue observando inhibición parcial.

A continuación realizamos una Tabla en la cual se observa las dosis mínimas de inhibición, el tiempo que tarda y el tipo de inhibición de todas las sustancias ensayadas:

T A B L A XCVII

(RESUMEN)

	<u>Dosis mínima de inhibición. mgr./100 ml.</u>	<u>Tiempo (horas)</u>	<u>Inhibición</u>
Pamoato de Pirvinio	200	3	++
Fenotiacina	10	3 ¹ / ₂	+
Piperazina	50	6	++
Tiobendazol	100	0	++
Tetramisol	1	0	++
Pamoato Pyrantel	0,05	0	++
Santonina	5	5	++
Hexilresorcinol	50	1 ¹ / ₂	++
GABA	150	0	++
Sevin	1	0	++
Dichlorvos	0,01	8 ¹ / ₂	++
DDT	0,1	0	+
Dipterex	50	5	++

.....//.....

Continuación de la TABLA XCVII

	<u>Dosis mínima de inhibición. mgr./100 ml.</u>	<u>Tiempo (horas)</u>	<u>Inhibición</u>
Metasystox	100	2	++
Mebendazol	0,1	0	++

F.- RESUMEN Y CONCLUSIONES.

- 1) Se ha realizado la sobrevivencia del *Ascaris in vitro* utilizando un dispositivo especialmente construido para este fin que nos permite cultivar 5 *Ascaris* por separado, tiempo de 72 horas, a temperatura constante de 30°C y renovación automática del medio cada 4 horas.
- 2) Como medio base se ha utilizado un Tyrode modificado, al que se le adicionan varios nutrientes y diversos antibióticos, sulfamidas y antifúngicos.
- 3) Se han elegido unos controles fisiológicos (registro gráfico) y bioquímicos (componentes azucarados, hemoglobina, proteínas y compuestos adenílicos) para estudiar la normalidad del *Ascaris* cultivado.
- 4) En primer lugar se realizaron análisis en los diversos tejidos encontrándose que las diferencias eran a veces contradictorias y que sólo manifiestan significación estadística cuando los valores parciales se referían a *Ascaris* total.
- 5) Lo anterior nos indujo a realizar los análisis finales en homogenados totales con lo cual se simplifica la técnica analítica, y se obtienen unos valores mas altos en cada uno de los controles bioquímicos analizados.
- 6) Los valores iniciales (referentes a *Ascaris* recién extraídos del hospedador) serían los normales, comprobándose que cuando al medio de Tyrode se le adiciona glucosa 1 gr. y hemoglobina

0,3 gr. por litro es cuando los valores de los componentes analizados se aproximan mas a los iniciales.

- 7) Se ha estudiado la posible incidencia sobre la sobrevivencia de los antibióticos, sulfamidas y antifúngicos adicionados al medio.
- 8) El medio que consideramos más idóneo para mantener en sobrevivencia al *Ascaris* durante tres dias en condiciones óptimas es: solución de Tyrode modificado con bicarbonato, 1000 ml., glucosa, 1gr., hemoglobina de cerdo, 0,3 gr., penicilina, 0,25 gr. y nistatina, 0,03 gr.
- 9) Para estudiar el efecto antihelmíntico de las diversas sustancias ensayadas se ha seguido el criterio de observar la inhibición de la capacidad que tiene el *Ascaris* de mover una aguja inscriptora que controla continuamente sus movimientos.
- 10) Dentro de los antihelmínticos se ha encontrado que son más efectivos: Pamoato de pyrantel, Mebendazol, Tetramisol, Santonina, Fenotiacina, Piperazina, Tiobendazol, Hexilresorcinol, GABA, y Pamoato de Pirvinio, según orden de efectividad.
- 11) Dentro de los pesticidas ensayados se observa que los mejores como antihelmínticos serian en primer lugar los organofosforados: Dichlorvos, Depterex y Metasystox, teniendo en cuenta que las dosis mínimas de inhibición están muy por debajo de su índice de toxicidad. Seguido del Sevin (carbamato) y por último el DDT (organoclorado).

G.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Aceves, J.; Erlij, D.; and Martínez-Marañón, R. (1970).
THE MECHANISM OF THE PARALYSING ACTION OF TETRAMISOLE ON *Ascaris* SOMATIC MUSCLE.
Br. J. Pharmacol. 38, 602.
- 2.- Adan, W. (1932).
Citado por Savel, J. (1954).
- 3.- Amato Neto, V; Levi, G.C.; Campos, L.L. (1970)
OBSERVACOES SOBRE ATIVIDADE ANTIHELMINTICA DO PAMOATO DE PIRANTEL.
I. TRATAMIENTO DA Ascaridiase.
Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo, 12, 207.
- 4.- Arquímedes Canese; Rojas del Puerto, E.; Sánchez A.; Ojeda, N. (1971)
CONTROL DE LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO ANTIHELMINTICO.
Rev. Parg. de Microbiol. 1, 89.
- 5.- Aubry, M.L.; Paulene Cowell; Davey, M.J.; Shede, S. (1970)
ASPECTS OF THE PHARMACOLOGY OF A NEW ANTHELMINTIC: PYRANTEL.
Br. J. Pharmacol. 38, 332.
- 6.- Baldwin, E.; King, H.K. (1942).
GLUCOGEN. 8. THE GLUCOGEN OF *Ascaris lumbricoides* FROM THE PIG.
Biochem. J., 36, 37.
- 7.- Barrett, J.; Beis, I. (1973a)
NICOTINAMIDE AND ADENOSINE NUCLEOTIDE LEVELS IN *Ascaris lumbricoides*,
Hymenolepis diminuta AND *Fasciola hepática*.
Int. J. Parasitol., 3, 271.
- 8.- Barrett, J.; Beis, I. (1973b)
THE REDOX STATE OF THE FREE NICOTINAMIDE-ADENINE DINUCLEOTIDE COUPLE
IN THE CYTOPLASM AND MITOCHONDRIA OF MUSCLE TISSUS FROM *Ascaris lum-*
bricoides (NEMATODA).
Comp. Biochem. Physiol. 44, 331.
- 9.- Benedictok, I.I.; Salmenkova, E. (1964).
INHIBITION OF TRANSAMINATION REACTIONS AND OF KREBS' CYCLE DICARBOXYLIC
ACIDS.
OXIDATION BY B-HIDROXYNAPHTHOIC ACID.
Med. Parasitol. (Moskba), 33, 304.

- 10.- Benese, J.; Lamy, L. (1967).
APPLICATION D'UN TEST DE SURVIE DE *Dicrocoelium* A L'ETUDE DE L'ACTIVITE
EXPERIMENTALE DE DIVERSES SUBSTANCES CHIMIQUES.
Bull. Soc. Pat. Exot. 59, 99.
- 11.- Berutzen, A.K. (1966).
ENVIROMENTAL REQUIREMENTS FOR GROWTH AND DIFFERENTIATION in vitro OF *H. di-*
minuta ADULTS.
Proc. 1st. Internat. Congress. Parasit., 1, 499
- 12.- Billandots, A.; Ortiz, E.; Goycochea, C.De.; Sylvester, V.B. De. (1975).
ANTHELMINTIC ACTION OF A NEW SALT OF LEVAMISOLE, LEVAMISOLE PHOSPATES COM-
PARED WITH LEVAMOSOLE CHLOROHYDRATE.
Gaceta Veterinaria, 37, 188 (Es).
- 13.- Borgers, M.; Nollin, D.; Brabander, M.; Thiempont, D. (1975).
INFLUENCE OF THE ANTIHELMINTIC MEBENDAZOLE ON MICROTUBULES AND INTRACELLULAR
ORGANELLE MOVEMENT IN NEMATODE INTESTINAL CELLS.
Am. J. of Vet. Research, 36, 1153.
- 14.- Bossche, H. Van den; Borgers, M. (1973)
SUBCELLULAR DISTRIBUTION OF DIGESTIVE ENZYMES IN *Ascaris suum* INTESTINE.
Int. J. Parasitol., 3, 59.
- 15.- Von Brand, T. (1934)
DER STOFFWECHOEL VON *Ascaris lumbricoides* BEI OXYBIOSE AND ANOXYBIOSE.
Z. Vergl. Physiol. 21, 220.
- 16.- Von Brand, T. (1937)
Citado por Von BRAND, T. en BIOCHEMISTRY OF PARASITES.
Academic Press. New. York, and London. 1966.
- 17.- Von Brand, T. (1950).
THE CARBOHYDRATE METABOLISM OF PARASITES.
J. Parasitol., 36, 178.
- 18.- Bueding, E. (1949).
METABOLISM OF PARASITIC HELMINTHS.
Physiol. Rev. 29, 195.
- 19.- Bueding, E. (1969).
SOME BIOCHEMICAL EFFECTS OF ANTHELMINTIC DRUGS.
Biochem. Pharmacol., 18, 1541.

- 20.- Bueding, E.; Vale, H.W. (1951).
PRODUCTION OF A METHYLBUTYRIC ACID BY BACTERIA-FREE *Ascaris lumbricoides*.
J. Biol. Chem. 193, 411.
- 21.- Bueding, E.; Peters, L.; Koletsky, S.; Moore, D.V. (1953).
Citado por BUEDING, E. SOME BIOCHEMICAL EFFECTS OF ANTHELMINTIC DRUGS.
Biochem. Pharmacol. 18, 1541.(1969)
- 22.- Bueding, E.; Farrow, G.W. (1956).
Citado por BUEDING, E. SOME BIOCHEMICAL EFFECTS OF ANTHELMINTIC DRUGS.
Biochem. Pharmacol. 18, 1541.(1969)
- 23.- Bueding, E.; Saz, H.J. (1968).
PYRUVATE KINASE AND PHOSPHOENOLPYRUVATE CARBOXYKINASE OF *Ascaris* MUSCLE,
Hymenolepis diminuta AND *Schistosoma mansoni*.
Comp. Biochem. and Physiol. 24, 511.
- 24.- Cain, G.D.; Welsman, I.R. (1973).
EFFECT OF DIETARY TETRAPYRROLES ON GUT PIGMENTATION AND PERIENTIC FLUID
HEMOGLOBIN CONCENTRATION IN *Ascaris lumbricoides*.
Int. J. Parasitol. 3, 623.
- 25.- Campos, E.F. (1971).
TETRAMISOL EN AVES.
Gaceta Veterinaria, 33, 73.
- 26.- Carlier, G.; Writry, J. (1965).
ACTIVITE THERAPEUTIQUE ET TOLERANCE DU PAMOATO DE PYRVINIUN ATRES FAIBLE
DOSE DANS L'OXYUROSE DE L'ENFANT.
Rev. Med. Liège. 17, 461.
- 27.- Castel, P.; Gras, G. (1963).
ETUDE in vitro ET in vivo DE L'ACTIVITE ANTHELMINTHIQUE DE LA POLYMYXINE.
EFFECTS DE L'ASSOCIATION AVEC LA PIPERAZINE.
Trabajos de la Soc. Pharm. Montpellier, 23, 51.
- 28.- Del Castillo, J.; Nello, W.C.; Morales, T. (1963).
THE PHYSIOLOGICAL ROLE OF ACETYLCHOLINA IN THE NEUROMUSCULAR SYSTEM OF
Ascaris lumbricoides.
Archives Intern. de Physiol. et de Biol., 71, 741.
- 29.- Del Castillo, J.; Nello, W.C.; Morales, T. (1964 a).
MECHANISM OF THE PARALYSING ACTION OF PIPERAZINE ON *Ascaris* MUSCLE.
Br.J. Pharmacol. 22, 463.

- 30.- *Del Castillo, J.; Nello, W.C.; Morales, T. (1946 b).*
INHIBICION ACTION OF GAMMA-AMINOBUTYRIC ACID (GABA) ON *Ascaris* MUSCLE.
Experientia, 20, 141.
- 31.- *Castro y Bach, E.R. (1966).*
ENSAYOS COMPARATIVOS ENTRE THIABENDAZOL Y FENOTIACINA.
Bol. Cent. Invest. Vet.. Miguel C. Rubino, 4, 51
- 32.- *Cavier, R.; Savel, J. (1951).*
SUR LA COMPOSITION CHIMIQUE DE L'*Ascaris* DU PORC. *Ascaris lumbr. LINNE*, 1758
Bull. Soc. Chim. Biol. 33, 447.
- 33.- *Cavier, R.; Savel, J. (1953 a).*
CONTRIBUTION A L'ETUDE DU METABOLISME GLUCIDIQUE CHEZ *Ascaris* DU PORC.
Extr. Actes Congress Luxemburgo, 665.
- 34.- *Cavier, R.; Savel, J. (1953 b).*
SUR LA PRESENCE D'UNE PHOSPHORILASE CHEZ L'*Ascaris* DU PORC, *Ascaris lumbricoides LINNE*, 1758.
C.R. Acad. Sci. 237, 99.
- 35.- *Cavier, R.; Savel, J. (1954 b).*
L'UREOGENESIS CHEZ L'*Ascaris* DU PORC.
Bull. Soc. Chim. Biol., 36, 1425.
- 36.- *Cavier, R.; Savel, J. (1960).*
CONTRIBUTION A L'ETUDE DU L'ORIGINE ET DU SORT TREHALOSE CHEZ *Ascaris lumbricoides*.
Rev. Esp. Fisiol. 16, 317.
- 37.- *Cavier, R.; Savel, J.; Monteoliva, M. (1958).*
NATURE ET REPARTITION SELON LE REXE DES SUBSTANCES LIPIDEQUES CHEZ *Ascaris lumbricoides*, *LINNE*, 1758.
Bull. Soc. Chim. Biol. Extra, 40, 177.
- 38.- *Cavier, M.; Mips, R. (1967).*
ETUDE DES PROPRIETES ANTHELMINTHIQUES DE DENSE NOUVEAUSE DERIVES DU BENZOAZOLES.
Bull. Soc. Pharmac. Nancy, 81, 5.
- 39.- *Cavier, M.; Notteghem, M.J. (1968).*
ESSAI PHARMACOLOGIQUE DE QUELQUES ANTHELMINTHIQUES AGISSANT SUR LES CESTODES DE L'INTESTIN DE L'HOMME.
Ann. Pharm. Franc., 26, 9, 603.

- 40.- Cervoni, W.A.; Oliver-González, J. (1971).
CLINICAL EVALUATION OF PYRANTEL PAMOATE IN HELMINTHIASIS.
Am. J. Trop. Med. Hyg. 20, 589.
- 41.- Cleeland, R.; Laurence, K.A. (1962).
In vitro CULTIVATION OF *Ascaris lumbricoides*, var. suum Larvae.
J. Parasitol., 48, 35.
- 42.- Colglazier, M.L.; Enzie, F.D. (1960).
COMPARATIVE TRIALS WITH SOME PRESENT-DAY ANTHELMINTIC FOR SWINE.
J. Parasitol., 46, 808.
- 43.- Corba, J. (1969).
EFFECT FOS SOME NEW ANTHELMINTIC UPON OPHTHALMOHELMINTHIS in vitro.
Helmintolog., 10, 69.
- 44.- Costello, L.C. (1964).
THE COMPARATIVE BIOCHEMISTRY OF DEVELOPING *Ascaris* EGGS.
III. FALVIN ADENINE DINUCLEOTIDE EXTRACTED FROM UN EMBRYONATED EPGs.
Exper. Parasitol., 15, 1.
- 45.- Cox, D.D.; Mullee, M.T.; Allen A.D. (1969).
EFFECT OF COMMAPHOS AND FENTION FEED ADDITIVES ON GASTROINTESTINAL
NEMATODES EGG COUNTS IN FEEDLOT CATTLE.
Am. J. Vet. Res., 30, 1933.
- 46.- Cuckler, A.C. (1961)
THIABENDAZOLE, A NEW BROAD SPECTRUM ANTHELMINTIC.
MERCK INSTITUTE FOR THERAPEUTIC RESEARCH, RAHWAY, N.J.
J. Parasitol., 47 (Suppl.) 36.
- 47.- Chang., J.; Wescott, M.R. (1969).
ANTHELMINTIC ACTIVITY OF PARABENDAZOLE IN SWINE.
Am J. Vet. Res., 30, 77.
- 48.- Chernyaeva, A. I.; Kuznetsova, O. E.; Maneukova, G. M.; Benediktov, I. I.; Krotov, A. I. (1971).
EXPERIMENTAL STUDY OF THE ANTHELMINTIC TETRAMISOLE.
Medskaya Parazit., 40, 414.
- 49.- Danmas, M.; Gretillar, S. (1958).
LES ALKYSULFATES DE SODIUM: NOUVEAUX ANTHELMINTIQUES.
Ann. Pharmac. Franc., 16, 601.

- 50.- *Davenport, H.E. (1949).*
THE HEMOGLOBINS OF *Ascaris lumbricoides*.
Proc. Roy. Soc. B., 136, 255.
- 51.- *Dawson, R.M.C.; Elli, D.C.; Elliot, W.H.; Jones, K.M. (1969).*
DATE FOR BIOCHEMICAL RESEARCH, CLAREDON PRESS. OXFORD.
- 52.- *Deirdre, A.; Czipri. (1970).*
THE EFFICIENCY OF HALOXON AGAINST *Ascaris*, *Hyosbrongylus* AND *Desophagos-*
tomun IN PIGS.
Vet. Mec. 86, 306.
- 53.- *Desowitz, R.S.; Bell, T.; Williams, J.; Gardines, R.; Tamaura, M. (1970).*
ANTHELMINTIC ACTIVITY OF PYRANTEL PAMOATE.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 19, 775.
- 54.- *Diez Gómez, P. (1970).*
TRATAMIENTOS ANTIHELMINTICOS.
Veterinaria, 35, 381.
- 55.- *Dongherty, E.C. (1959).*
INTRODUCTION TO AXENIC CULTURE OF INVERTEBRATE METAZOA.
Ann. New. York Acad. Sc., 77, 27.
- 56.- *Dybing y Dybing (1946).*
Citado por MORAL RAMA
A.- TECNICAS PARA EL CONTROL SISTEMATICO DE ANTIHELMINTICOS.
Rev. Patronato Bibl., An., 11, 71.
- 57.- *Egerton, J.R. (1961).*
THE EFFECT OF THIABENDAZOLE UPON *Ascaris* AND *Stephanurus* INFECTIONS.
J. Parasitol., 47 (Suppl.) 37.
- 58.- *Ellison, T.; Thomson, W.A.B.; Strong, F.M. (1960).*
Citado por MONTEOLIVA, M.
Rev. Iber. Parasitol. 25, 3. (1965)
- 59.- *Entner, N.; Gozález, C. (1959).*
FATE OF GLUCOSE IN *Ascaris lumbricoides*.
Exp. Parasitol., 8, 471.
- 60.- *Fairbain, D. (1956).*
THE MUSCLE AND IN TEGUMENTS LIPIDS IN FEMALS *Ascaris lumbricoides*.
Can. J. Biochem. Physiol., 34, 39.

- 61.- *Fairbairn, D.* (1957).
THE BIOCHEMISTRY OF *Ascaris*.
Exp. Parasitol. 6, 491.
- 62.- *Fairbairn, D.* (1961).
Citado por MAGANDDA Y COL. EN: AGGIORNAMENTI SUS *Ascaris lumbric*. ASPETTI
INMUNOLOGICI E BIOCHIMIC.
Atti. della Soc. Pelloritana di Sci. Fis. Mat. e Nat., 12. (1966)
- 63.- *Fairbairn, D.; Passey, R.F.* (1957).
THE OCCURRENCE AND DISTRIBUTION OF TREHALOSE AND GLYCOGEN IN THE EGGS
AND TISSUES OF *Ascaris lumbr*.
Exp. Parasitol., 6, 566.
- 64.- *Fairbairn, D.; Passey, R.F.* (1960).
OCCURRENCE AND DISTRIBUTION OF TREHALOSE AND GLUCOGEN IN THE EGGS AND
TISSUES OF *Ascaris lumbricoides*.
Exp. Parasitol., 6, 566.
- 65.- *Feist, C.; Read, C.P.; Fisher, F.M.* (1965).
TREHALOSE SYNTHESIS AND HYDROLYSIS IN *Ascaris suum*.
J. Helminthol., 17, 211.
- 66.- *Flury, F.* (1912).
ZUR CHEMIE UND TOXIKOLOGIE DER *Ascaridien*.
Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 275.
- 67.- *Foster, M.* (1865).
Citado por MAGANDDA Y COL. EN: AGGIORNAMENTI SU *Ascaris lumbr*.. ASPETTI IMMUNO
LOGICI E BIOCHIMICI.
Atti. Soc. Pelloritana. 12 (1966)
- 68.- *Fouquey, C.; Polousky, J.; Lederer, E.* (1962).
STRUCTURE CHIMIQUE DES *Ascarosidos A, B et C*.
Bull. Soc. Chim. Biol. 44, 69.
- 69.- *Fujimuri, Y.; Sakuraba, R.; Takahashik; Mori, T.; Okumara, K.* (1961).
STUDIES ON THE DISTRIBUTION OF SURVIVAL TIME OF *Ascaris SWILLE* IN
BUNGE'S SOLUTION.
Hirosaki Medical, J., 12, 508.

- 70.- *Fukushima, T. (1969).*
TREHALOSE ACTIVITY IN *Ascaris lumbricoides*.
Jap. J. Med. Sci. Biol., 20, 107.
- 71.- *Gaur, S.N.S.; Deo, P.G. (1970).*
In vitro AND in vivo THERAPEUTIC TEST OF VERBAN, NEGUOVON AND THIABENDAZOLE
AGAINST *Ascaris lumbricoides*.
The Indian J. of Anim. Sci. 40, 346.
- 72.- *Gelder, N.M. Van (1969).*
THE ACTION in vivo OF A STRUCTURAL ANALOGUE OF GABA: HYDRAZINPROPIONIC ACID.
J. of Neurochemistry, 15, 1355.
- 73.- *Gentner, H.; Savage, W.R.; Castro, G.A. (1972).*
DISACCHARIDE ACTIVITY IN ISOLATED BRUSH BORDER FROM THE GUT OF *Ascaris suum*.
J. Parasitol., 58, 247.
- 74.- *Gibson, T.E. (1971).*
THE VALUE OF PHARMACOLOGY STUDIES IN THE DEVELOPMENT OF NEW ANTI-NEMATODAL DRUGS.
The J. Parasitology, 57, 100.
Second International Congress of Parasitology.
- 75.- *Gibson, Q.H.; Smith, M.H. (1965).*
RATES OF REA OF *Ascaris* HEMOGLOBINS WITH LIGANDS.
Proc. Roy. Soc, 163, 206.
- 76.- *Gibson, T.E.; Parfitt, J.W. (1968).*
THE ACTION OF THE ANTHELMINTIC HALOXON AGAINST *Ostertagia circumcincta*
IN LAMBS.
Res. in Veterinary Sc. 9, 597.
- 77.- *Gibson, T.E.; Everret, G.; Parfitt, J.W. (1968).*
THE ACTION OF THE ANTHELMINTIC TETRAMISOLE ON NEMATODIRUS BOTTUS INFECTION
IN LAMBS.
Res. in Veterinary Sc., 9, 486.
- 78.- *González, E.; Bravo, R.; García, H.; Santos, M.; Tomas, L. (1974).*
CONTRIBUCION AL ESTUDIO FARMACOLOGICO DE LAS SEMILLAS DE CURCUBITA MAXIMA
DUCH. Y SU PRINCIPIO ACTIVO LA CUCURBITINA.
An. R. Acad. Farmac. 40, 475.
- 79.- *Goodwin, L.G. (1958).*
A METHOD FOR RECORDING THE EFFECTS OF ANTHELMINTICS ON THE MOVEMENTS OF
Ascaris lumbricoides.
Br. J. Pharmacol., 13, 197.

- 80.- *Goodwin, L.G. (1975).*
ESTUDIO DE LA ACCION DE ALGUNOS ANTHELMINTICOS SOBRE LA MOTILIDAD DEL
Ascaris lumbricoides.
Simposio sobre Helminthiasis, Sociedad Española de Microbiología y
Asociación de Parasitólogos Españoles, C.S.I.C. 14 marzo
Instituto Nuffield de Medicina Comparada, Sociedad Zoológica de Louches
Regent's Park, London, NW1 4 R y.
- 81.- *Goodwin, L.G.; Vaughan Williams, E.M. (1963).*
INHIBITION AND NEUROMUSCULAR PARALYSIS IN *Ascaris lumbricoides.*
J. Physiol., 168, 857.
- 82.- *Grunberg, E.; Cleeland, R. (1967).*
ANTHELMINTIC ACTIVITY OF 1,4 bis(2-diethylaminoethoxyanthraquinone
dihydrochloride) IN EXPERIMENTALLY INFECTED ANIMALS AND in vitro.
J. Parasitol., 53, 789.
- 83.- *Guevara Pozo, D.; Suarez Peregrin, E. (1955).*
ACCION in vitro DEL LATEX Y OTROS ZUMOS DE *Ficus* SOBRE *Ascaridia galli.*
Rev. Iber. Parasitol., 953.
- 84.- *Guevara Pozo, D.; Cabreriza Portero, J. (1963).*
ESTUDIOS SOBRE LA VALORACION DE FARMACOS ANTHELMINTICOS POR REGISTRO GRAFICO
I. *Ascaridia galli* COMO ANIMAL REACTIVO.
Rev. Iber. Parasitol., 23, 3.
- 85.- *Hamada, K.; Okazaki, T.; Shukuya, R.; Kaziro, K. (1962).*
HEMOGLOBINS FROM *Ascaris lumbricoides.*
I. PURIFICATION OF HEMOGLOBIN FROM BODY-WALL TISSUE AND ITS SPECTRAL PROPERTIES.
J. Biochem., 52, 290.
- 86.- *Hamada, K.; Okasaki, T.; Shukuya, R.; Kaziro, K. (1963 a).*
HEMOGLOBINS FROM *Ascaris lumbricoides.*
II. REACTIONS OF BODY-WALL HEMOGLOBINS WITH ETHYLOSOCYANIDE AND POTASSIUM
CYANIDE.
J. Biochem. 53, 473.
- 87.- *Hamada, K.; Okasaki, T.; Sukuya, R.; Kaziro, K. (1963 b).*
HEMOGLOBINS FROM *Ascaris lumbricoides.*
III. A HEMOGLOBIN FROM PERIENTERIC FLUID.
J. Biochem., 53, 484.

- 88.- Hamada, K; Okazaki, T.; Shukuya, R.; Kaziro, K. (1968).
HEMOGLOBINS FROM *Ascaris lumbricoides*.
I. PURIFICATION OF HEMOGLOBIN FROM BODYWALL TISSUE AND ITS SPECTRAL
PROPERTIES.
Exp. Parasitol., 22.
- 89.- Harpur, R.P. (1962).
MAINTENANCE OF *Ascaris lumbricoides* in vitro: A BIOCHEMICAL AND STATISTICAL
APPROACH.
Can. J. Zool. 40, 991.
- 90.- Harpur, R.P. (1963).
MAINTENANCE OF *Ascaris lumbricoides* in vitro.
II. CHANGES IN MUSCLE AND OVARY CARBOHYDRATE.
Can. J. Biochem. Physiol., 41.
- 91.- Harpur, R.P.; Waters, W.R. (1960)
PRODUCTION OF CARBON DIOXIDE AND VOLATILE ACIDS BY MUSCLE FROM
Ascaris lumbricoides.
Can. J. Biochem. Physiol. 38, 1009.
- 92.- Harrap; Manners, D.J. (1952).
MOLECULAR WEIGHT OF GLUCOGENS DETERMINED BY A LIGHT SCATTERING METHOD.
Nature, 170, 419.
- 93.- Harold, L.; Howes, Jr. (1971).
ANTHELMINTIC STUDIES WITH PYRANTEL.
II. PROPHYLACTIC ACTIVITY IN A MOUSE-*Ascaris suum* TEST MODEL.
The J. of Parasitology., 57, 487.
- 94.- Hermoso, R.; Monteoliva, M. (1970).
ESTUDIOS DE SOBREVIVENCIA DE HELMINTOS PARASITOS.
III. ACCION DE LOS ANTIHELMINTICOS Y OTRAS DROGAS SOBRE LA SOBREVIVENCIA
DEL *Ascaris lumbricoides*.
Rev. Iber. Parasitol., 40, 567.
- 95.- Hermoso, R.; Monteoliva, M. (1973).
BIOQUIMICA DEL *Ascaris lumbricoides* DEL CERDO.
II. TREHALOSA Y GLUCOSA EN LIQUIDO PERIVISCERAL.
Rev. Iber. Parasitol., 33, 427.
- 96.- Hermoso, R.; Monteoliva, M. (1974).
BIOQUIMICA DEL *Ascaris lumbricoides*.
V. VARIACIONES DURANTE LA SUPERVIVENCIA EN AYUNAS DE LOS COMPONENTES
AZUCARADOS EN DIVERSOS TEJIDOS.
Rev. Iber. Parastiol., 34, 295.

- 97.- *Hermoso, R.; Monteoliva, M.; Sánchez, M. (1975 a)*
BIOQUÍMICA DEL *Ascaris lumbricoides*.
VII. EFECTO DE LA ADICIÓN DE DIVERSOS NUTRIENTES AL MEDIO DE SOBREVIVENCIA,
SOBRE LOS COMPONENTES AZUCARADOS DEL *Ascaris*.
Rev. Iber. Parasitol. 35, 3.
- 97 bis.- *Hermoso, R.; Sánchez, M.; Monteoliva, M. (1975 b)*
BIOQUÍMICA DEL *Ascaris lumbricoides*.
VIII. EFECTO DE VARIOS NUTRIENTES SOBRE LOS COMPONENTES NITROGENADOS
EN DIVERSOS TEJIDOS.
Rev. Iber. Parasitol. 35, 3
- 98.- *Herrero Alonso, C. (1969)*
EL THIABENDAZOL EN EL TRATAMIENTO DE LAS PARASITOSIS POR *Ascaris*, Anquilos-
tomas Y Tricocefatos.
Med. Trop., 25, 11.
- 99.- *Hobson, A.D. (1948)*
THE PHYSIOLOGY AND CULTIVATION IN ARTIFICIAL MEDIA OF NEMATODES PARASITIC
IN THE ALIMENTARY TRACT OF ANIMALS.
Parasitol., 38, 183
- 100.- *Kerr, K.S.; Carett, J.W. (1955)*
A TECHNIQUE FOR INITIAL EVALUATION OF POTENTIAL ANTHELMINTICS.
Exp. Parasitol., 1, 161.
- 101.- *Kikuchi, G.; Ramírez, J.; Guzmán Barrón, E.S. (1959)*
ELECTRON TRANSPORT SYSTEM IN *Ascaris lumbricoides*.
Biochem. Biophys. Acta, 36, 335.
- 102.- *Koshiyama, M.; Iwashima, M.; Takeda, A. (1961)*
ANTHELMINTICS. INFLUENCE OF 4-iodethymol AND SOME ANTHELMINTICS ON THE
RESPIRATORY METABOLISM IN THE MUSCLE OF *Ascaris lumbricoides*, var. suis.
Jap. J. Parasitol., 10, 462.
- 103.- *Kmetec, E.; Bueding, E. (1961)*
Citado por BUEDING, E. EN: COMPARATIVE BIOMISTRY OF PARASITIC HELMINTHS.
Pro. Fith. Intern. Congr. Biochem. Moscú. III. 280. (1963).
- 104.- *Knowles, C.O.; Casida, J.E. (1966)*
MODE OF ACTION OF ORGANO PHOSPHATE ANTHELMINTIC. CHOLINESTERASE INHIBITION IN
Ascaris lumbricoides.
Journal of Agric. and Food Chemistry., 14, 566.
- 105.- *Korumaya, L.G. (1975)*
THE CHEMICAL COMPOSITION OF POLYSACCHARIDE CONTAINING COMPLEXES OBTAINED
FROM *Ascaris suum*.
Helminth. Abstracts., 44

- 106.- *Krotov, A.I. (1958).*
EFECTO DE LAS CONDICIONES DEL *Ascaris* EN LA RAPIDEZ DE SU MUERTE EN OXIGENO.
Byulleten Eksperimentalnoi Biologii i Meditsini, 46, 96.
- 107.- *Krotov, A.I. (1961).*
EL MECANISMO DE ACCION DE LA DITRAZINA Y EXTRACTOS DE SEMILLA DE CALABAZA
SOBRE *Ascaris* y Cestodes.
Med. Parazit. Bolezni, 30, 666.
- 108.- *Krotov, A.I.; Shmeleva, A.N. (1962).*
LOS DIFERENTES EFECTOS DE LA DITIAZINA Y AZUL DE METILENO SOBRE LA ACTIVIDAD CATALASICA DE *Ascaris* VIVOS Y SUS TEJIDOS AISLADOS.
Acta. Veter. Hung., 12, 263.
- 109.- *Krotov, A.I. (1965).*
INVESTIGACION SOBRE LA FISILOGIA DEL MOVIMIENTO DEL *Ascaris*. EFECTO DE LAS DROGAS COLINOLITICAS SOBRE EL MOVIMIENTO.
Medits. Parazit. Parazitarn. Bolezni, 34, 452.
- 110.- *Krotov, A.I. (1970).*
BIOLOGICAL BASIS FOR THE CLASSIFICATION OF ANTHELMINTIC DRUGS (A REVIEW OF LITERATURE).
Medaskaya Parazit., 39, 483.
- 111.- *Lebduska, J.; Simunek, S. (1960).*
UNCIMOST NEKTERYCH ORGANICKYCH FLUORIDEN NA SKRKARKY in vitro.
Cesksl. Parasitol., 7, 263.
- 112.- *Levine, N.D.; Szantos, J. (1964).*
SCREENING TEST OF CARBAMATES AND THIOCARBAMATES AS A POTENTIAL NEMATOCIDES.
Am. J. Vet. Res., 25, 1281.
- 113.- *Magandda, P.L.; Peunisi, L.; Cuzzocrea, G. (1966).*
AGGIORNAMENTI SU *Ascaris lumbricoides*, ASPECTI IMMUNOLOGICI E BIOCHIMICI.
Soc Pelloritana di Sco, Fis. Mat. e Nat. 12.
- 114.- *Malcolm, H.; Smith. (1969).*
DO INTESTINAL PARASITES REQUIRE OXYGEN?.
Nature, 223, 1.129.
- 115.- *Mason, P.A.; Sturman, G. (1972).*
SOME PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF PIPERAZINE
Br. J. Pharmacol., 44, 169.

- 116.- *Miura, K.; Ikeda, M.; Hira, N. (1956).*
ANTHELMINTIC.
VIII. THE INHIBITORY ACTION OF 1-bromo-2 naphthol THE DEHYDROGENASE IN THE MUSCLE OF HOG *Ascaris*.
Ann. Rept. Fac. Pharm. Kanazawa. Univ. 6, 24.
- 117.- *Miyagawa, Y. (1961)*
HISTAMINA EN *Ascaris lumbricoides* Y EL EFECTO DE ALGUNOS ANTIHELMINTICOS SOBRE ESTA.
Jap. J. Parasitol., 10, 419.
- 118.- *Monteoliva, M. (1965).*
DISPOSITIVO PARA ESTUDIOS DE SOBREVIVENCIA DE HELMINTOS PARASITOS.
Rev. Iber. Parasitol., 25, 3.
- 119.- *Monteoliva, M. (1973).*
BIOQUIMICA DEL *Ascaris lumbricoides* DEL CERDO.
I. COMPONENTES DEL LIQUIDO PERIVISCERAL.
Rev. Iber. Parasitol., 33, 407.
- 120.- *Monteoliva, M.; Hermoso, R. (1970).*
ESTUDIOS DE SOBREVIVENCIA EN HELMINTOS PARASITOS.
I. CULTIVO in vitro DE *Ascaris lumbricoides* var. suum.
Rev. Iber. Parasitol., 30, 283.
- 121.- *Monteoliva, M.; Hermoso, R. (1974).*
BIOQUIMICA DEL *Ascaris lumbricoides*.
VI. VARIACIONES DE ALGUNOS CONSTITUYENTES PROTEICOS DE *Ascaris* HEMBRAS CULTIVADAS EN AYUNAS.
Rev. Iber. Parasitol., 34, 229.
- 122.- *Monteoliva, M.; Benito, M.; Hermoso, R. (1973).*
BIOQUIMICA DEL *Ascaris lumbricoides*.
III. ESTUDIO ESTADISTICO DEL CONTENIDO.
Rev. Iber. Parasitol., 33, 517.
- 123.- *Moral Rama, A. (1967).*
TECNICAS PARA EL CONTROL SISTEMATICO DE ANTIHELMINTICOS. NEMATODES GASTROINTESTINALES. PRUEBA DE UNA SERIE DE INDOL-HIDRACINAS.
Rev. Partz. Biolog. Animal, 11, 71.
- 124.- *Moskey, H.E.; Harwood, P.D. (1941).*
METHODS OF EVALUATING THE EFFICACY OF ANTHELMINTICS.
Ann. J. Vet. Res. 2, 55.

- 125.- Nascimento, J.; O.B. Do; Halsmen, M.; Oria, H.; Campos, I.V.M. (1966).
ENSAIO TERAPEUTICO NA Ascariase CON DOSES UNICAS DE NOVO ANTIHELMINTICO
DE SINTESE (R. 8299 ON TETRAMISOLE).
Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo, 8, 143.
- 126.- Nasilowska, M. (1963).
THE ACTION OF THE PREPARATION "VAPAN" ON THE EGGS OF *Ascaris lumbricoides*
AND *Ascaris suum* in vitro.
Wiad. Parazyt. 9, 143.
- 127.- Natoff, I.L. (1969).
THE PHARMACOLOGY OF THE CHOLINOCEPTOR IN MUSCLE PREPARATIONS OF *Ascaris*
lumbricoides var. *suum*.
Br. J. Pharmc. 37, 251. Ref. Helm. Abstr. 40, 440. (1971)
- 128.- Naturajan, P.N.; Yeoh, T.S.; Zamen, V. (1973).
ANTICHOLINESTERASE ACTIVITY OF PIPERAZINE DERIVATIVES. STUDY OF THE STRUC-
TURE-ACTIVITY RELATIONSHIP IN PIPERAZINE DERIVATIVES MEASURED BY THE PO-
TENTIATION OF ACETYLCHOLINE RESPONSE IN *Ascaris suum*.
Acta Pharmaceutica Suecice. 10, 125. Univ. of Singapore. Helmit. Abstr., 43. (1974)
- 129.- Noll, F.; Heumann, W. (1973).
GUANINE NUCLEOTIDES AS THE MAIN COMPONET IN THE ACID SOLUBLE FRACTION OF
Ascaris eggs.
Acta Biol. Med. Germanica, 19, 219.
- 130.- Nyberg, W. (1966).
THE INFLUENCE OF SOME PHLOROGLUCINOL DERIVATES OU EGGS AND CORACIDIA
OF *DIPHYLLOBOTHRIUM LATUM*.
Proc. I. Int. Comp. Parasit., Milán.
- 131.- Obo, F.; Nomura, V. (1961).
FORMACION DEL SUCCINATO A PARTIR DE FUMARATO POR MUSCULO DE *Ascaris*.
Med. Biol. Tokio, 60, 83.
- 132.- Okazaki, T.; Wittenberg, J.B. (1965).
THE HEMOGLOBIN OF *Ascaris* PERIENTERIC FLUID.
III. EQUILIBRIA WITH OXYGEN AND CARBON MONOXIDE.
Biochm. Biophys. Acta. 111, 503.
- 133.- Okazaki, T.; Briehl., R.W.; Wittenberg, J.B.; Wittenberg, B.A. (1965).
THE HEMOGLOBIN OF *Ascaris* PERIENTERIC FLUID.
Biochem. Biophys. Acta. 111, 496.

- 134.- *Osteux, R.; Lesieur-Demerquilly, I.; Lesieur, D. (1971 a).*
MODE OF ACTION OF PIPERAZINE ON *Ascaris lumbricoides* var. suum.
I. STUDY ON RESPIRATION AND ANTAGONISM BETWEEN PIPERAZINE AND BOTH
COENZYME A AND ADENOSINE TRIPHOSPHATE.
Annales Pharmaceutiques Fr. 29, 125.
- 135.- *Osteux, F.R.; Guerrin, I.; Lesieur-Demerquilly (1971 b).*
MODE D'ACTION DE LA PIPERAZINE SUR *Ascaris lumbricoides* var. suum.
II. ETUDE DES CONTRACTIONS MUSCULAIRES DE L'*Ascaris* EN PRESENCE DE
PIPERAZINE, DE COENZYME A ET D'ADENOSINE TRIPHOSPHATE (5).
Annales Pharmaceutiques Fr. 29, 173.
- 136.- *Osteux, R.; Cohen I.V.; Lesieur-Demarquilly (1971 c).*
MODE D'ACTION DE LA PIPERAZINE SUR *Ascaris lumbricoides* var. suum.
III. MODE DE PENETRATION ET LOCALISATION DE LA PIPERAZINE SUR L'*Ascaris*
in vivo PAR ANTORADIPRAPHIE (2) AVEC LA PIPERAZINE MARQUEE AN ¹⁴C.
Annales Pharmaceutiques Fr. 29, 371.
- 137.- *Petiagara, R.B.; Deliwala, C.V. (1969).*
SYNTHESIS AND CONTROL NERVOUS SYSTEM DEPREEASANT ACTIVITY OF NEW
PIPERAZINE AND RELATED DERIVATIVES. III.
J. of Medicinal Chemistry. 12, 865.
- 138.- *Petrov, V.; Genov, V.; Popo, P.; Minkov, E.; Bairakova, L. (1970).*
A NEW ANTINEMATODE MEDICAMENT S.M.
Proc. of the Postgraduate Medical Inst. ISUL., 17, 49.
- 139.- *Plaan, O. (1963).*
TREATMENT OF *Ascariasis* WITH FLUORIDE AND SANTONINE.
Helminth. Abstr. 32, 1267.
- 140.- *Prubelhof, F. (1952).*
SODIUM FLUORIDE AS AN ANTHELMINTIC FOR SWINE. WIEN TIERARZTL.
Monatsschr. 39, 490.
- 141.- *Rathboue, Rees. (1954).*
GLYCOLYRIS IN *Ascaris lumbricoides* FROM THE PIG.
Biochem. et Biophys. Acta. 15, 126.
- 142.- *Read, C.P. (1955).*
Citado por SILVERMAN P.H.- In vitro CULTIVATION PROCEDURES FOR
PARASITIC HELMINTHS.
Advances in Parasitol. 3, 159. (1965)

- 143.- *Rebello, S.; Rico, J.T. (1926).*
Citado por SANZ SANCHEZ- NORMAS GENERALES SOBRE VALORACION Y CONTROL DE ANTIHELMINTICOS.
Rev. de Sanidad Vet. 4, 659. (1949)
- 144.- *Respaldiza Cardenosa, E. (1967).*
VALORACION ECONOMICA DE LA PARASITOSIS PECUARIAS EN ESPAÑA.
Veterinaria, 32, 77.
- 145.- *Rogers W.P.; Lazarus, M. (1949).*
GLYCOLISIS AND PHOSPHORUS METABOLISM IN PARASITIC NEMATODES.
Parasitology, 39, 302.
- 146.- *Romero, R.; Lizcano, J. (1971).*
PARASITOS DEL *Sus scrofa domestica*.
Rev. Iber. Parasitol., 31.
- 147.- *Sánchez, F.; Murias, B. (1958).*
CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LOS ANTIHELMINTICOS.
Rev. San. e Hig. Publ. números 11 y 12, 509.
- 148.- *Santos de Campos, M.; Campos, M.; Santos Ferreira, C. (1959).*
ESTUDIO DA AGAO in vitro DE HEXAHIDRATE DE PIPERAZINE, DE HEXIERESORCISOL E DO OCTIL-RESORCINOL SOBRE *Ascaridia galli*.
Rev. Fac. Med. Vet. S. Paulo, 5, 297.
- 149.- *Sanz Sánchez, F. (1949).*
NORMAS GENERALES SOBRE VALORACION Y CONTROL DE ANTIHELMINTICOS.
Rev. San. Vet. 4, 659.
- 150.- *Sanz Sánchez, F.; García Matamoros, E.; Jurado Conto, M. (1964).*
ACCION DE ALGUNAS HIDRACIDAS SOBRE EL *D. filaria* in vitro Y EN LA INFESTACION EXPERIMENTAL EN LA COBAYA.
III Semana Nacional Veterinaria. Córdoba, 14.
- 151.- *Savel, J. (1954).*
ETUDES SUR LA CONSTITUTION ET LE METABOLISM PROTEIQUES D'*Ascaris lumbricoides*.
LINNE, 1758.
Theses doctorat en Pharmacie. Paris Ed. Pacomby.
- 152.- *Savel, J. (1964).*
ORIGINE DU TREHALOSE DANS LA MUSCLE D'*Ascaris lumbricoides*.
Proceeding of the first International Congress of Parasit., Rome 1, 55.

- 153.- Saz, H.J.; Vidrine, A.N. (1959).
THE MECHANISM OF FORMATION OF SUCCINATE AND PROPIONATE BY *Ascaris lumbricoides* MUSCLE.
J. Biol. Chem. 234, 2001.
- 154.- Saz, H.J.; Lescure, O.L. (1967)
GLYCOGENOGENESIS, FRUCTOSE-1,6-DIPHOSPHATASE AND PHOSPHOENOLPYRUVATE CARBOXYKINASE ACTIVITIES OF *Ascaris lumbricoides* ADULT MUSCLE AND LARVAE.
Comp. Biochem. Physiol. 22, 15.
- 155.- Seftel, H.C.; Heinz, H.J. (1968).
COMPARISON OF PIPERAZINE AND TETRAMISOLE IN TREATMENT OF Ascariasis.
Br. Med. J., year 1968, 4, 93.
- 156.- Schenone, H.; Galdames, M.; Cabello, C. (1975).
TRATAMIENTO DE LAS HELMINTIASIS INTESTINALES HUMANAS CON UNA ASOCIACION DE MEBENDAZOL Y THIABENDAZOL.
Bol. Chil, Parasit., 30, 89.
- 157.- Schmied, L.M.; Ruiz, L.E. (1972).
PRUEBA CRITICA DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMINTICA DEL LEVAMISOLE ADMINISTRADO POR VIA SUBCUTANEA EN CERDOS INFESTADOS NATURALMENTE CON *Ascaris lumbricoides* var. summ.
Gaceta Veterinaria, 34, 295.
- 158.- Silverman, P.H. (1965).
In vitro CULTIVATION PROCEDURES FOR PARASITIC HELMINTHS.
Advances in Parasitology, 3, 159.
- 159.- Slater, W.K. (1925).
THE NATURE OF THE METABOLIC PROCESSES IN *Ascaris lumbricoides*.
Biochem. J., 19, 604.
- 160.- Smith, M.H.; Lee, D.L. (1963).
METABOLISM OF HEMOGLOBIN AND HEMATIN COMPOUNDS IN *Ascaris lumbricoides*.
Proc. Roy Soc., 157, 234.
- 161.- Smith, M.H.; Morrison, M. (1963).
ISOLATION OF *Ascaris* HEMOGLOBIN.
Biochim. Biophys. Acta, 71, 364.
- 162.- Steward, J.S. (1966).
ON THE IMPORTANCE OF THE BASE IN THE FORMULATION OF ANTHELMINTIC.
Int. Congress Parasitol, Rome 1964, 1, 80.

- 163.- *Taffs, L.F. y col. (1968)*
TETRAMISOLE. ACTION EN INMATURE AND ADULT *Oesophagostomum* spp. IN EXPERIMENTALLY-INFECTED PIG, AND SOME OBSERVATIONS ON THE LIFE HISTORY.
Veterinary Record, 83, 404.
- 164.- *Tamura, S. (1962)*.
Citado por MAGANDDA Y COL. AGGIORNAMENTI SU *Ascaris lumbricoides*, ASPECTI IMMUNOLOGICI E BIOCHIMICI.
Atti della Soc. Pelloritana di Sci. Fis., Mat., e Nat., 12. (1966)
- 165.- *Tarazona Vilas, J.M. (1955)*.
CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMINTICA DEL FLUORURO DE SODIO. ENSAYOS *in vitro* SOBRE *Ascaridia galli*.
An. Inst. Investig. Vet. 7, 97.
- 166.- *Taskov, M. (1968)*
ACTION HYPOTENSIVE D'UN GROUPE DE DERIVES DE LA PIPERAZINE
Folia Medica, T.X., 2, 94.
- 167.- *Thienpont, D.; Brugmans, J.; Abadi, K.; Tranamal, S. (1969)*.
TETRAMISOLE IN THE TREATMENT OF NEMATODE INFECTIONS IN MAN.
Am J. Trop. Med. Hyg., 18, 520.
- 168.- *Thomas, J.; Lugagne, J.; Herrant, L.; Pellonse, H.; Biot, J.; Sagnet, H.; Mevil, H.; Mafart, Y. (1969)*.
LE THIOBENDAZOLE ANTHIHELMINTIQUE A LARGE SPECTRE SES INDICATIONES ET LES LIMITES.
Med. Trop. 29, 7.
- 169.- *Treveylan, W.E.; Harrison, J.S. (1956)*.
YEAST METABOLISM.
VII. YEAST CARBOHYDRATE FRACTIONS, SEPARATION FROM NUCLEIC ACID, ANALYSIS, AND BEHAVIOIR DURING ANAEROBIC FERMENTATION.
Biochem. J., 63, 23.
- 170.- *Tropin, M.I. (1975)*.
SOME DATA ON A NEW ANTHELMINTIC, PIPERAZIE SILICOFUORIDE, AGAINST *Ascaris* IN PIGS.
Helm. Abstr. 44, 67.
- 171.- *Turton, J.A. (1969)*.
ANTHELMINTIC ACTION OF LEVAMISOLE INJECTION IN CATTLE.
Veterinary Record, 85, 264.

- 172.- Veno, V. (1960).
A METHOD FOR THE MICRODETERMINATION OF LOWER ALIPHATIC FATTY ACIDS
BY PAPER CHROMATOGRAPHY.
J. Biochem. Japon, 48, 161.
- 173.- Viglielmo, D.R.; Gortz, J.H. (1972)
HEMOGLOBIN DERIVATIVES OF THE ZOOPARASITIC NEMATODE ANISAKIS PHYSETERIS
AND THE SPERMATOPHYTE HOST.
Exp. Parasitol., 32, 211.
- 174.- Wang Cheng-I; Hu Hsiao-su; Wang Han-hsi, D'eng Yu-fang. (1964).
THE ANTHELMINTIC EFFECTS OF BEPHENIUM HYDROXYNAPHTHOATE ON HOOKWORM AND
OTHER NEMATODE INFECTIONS OF THE INTESTINAL TRACT.
Chinese Medical Journal, 83, 1
- 175.- Watanabe, H. (1961).
ESTUDIOS HISTOQUIMICOS EN *Ascaris*. EFECTO DE ALGUNOS ANTIHELMINTICOS
SOBRE LA REACCION PEROXIDASICA DE TEJIDOS DE *Ascaris*.
J. Kumamoto, Med. Soc. 35, 1024.
- 176.- Weatherby N.F.; Hausen, M.F.; Moser, H.C. (1964).
DISTRIBUTION OF CARBON-14 IN *Ascaridia galli* AND THE HOST CHICKEN,
GIVEN RADIOACTIVE ALANINE OR GLUCOSE.
Amer. J. Vet. Res. 25, 1206.
- 177.- Weinland, E. (1901)
Citado por Savel, J. (1954).
- 178.- Wittenberg, B.A.; Okazaki, T.; Wittenberg, J.B. (1965).
THE HEMOGLOBIN OF *Ascaris* PERIENTERIC FLUID.
I. PURIFICATION AND SPECTRA.
Biochim. Biophys. Acta, 111, 485.
- 179.- Wright, W.H. (1946).
PAST DEVELOPMENTS AND PRESENT NEEDS IN THE CHEMOTHERAPY OF PARASITIC
DISEASE.
Advancing Frontiers in Chemistry, 2, 105.



UNIVERSIDAD DE GRANADA
DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA Y
BIOLOGIA MOLECULAR
GRANADA

FERMIN SANCHEZ DE MEDINA CONTRERAS, Catedrático de Bioquímica de la Universidad de Granada
HACE CONSTAR: que la tesis doctoral titulada "Aspectos bioquímicos y fisiológicos del cultivo in vitro del Ascaris lumbricoides variedad suum" fué defendida por D.Manuel Sánchez Moreno en la Facultad de Ciencias el 17 de marzo de 1977 obteniendo la calificación de sobresaliente cum laude, siendo el tribunal presidido por el Dr.Enrique Montoya Gómez, actuando de vocales los Dres.D.Diego Guevara Pozo, D.Eduardo García Peregrín, D.Miguel Monteoliva y el que suscribe, como Poenente de la misma.

Granada, 8 de abril de 1987

