



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMINTICA DE  
NUEVE PRINCIPIOS DE NUEVA SÍNTESIS DERIVADOS DEL  
4-HIDROXIFENIL CARBAMATO DE ETILO USANDO  
*Haemonchus Contortus* COMO MODELO  
*In Vitro*

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA  
P R E S E N T A :  
NORMA ANGÉLICA PEREYRA ZULUAGA

ASESOR: MVZ. JUAN PABLO MARTINEZ LABAT

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX, 2005

m346328

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Determinación de la actividad antihelmíntica de nueve principios de nueva síntesis derivados del

4-Hidroxifenil carbamato de etilo, usando Hacmonchus contortus como modelo in vitro.

que presenta la pasante: Norma Angelica Percyra Zuluaga  
con número de cuenta: 09555652-9 para obtener el título de :  
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 03 de Noviembre de 2004.

PRESIDENTE	<u>MVZ. Pablo Martínez Labat</u>	
VOCAL	<u>QFB. Martha Patricia Campos Peón</u>	
SECRETARIO	<u>MVZ. Gabriela Fuentes Cervantes</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>QFB. Rene Damián Santos</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>MFC. Cecilia Hernández Barba</u>	

A Dios:

La roca sobre la cual he fundado toda mi vida. Gracias, por tu presencia, tu amor y compañía en este caminar de mi existencia. A ti dedico todos y cada uno de mis triunfos.

A mi mamá Cele:

Gracias por el inmenso sacrificio que hiciste para que yo llegara a donde me encuentro. Sé que nunca te podré pagar todo lo que has hecho por mí. Te admiro por tu gran fortaleza. Este trabajo es por ti y para ti.

A mi esposo:

Miguel gracias porque llegaste en el momento justo y has estado siempre conmigo enseñándome a ser mejor cada día. Te amo.

A mis hermanos:

Aurea, Aida, Moisés y Olga gracias por su ayuda en todos los aspectos, ustedes son una parte fundamental en mi vida sé que siempre podré contar con ustedes y ustedes conmigo.

A mis sobrinos:

Cristian, Fany, Jesús, Aarón y Angel: gracias por existir, espero ser un buen ejemplo para ustedes.

A mi padre y mi hermano:

Quienes ya no están conmigo, sé que dieron el último paso en la vida y con ello juntamente dieron el primer paso a la eternidad.

A mis Amigos:

Descubrir en mi las huellas de amigos encontrados a lo largo del camino, es motivo de alegría y gratitud ya que he podido creer en la vida y en mi capacidad de encuentro, creer que alguien haya podido ayudarme a descubrir lo mejor que existe dentro de mi.

A mis Profesores

Ahora también es el momento de tener un recuerdo agradecido. Son muchos quienes a lo largo de mi vida han dejado experiencias sobre las que puedo recordar nombres. Quizás algunos me hayan lanzado a una aventura para sacar algo de mi y despertar mi "yo dormido", conseguir aquello que me parecía imposible, cambiar, crecer y madurar.

Al Dr. Pablo Martínez:

Un agradecimiento especial por que se que sin su ayuda y paciencia no hubiera sido posible la culminación de este trabajo. Muchas gracias.

# INDICE GENERAL

## RESUMEN

I.-	INTRODUCCIÓN	1
II.-	ANTECEDENTES HISTORICOS	3
III.-	TIPOS DE PARASITOS	6
	3.1. PROTOZOARIOS	6
	3.2. HELMINTOS	6
	3.2.1. NEMATELMINTOS	6
	3.2.1.1. <u>Hemonchus contortus</u>	7
	3.2.1.2. MORFOLOGÍA	7
	3.2.1.3. CICLO BIOLÓGICO	10
	3.2.1.4. PATOGENIA	13
	3.2.1.5. EFECTOS ECONÓMICOS	15
	3.2.1.6. EPIDEMIOLOGÍA	16
	3.2.1.7. DIAGNOSTICO	16
	3.2.1.8. TRATAMIENTO	17
IV.-	CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS CARBAMATOS	24
V.-	OBJETIVOS	28
VI.-	MATERIALES Y MÉTODOS	29
VII.-	RESULTADOS	32
VIII.-	DISCUSIÓN	51
IX.-	CONCLUSIONES	53
X.-	BIBLIOGRAFÍA	54

## INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 1	Identificación taxonómica.	7
Cuadro 2	Composición química, mecanismo de acción y variantes de los diferentes grupos de antiparasitarios conocidos.	23
Figura 1	Hembra de <u>Haemonchus contortus</u> .	7
Figura 2	Boca de <u>Haemonchus contortus</u> .	8
Figura 3	Extremo posterior del macho de <u>Haemonchus contortus</u> .	8
Figura 4	Región vulvar de la hembra de <u>Haemonchus contortus</u> .	9
Figura 5	Huevo de <u>Haemonchus contortus</u> .	9
Figura 6	Comparación del tamaño de huevos de: <u>Haemonchus contortus</u> , <u>Cooperia oncophora</u> , <u>Trichuris ovis</u> , <u>Strongyloides papillosus</u> , <u>Eimeria</u> .	10
Figura 7	Cronobiología de las nematodosis gastrointestinales.	11
Figura 8	Ciclo Biológico.	12
Figura 9	<u>Haemonchus</u> en mucosa de abomaso.	14
Figura 10	<u>Haemonchus</u> en estómago.	15
Figura 11	<u>Haemonchus contortus</u> adulto.	16
Figura 12	Estructura Química General de los Fenil carbamatos de etilo.	27

## INDICE DE TABLAS Y GRAFICOS

Tabla 1	Resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 1A.	32
Tabla 1a	Análisis estadístico para el principio identificado como IRE 1A.	33
Tabla 2	Resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 2A.	34
Tabla 2a	Análisis estadístico para el principio identificado como IRE 2A.	35
Tabla 3	Resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 2B.	36
Tabla 3a	Análisis estadístico para el principio identificado como IRE 2B.	37
Tabla 4	Resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 5A.	38
Tabla 4a	Análisis estadístico para el principio identificado como IRE 5A.	39
Tabla 5	Resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 6A.	40
Tabla 5a	Análisis estadístico para el principio identificado como IRE 6A.	41
Tabla 6	Resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 6B.	42
Tabla 6a	Análisis estadístico para el principio identificado como IRE 6B.	43
Tabla 7	Resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 7B.	44
Tabla 7a	Análisis estadístico para el principio identificado como IRE 7B.	45
Tabla 8	Resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 8A.	46
Tabla 8a	Análisis estadístico para el principio identificado como IRE 8A.	47
Tabla 9	Resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 8B.	48
Tabla 9a	Análisis estadístico para el principio identificado como IRE 8B.	49
Grafico 1	Grafico de barras para el principio identificado como IRE 1A, control positivo y control negativo.	32
Gráfico 1a	Gráfico de campana para el análisis estadístico del principio identificado como IRE 1A.	33

Grafico 2	Grafico de barras para el principio identificado como IRE 2A, control positivo y control negativo.	34
Gráfico 2a	Gráfico de campana para el análisis estadístico del principio identificado como IRE 2A.	35
Grafico 3	Grafico de barras para el principio identificado como IRE 2B, control positivo y control negativo.	36
Gráfico 3a	Gráfico de campana para el análisis estadístico del principio identificado como IRE 2B.	37
Grafico 4	Grafico de barras para el principio identificado como IRE 5A, control positivo y control negativo.	38
Gráfico 4a	Gráfico de campana para el análisis estadístico del principio identificado como IRE 5A.	39
Grafico 5	Grafico de barras para el principio identificado como IRE 6A, control positivo y control negativo.	40
Gráfico 5a	Gráfico de campana para el análisis estadístico del principio identificado como IRE 6A.	41
Grafico 6	Grafico de barras para el principio identificado como IRE 6B, control positivo y control negativo.	42
Gráfico 6a	Gráfico de campana para el análisis estadístico del principio identificado como IRE 6B.	43
Grafico 7	Grafico de barras para el principio identificado como IRE 7B, control positivo y control negativo.	44
Gráfico 7a	Gráfico de campana para el análisis estadístico del principio identificado como IRE 7B.	45
Grafico 8	Grafico de barras para el principio identificado como IRE 8A, control positivo y control negativo.	46
Gráfico 8a	Gráfico de campana para el análisis estadístico del principio identificado como IRE 8A.	47
Grafico 9	Grafico de barras para el principio identificado como IRE 8B, control positivo y control negativo.	48
Gráfico 9a	Gráfico de campana para el análisis estadístico del principio identificado como IRE 8B.	49
Grafico 10	Grafico de barras para todos los principios.	50

## RESUMEN

El principal objetivo del presente estudio fue evaluar nueve principios de síntesis reciente derivados del 4-Hidroxifenil carbamato de etilo identificados como IRE 1A, IRE 2A, IRE 2B, IRE 5A, IRE 6A, IRE 6B, IRE 7B, IRE 8A, IRE 8B a concentraciones de 5, 10, 20, 50 y 100  $\mu\text{g/ml}$ , mediante una técnica *in vitro* con Haemonchus contortus para determinar la posible actividad antihelmíntica.

La técnica *in vitro* utilizada fue tomada del artículo "The relevance of *in vitro* anthelmintic screening test employing the free-living stages of trichostrongylid nematodes" descrita por Ibarra y Jenkins 1984.

Se trabajó con los huevos contenidos en las heces de animales con infestación natural del municipio de Temoaya, Estado de México. Para la obtención de los huevos de H. contortus se utilizó la técnica de flotación, centrifugación y McMaster. Para cada ensayo se colocó una alícuota de 200  $\mu\text{l}$  de agua con aproximadamente 100 huevos de H. contortus, 40  $\mu\text{l}$  del principio y 160  $\mu\text{l}$  de un suplemento alimenticio a base de bacterias de heces de ratón. Los ensayos se hicieron junto con un control positivo al cual se le adicionó albendazol en una concentración de 20  $\mu\text{g}/100\text{ ml}$  y un control negativo al cual se le adicionó agua en lugar del principio, incubados a 25°C en cámara húmeda para evitar la evaporación. El volumen final fue de 400  $\mu\text{l}$  debido a que se necesitaba leer la misma muestra durante los cuatro días siguientes para reducir el error de experimentación las muestras y los controles se colocaron por separado en blisters de polietileno y cada ensayo se hizo por triplicado. Las muestras se observaron los cuatro días siguientes al inicio del ensayo, en el microscopio con el objetivo de 10X reportando los resultados como vivos y muertos. La investigación consistió de 10 ensayos. Los resultados en porcentaje de inhibición (muertos) a concentración de 5  $\mu\text{g/ml}$  fueron: Para IRE 1A 88.7%, IRE 2A 88.3%, IRE 2B 89.4%, IRE 5A 91.1%, IRE 6A 92.0%, IRE 6B 90.1%, IRE 7B 91.9%, IRE 8A 93.0% y IRE 8B 91.7%. Para IRE 1A, IRE 2A, IRE 2B, IRE 5A, IRE 6A, IRE 6B, IRE 7B, IRE 8A, IRE 8B, 100% de inhibición a una concentración de 10, 20, 50 y 100  $\mu\text{g/ml}$ . Para control positivo 96.8% de inhibición a una concentración de 20  $\mu\text{g/ml}$ . Para control negativo 5.4% de inhibición. Para hacer el análisis se utilizó la prueba de hipótesis con un nivel de confianza de 95% para las diferencias de muestras independientes con el propósito de observar si las medias de los tratamientos y el control eran iguales o diferentes. El valor de crítico o de tablas para z fue de 1.96, mientras que el valor calculado de z para la concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  en todos los principios fue de 2.8998. Este análisis nos llevó a la conclusión de que si hubo diferencia significativa entre los principios de prueba y el control +.

El objetivo de este trabajo se logró ya que se comprobó el efecto antihelmíntico de los nueve principios de nueva síntesis mediante la técnica *in vitro* y se determinó que la concentración a la que se presenta el 100% de inhibición es de 10  $\mu\text{g/ml}$  para los nueve, mientras que para el albendazol se presenta el 96.8% de inhibición a una concentración de 20  $\mu\text{g/ml}$ .

## INTRODUCCIÓN

La Farmacología investiga, busca y crea nuevas sustancias que sean útiles para el alivio y el tratamiento de las enfermedades que nos aquejan. Sin embargo, es una actividad larga y muy costosa que requiere especialistas de diversas áreas para completar un proceso que finalmente nos ofrezca un fármaco, del cual se conozca cómo y dónde actúa sobre el organismo y cómo influye sobre él, para que finalmente tengamos al alcance un producto eficaz y seguro.<sup>(1)</sup>

La aplicación intensiva de productos químicos para el control de las parasitosis externas e internas de los hospederos está resultando inevitablemente en el desarrollo de resistencia por parte de los parásitos y en un problema emergente con serias consecuencias para la producción animal que se ve gravemente afectada. La resistencia química ha sido definida como la capacidad de una población de parásitos de tolerar drogas que normalmente producen la muerte. La presencia de resistencia implica severas pérdidas económicas y para el medio ambiente ya que requiere generalmente de aumento de dosis, de mayor número de tratamientos o de la utilización de productos más enérgicos, por lo tanto la flora y fauna son afectadas cada vez más destruyendo la diversidad natural de las regiones en que se usan. Además pueden ser consumidos por el hombre a través de plantas y animales que consume como alimento. Lamentablemente el fenómeno de resistencia comenzó a observarse en parásitos internos como los nematodos gastrointestinales. Los últimos treinta años se han caracterizado por el desarrollo y aplicación en distintas áreas ecológicas del mundo, de numerosas estrategias de control de endo y ectoparásitos que afectan la producción animal. La mayoría de ellas mostraron ser altamente eficaces, prácticas y económicas para el control de parásitos, pero incapaces de prevenir y/o controlar el constante desarrollo de resistencia a los antiparasitarios (antihelmínticos, acaricidas, insecticidas). Casi sin excepción y en la medida que los antiparasitarios fueron perdiendo eficacia, estas estrategias se hicieron menos rentables, comprometiendo en algunos casos, la propia sustentabilidad del sistema productivo.<sup>(2)</sup>

La disponibilidad futura de nuevos antiparasitarios, no sólo se encuentra comprometida por el progresivo aumento de los casos de resistencia y los crecientes costos de investigación y desarrollo, sino también una cierta falta de conocimiento y competencia para el descubrimiento de nuevas drogas y la disminución gradual de la eficacia de las ya existentes.<sup>(3)</sup>

El escenario de principios de siglo XXI se caracteriza además por la crisis económica del sector agropecuario, por mercados cada vez más regionalizados, competitivos, exigentes y globalizados.<sup>(3)</sup>

En este marco económico productivo, si no ocurre un cambio drástico en el enfoque de control, cabe esperar un aumento progresivo de casos de resistencia múltiple en distintas especies/géneros de endo y ectoparásitos junto a la posibilidad de crear desequilibrios ecológicos y permitir el depósito de residuos en carne, leche y lana.<sup>(3)</sup>

Esta bien claro que el desarrollo de la Farmacología y el logro de nuevos fármacos durante el siglo XX ha sido espectacular. A ello han contribuido la

Química, Farmacología y Clínica. Hoy en día se podría establecer un cierto paralelismo con el pasado, con la sola diferencia de que ahora los fundamentos para la investigación y desarrollo de nuevos fármacos se apoyan sobre todo en la Biología molecular, el genoma y proteoma, la Farmacogenética, la Biotecnología, la Química combinatoria, Bioinformática y la Robótica al margen de la Farmacología y la Clínica. Han cambiado las técnicas y los abordajes pero no los objetivos y las posibilidades. <sup>(4)</sup>

Debido al alto costo de ese tipo de investigación desde el estudio químico de la sustancia hasta su introducción comercial, en México se desarrolla de manera escasa. <sup>(4)</sup>

Es cierto que cada vez disponemos de fármacos más activos y eficaces. Aun no hemos logrado eliminar los efectos adversos ni lo haremos nunca. Debemos convivir con ellos. Eso sí, controlándolos. Aun queda un largo trecho en la investigación farmacológica, a pesar de los avances espectaculares logrados en el siglo XX. Se ha dicho y no sin razón que no se puede olvidar la historia a riesgo de repetirla. A este respecto es prudente recordar que el descubrimiento de fármacos, en el siglo XX, fue estimulado por la síntesis química, consolidado por la investigación farmacológica y guiado por las disciplinas clínicas. En todo caso aun existen y existirán por mucho tiempo agujeros negros. En suma, el progreso de la Farmacología y en lógica consecuencia, de la Terapéutica ha venido estrechamente relacionado, y lo hará más en el futuro, al desarrollo de la Química, Bioquímica, la Clínica y muy particularmente con las aportaciones de la Biología molecular, la Biotecnología y la Bioinformática. La Farmacología se ha visto beneficiada de esta conversación cruzada multidisciplinaria; pero reconozcamos que ha devuelto con creces lo que recibió, proporcionando herramientas terapéuticas de una utilidad sin precedentes. <sup>(4)</sup>

El estudio del grupo de los carbamatos como antihelmínticos potenciales surge del trabajo interdisciplinario en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, existiendo en este momento un grupo de académicos de que trabaja en el desarrollo a través de síntesis orgánica de una gran variedad de compuestos que pertenecen a familias químicas definidas en las que realizan los análisis para determinar la presencia de propiedades farmacológicas las cuales podrán ser detectadas por medio de experimentación, existiendo el enfoque a la actividad antimicrobiana, antimicótica, antiinflamatoria, analgésica y en este caso, antiparasitaria.

## II. ANTECEDENTES HISTORICOS

Desde tiempos inmemoriales los parásitos fueron reconocidos como causantes de enfermedad humana. Las más antiguas publicaciones conocidas, como el papiro de Ebers que data de 1600 años A.C. hace referencia a los gusanos dañinos, al hombre. La medicina de Persia y Grecia daba importancia a los parásitos y Hipócrates recomendaba métodos para su tratamiento.<sup>(5)</sup>

Hasta mediados del siglo XVII, el conocimiento de la Parasitología se limitaba a reconocer la existencia de unos pocos parásitos exteriores visibles, tales como piojos y pulgas y unas pocas clases de parásitos interiores que eran demasiado evidentes para ser pasados por alto, tales como las tenias, o solitarias, los Áscaris, o lombrices intestinales, oxiuros o lombrices de los niños y los gusanos de Guinea. Sin embargo, se creía que los parásitos eran productos naturales del cuerpo humano, comparables a las verrugas o a los forúnculos. Incluso figuras tan inmortales en la Parasitología como Rudolphi y Bremser a principios del siglo XIX sostuvieron esta idea.<sup>(6)</sup>

En la época de Linneo, este punto de vista fue cediendo gradualmente el paso a otro, en el sentido de que los parásitos internos se originaban a partir de organismos de vida libre que se hubiesen tragado accidentalmente.<sup>(6)</sup>

El padre de la Parasitología; Francesco Redi, nacido en 1626 demostró a un mundo incrédulo que las cresas se formaban a partir de los huevos de moscas y que incluso los Áscaris tenían machos y hembras y producían huevos. Fue por lo tanto Redi el primer perseguidor auténtico de parásitos; los buscó y los encontró no tan solo en los intestinos humanos, sino también en otros órganos de la persona, en los intestinos de animales inferiores, en las bolsas de aire de las aves y en las vejigas natatorias de los peces.<sup>(6)</sup>

Aquel mismo medio siglo señaló el origen de la Protozoología porque fue en aquella época cuando el tallador de lentes holandés Leeuwenhoek perfeccionó unos microscopios que le permitieron describir y descubrir organismos microscópicos muchos de ellos identificados como protozoarios, en el agua de la lluvia, en la saliva, en las heces, etc., si bien el primer protozoo definitivamente identificado como parásito humano fue el Balantidium coli, descubierto por Malmsten en Suecia en 1856, casi dos siglos después.<sup>(6)</sup>

A pesar del trabajo de estos precursores, la Parasitología realizó pocos progresos hasta casi un siglo más tarde, en que apareció en escena Rudolphi. Nacido en Estocolmo en 1771. Él coleccionó y clasificó los parásitos conocidos hasta su tiempo.<sup>(6)</sup>

Desde principios del siglo XIX las ciencias básicas y tecnológicas progresaron rápidamente, influyendo en el avance de los conocimientos científicos, biológicos y su aplicación en la medicina humana y animal, en la agronomía, ingeniería y otras ramas de la ciencia y tecnología. El proceso de industrialización se expandió rápidamente por el mundo y la humanidad se benefició enormemente con la aplicación de la energía eléctrica, los motores y los medios mecanizados de transporte. Estos mismos adelantos repercutieron en el progreso de las comunicaciones, facilitando el intercambio entre los pueblos, acortando las distancias, favoreciendo el comercio y también la difusión de infecciones.

Paralelamente, influyeron en la vida humana diversos fenómenos sociales que se acentuaron durante lo que lleva transcurrido el presente siglo tales como el crecimiento demográfico acelerado y el consiguiente predominio de los grupos juveniles en las poblaciones; el proceso de urbanización que se derivó de la migración de los campesinos hacia las grandes ciudades, el incremento de la cultura media de los ciudadanos y sus aspiraciones por condiciones de vida mejores.<sup>(7)</sup>

Los conocimientos científicos de las parasitosis están por lo general bien establecidos, si se comparan con otras enfermedades humanas. Se sabe bien las características biológicas de los parásitos, los mecanismos de invasión, localización en el organismo, patología, tratamiento, medidas de prevención y control. A pesar de lo anterior las infecciones parasitarias están ampliamente difundidas y su prevalencia es en la actualidad similar, en muchas regiones del mundo, a la que existía hace 50 años o más.<sup>(5)</sup>

Las enfermedades infecciosas acompañan al ser humano en todo su tránsito vital; desde el nacimiento se inicia la colonización microbiana de la piel y las mucosas superficiales, y se establecen las floras características del árbol respiratorio superior del tubo digestivo y de la vía genitourinaria inferior.<sup>(7)</sup>

Es muy común encontrar en la literatura sobre desarrollo económico el hecho de que los indicadores de pobreza son de igual correlación; la baja productividad, la baja capitalización y el alto grado de ignorancia, la vivienda precaria, las deficiencias en la calidad del agua y en el saneamiento básico, la inadecuación en el manejo de desechos, la depredación y contaminación del ambiente, el deterioro social y económico, el hacinamiento, la violencia y la falta de higiene y de costumbres saludables coinciden con altas tasas de natalidad y de mortalidad infantil y materna junto con un consumo insuficiente de aporte calórico y proteico en todas las edades y con altos índices de enfermedades infecciosas y parasitarias.<sup>(5)</sup>

En los países industrializados esa correlación apunta hacia ciertas áreas, a ciertos grupos sociales y a ciertas familias; en cambio, la distribución de esas condiciones abarca un mayor sector de la población en los países en vías de desarrollo.<sup>(5)</sup>

Los avances médicos en materia de enfermedades infecciosas por medio de la Microbiología, Inmunología, Quimioterapéutica y Antibioterapia han complementado el progreso en el saneamiento ambiental, la higiene de alimentos y bebidas y en la educación médica de la población.<sup>(7)</sup>

Desde que existe un registro de estadísticas vitales (1922) hasta nuestros días, las enfermedades infecciosas ocupan los primeros lugares como causa de enfermedad y muerte. En 1929 de las 10 enfermedades o condiciones productoras de mortalidad 8 fueron infecciosas y la única sin aparente relación microbiana, la mortalidad asociada con el nacimiento ocupó el séptimo lugar y los accidentes el décimo.<sup>(7)</sup>

En general la letalidad de casi todas las enfermedades infecciosas particularmente en lactantes y preescolares menores, es más alta en México que en otros países desarrollados.<sup>(7)</sup>

Se ha calculado que en el mundo más de 3 mil millones de seres humanos, además de un número mayor de animales domésticos y salvajes, sufren parasitosis. Aunque estos padecimientos representan el más urgente problema de

salud del hombre, han sido también los mas descuidados. En teoría las parasitosis son relativamente sencillas de tratar, porque en casi todos los casos se conocen los agentes etiológicos, sin embargo, es común encontrar entre los individuos afectados la presencia de varios tipos de parásitos que da por resultado los síndromes parasitarios. <sup>(5,8)</sup>

La prevención y control de las parasitosis intestinales se basa en los métodos tradicionales, consistentes en el uso de letrinas, higiene personal, calzado, agua potable, educación y saneamiento ambiental. Estas medidas se han adoptado esporádicamente en los países pobres y de manera definitiva en los desarrollados. En los primeros no han producido resultados favorables, pues se requiere que se mantenga permanentemente y que vayan paralelos al desarrollo socioeconómico, que se ha logrado. En los últimos años, con la presencia de modernos antiparasitarios, se ha utilizado el tratamiento comunitario, llamado también tratamiento en masa, como una medida coadyuvante en el control de algunas parasitosis. En las parasitosis que se adquieren por ingestión de alimentos crudos se requiere implantar la costumbre de la buena cocción y el control de las carnes en los mataderos. <sup>(5)</sup>

Las parasitosis transmitidas por artrópodos se han tratado de controlar por medio del ataque a estos vectores, lo cual ha sido difícil de lograr en la mayoría de los casos. La malaria es un ejemplo importante que revela esta dificultad. Hace unos años con el descubrimiento de DDT y otros insecticidas, se planeó la erradicación de la enfermedad con bases científicas. Desafortunadamente surgieron factores biológicos de resistencia y razones socioculturales en las zonas afectadas, que hicieron imposible la erradicación y crearon la necesidad de implantar programas de control. Otras parasitosis, con hospederos intermediarios específicos, requieren programas propios. Es el caso de la esquistosomiasis en la cual el ataque a los caracoles es una de las medidas que se ha utilizado. En las parasitosis congénitas es muy importante la difusión de conocimientos sobre medidas de prevención, que ocurre en la toxoplasmosis. <sup>(5)</sup>

Las vacunaciones contra enfermedades parasitarias sólo existen en etapa experimental. Se espera que con el progreso científico pueda obtenerse para enfermedades tan graves y difundidas como la malaria, leishmaniasis, tripanosomiasis y otras. <sup>(5)</sup>

### III. TIPOS DE PARASITOS

La distinción más general en la morfología de los parásitos está dada por el número de células que los componen.

Los protozoarios son seres animales cuyo cuerpo está formado por una sola célula. Su forma de vida es variada y casi siempre muy sencilla.

Los metazoarios son animales cuyo cuerpo está constituido por muchas células, diferenciadas entre su estructura y en sus funciones, dependientes entre sí y agrupadas formando tejidos y órganos entre los que se sitúan los helmintos (nematodos, cestodos, trematodos y acantocéfalos) y los artrópodos.<sup>(9,10)</sup>

#### 3.1 PROTOZOARIOS

Son animales unicelulares en los que las actividades diversas de metabolismo, locomoción, etc son llevados a cabo por organelos de la célula. En el reino vegetal aparecen formas comparables (plantas unicelulares) y en general los protozoarios se diferencian de estas últimas por la ausencia de cromatóforos con clorofila y por el tipo de nutrición (holozoica).

Los protozoarios tienen un núcleo bien definido y no presentan pared celular rígida, lo que permite, al mismo tiempo una variación marcada de tamaño y forma. De todas maneras, estas distinciones no pueden aplicarse rígidamente a todas las formas y hay un conjunto de organismos que comparten los caracteres tanto de plantas como de animales. Para denominar a estas formas intermedias se introdujo el término protista, pero dicha denominación no ha sido aceptada por todos los autores.

Desde que Antonio Van Leeuwenhoek descubrió los protozoarios, se han descrito unas 45 mil especies. La mayoría son de vida libre, y habitan medios terrestres y acuáticos.<sup>(11)</sup>

#### 3.2 HELMINTOS

Este término se aplica en forma general a todos los gusanos (se deriva del griego *Helmis* o *Helminto*). Dentro de este grupo se debe incluir al Phylum *Platyhelminthes* (gusanos planos) y al Phylum *Nematyhelminthes* (gusanos cilíndricos).<sup>(11)</sup>

##### 3.2.1 NEMATELMINTOS

Los nematodos, nematelmintos o gusanos redondos son metazoarios con cuerpo cilíndrico, de simetría radiada, no segmentados, terminados generalmente en extremos más o menos cónicos, provistos de una cavidad general y con un tubo digestivo completo.

La talla de los nematodos es muy variable; algunos de los que parasitan al hombre son tan pequeños que apenas se les puede percibir a simple vista, en cambio otros alcanzan longitud cercana a un metro, y grosor como el de un lápiz ordinario; su color es casi siempre blanco-amarillento pero puede ser también rojizo o rosado.<sup>(11)</sup>

### 3.2.1.1. Haemonchus contortus

Es un nematodo que se presenta en el abomaso (estómago verdadero) de las ovejas, cabras, vacas y otros rumiantes, en casi todas las zonas del mundo es uno de los nematodos más patógenos de estos animales.<sup>(12)</sup>

#### Cuadro 1 Identificación taxonómica:

Súper reino	Eukaryota
Reino	Animalia
Sub reino	Metazoa
Phylum	Nematoda
Clase	Chromadorea
Orden	Strongylida
Sub orden	Strongylina
Super familia	Trichostrongyloidea
Familia	Trichostrongylidae
Sub familia	Haemonchinae <sup>(17)</sup>

### 3.2.1.2. MORFOLOGIA

Los machos miden de 10 a 20 mm de longitud y las hembras de 18 a 30 mm. El macho tiene un color rojizo uniforme, mientras que en la hembra, los ovarios blancos enrollados en espiral alrededor del intestino rojo le dan un aspecto rayado. *Fig. 1*. Los gusanos adultos se distinguen por la presencia de una lanceta curvada y simple (gancho de sangre) en el fondo de la pequeña cavidad bucal y un par de papilas cervicales que son prominentes y espiniformes llamados deridios. *Fig. 2*. La bolsa copulatrix del macho tiene lóbulos laterales alargados sustentados por radios largos y finos, *Fig. 3*. El pequeño lóbulo dorsal es asimétrico y está desviado hacia el lóbulo lateral izquierdo, siendo sustentado por un radio dorsal en forma de Y. Las espículas miden de 0.46 a 0.506 mm de longitud y cada una lleva una pequeña lengüeta cerca del extremo. La vulva de la hembra esta cubierta normalmente por un proceso lingüiforme que suele ser grande y muy prominente, pero que puede aparecer reducido a una pequeña prominencia en forma de botón en algunos ejemplares. *Fig. 4*. Los huevos tienen cascarones delgados, hialinos y miden 70-85 por 41-48  $\mu\text{m}$ , y salen con las heces del hospedador conteniendo un embrión de 16 a 32 células. *Fig. 5, 6.*<sup>(12)</sup>



*Fig. 1. Hembra de Haemonchus contortus*  
<http://www.nematodes.org/nematodesEsis/Haemonchus/Haemonchus.html>

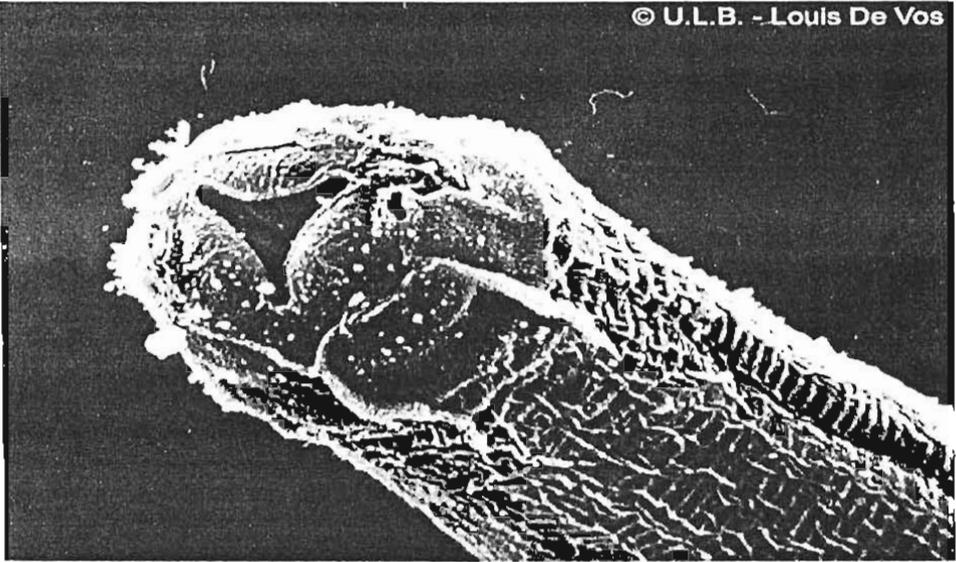


Fig. 2. Boca de *Haemonchus contortus*  
[www.ulb.ac.be/sciences/biodiv/ElmNematodes.html](http://www.ulb.ac.be/sciences/biodiv/ElmNematodes.html)

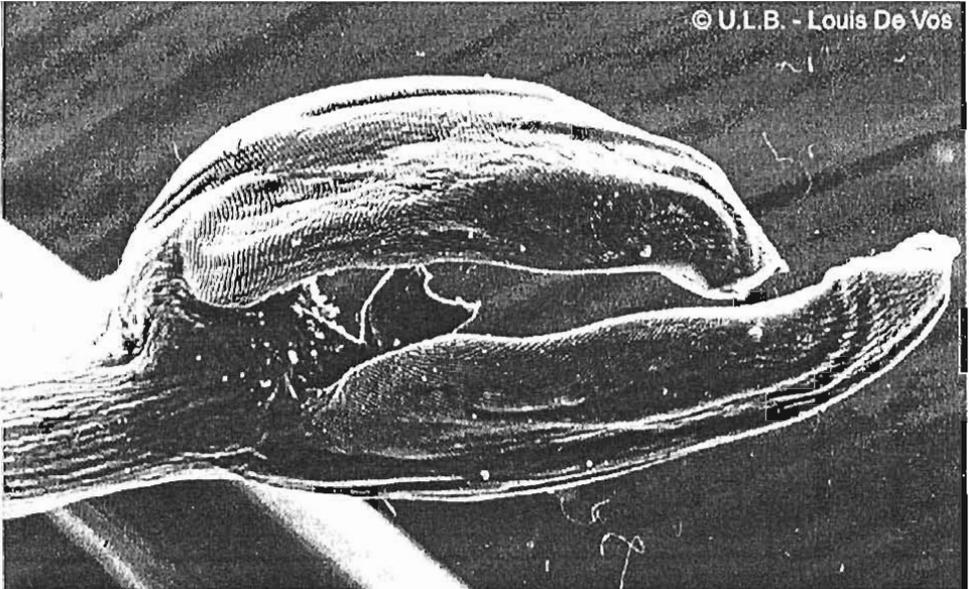
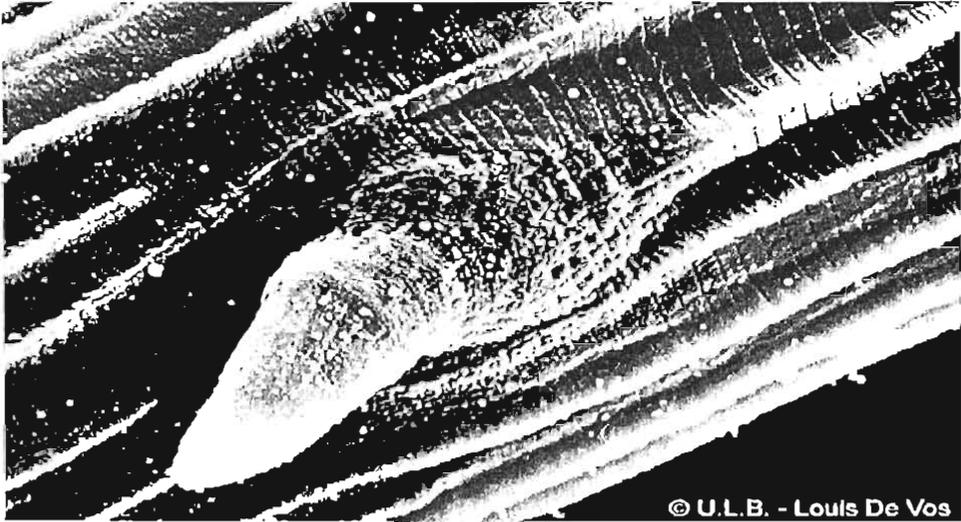


Fig. 3. Extremo posterior del macho de *Haemonchus contortus*  
[www.ulb.ac.be/sciences/biodiv/ElmNematodes.html](http://www.ulb.ac.be/sciences/biodiv/ElmNematodes.html)



© U.L.B. - Louls De Vos  
Fig. 4. Región vulvar de la hembra de *Haemonchus contortus*.  
[www.ulb.ac.be/sciences/biodic/ElimNematodes.html](http://www.ulb.ac.be/sciences/biodic/ElimNematodes.html)

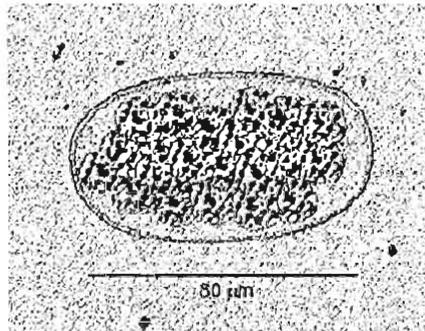


Fig. 5. Huevo de *Haemonchus contortus*  
[http://www.geocilles.com/raydelpino\\_2000/ciclodescripciondeparasitosdecabras.html](http://www.geocilles.com/raydelpino_2000/ciclodescripciondeparasitosdecabras.html)

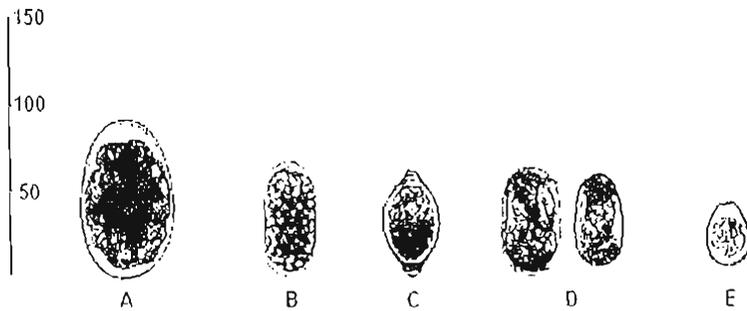


Fig. 6 Comparación del tamaño de huevos de. A. *Haemonchus contortus*, B. *Cooperia oncophora*, C. *Trichostrongylus*, D. *Strongyloides papillosus*, E. *Eimeria*

[www.wiz.uni-kassel.de/nlier/tasso1.html](http://www.wiz.uni-kassel.de/nlier/tasso1.html)

### 3.2.1.3. CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico de los nematodos gastrointestinales es directo, con estadios de vida libre en el ambiente y otros de vida parásita. La fase externa del ciclo comienza con la eliminación de huevos no embrionados en las heces de los animales infestados.<sup>(23)</sup>

Si las condiciones ambientales son adecuadas, los huevos continúan su desarrollo embrionario en el medio externo y dan lugar al primer estadio larvario o larva 1 (L-1); ésta rompe la cubierta del huevo, muda y se transforma en larva 2 (L-2), que vuelve a mudar originando la tercera fase larvaria (L-3), que está presente en la hierba y es la infestante para el ganado.<sup>(23)</sup>

Fase interna o endógena del ciclo se desarrolla en los rumiantes y se inicia con la ingestión de las L-3 con el pasto. Las larvas infestantes, al cabo de 2 o 5 días, alcanzan el abomaso o el intestino delgado y entran en contacto con la mucosa. Algunos géneros, como *Trichostrongylus* y *Cooperia* se sitúan sobre la superficie de la mucosa; mientras que otros, como *Ostertagia* y *Haemonchus*, penetran profundamente en los espacios existentes entre las vellosidades intestinales o en el interior de las glándulas gástricas, donde mudan y se transforman en L-4 y posteriormente a L-5 o preadultos (entre 13 y 16 días post infección). Posteriormente, los preadultos maduran sexualmente y, tras la cópula, comienzan a eliminar numerosos huevos con las heces entre los días 16 y 28 de la infección.

En determinadas ocasiones, preferentemente cuando tienen lugar reinfestaciones, el desarrollo normal de las larvas ingeridas puede verse modificado, produciéndose la detención temporal del desarrollo larvario o hipobiosis que es un estado de metabolismo reducido, sin efecto patológico, como respuesta a los factores climáticos adversos (frío o extrema sequedad). La hipobiosis es un eficiente mecanismo desarrollado por los nematodos para eludir épocas adversas y coordinar el mejor momento de mayor fertilidad con la estación climática más apropiada para el desarrollo en el ambiente y alcanzar además a una nueva generación de hospederos. Pero al mismo tiempo ahora se sabe que la hipobiosis es también otra modalidad de evasión de la respuesta inmune.

La duración de la inhibición larvaria es variable, aunque generalmente oscila entre 16 y 18 semanas, permaneciendo las larvas en el interior de la mucosa del hospedador sin apenas estimular la respuesta defensiva del mismo. El mecanismo por el cual, en un momento dado, se produce la reanudación y maduración de las larvas no se conoce totalmente; no obstante, se ha comprobado que se produce ante estímulos estacionales, como el incremento de la contaminación del ambiente por larvas en un momento en que las condiciones son adecuadas para el desarrollo de las fases libres, pudiendo estar potenciada también por determinados estados fisiológicos del animal, como el parto y la lactación.<sup>(23, 24, 25)</sup> Fig. 7.

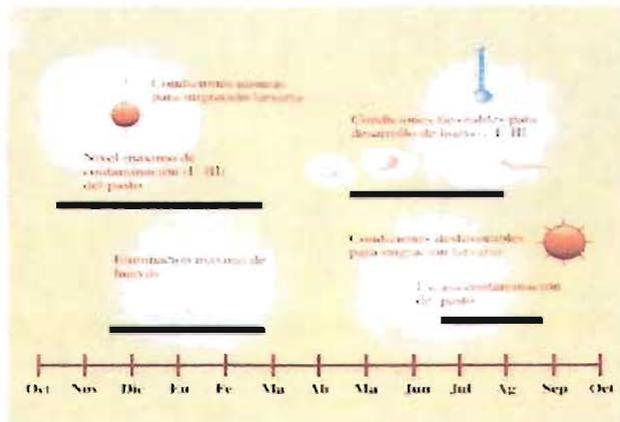


Fig. 7 Cronobiología de las nematodiasis gastrointestinales  
<http://www.exopol.com/general/circulares/177.html>

**Fase externa** del ciclo, comienza con la eliminación de huevos con las heces de los rumiantes. El desarrollo y supervivencia de las fases libres (huevos y los distintos estadios larvarios) están condicionados por diversos factores ambientales, siendo la temperatura y la humedad relativa los que más directamente influyen. Para que los huevos eclosionen y se desarrollen hasta larvas 3 infestantes, es necesario un alto grado de humedad (un substrato que contenga entre el 65,5 y el 70% de agua), mientras que el margen de temperatura es más amplio (entre 5 y 37,5° C).

Los huevos de los nematodos gastrointestinales son poco resistentes a la acción de la desecación; además, la fracción ultravioleta de los rayos solares afecta muy negativamente a los huevos y a las diferentes fases larvarias, por lo que, la supervivencia en el medio, de los estadios de vida libre depende en gran medida del grado de protección proporcionado por la cubierta vegetal o por su localización en el interior de la materia fecal.

Cuando la evaporación es muy intensa, como ocurre en verano, las heces se desecan rápidamente y se deshidratan las formas parásitas que contienen, siendo muy negativo para las L-1 y L-2, que mueren en un corto periodo. Como

consecuencia de la desecación, las heces adquieren una consistencia dura que impide la migración de las larvas a la hierba, por lo que el tipo y consistencia de las heces juega un papel importante; así, las heces blandas y agrupadas en masas tardan más en secarse y de esta forma se mantiene la humedad suficiente para que los huevos se transformen en larvas infestantes, que soportan mejor un cierto grado de deshidratación. Además, es necesario que haya una película fina de agua para que las larvas infestantes puedan emigrar desde las heces a la hierba.

Las larvas libres son muy móviles, siendo capaces de trasladarse desde las heces hasta las hierbas, por las que sienten una verdadera predilección o tropismo. Estos movimientos pueden ir en sentido vertical u horizontal por la superficie del suelo, y facilitan que las larvas alcancen rápida y fácilmente las plantas. Los movimientos que realizan las larvas en sentido vertical tienen mucha importancia desde el punto de vista de la infestación. En efecto, hay un higrotropismo positivo que impulsa a las larvas a desplazarse a zonas húmedas y un fototropismo negativo, en virtud del cual las larvas huyen de la luz refugiándose en el suelo en las horas de mayor intensidad lumínica. Con la disminución de la intensidad de la luz, se produce nuevamente su emigración por las plantas hacia la parte superior alejándose del suelo. Estos tropismos y movimientos de las larvas, condicionan la importancia de la infestación, pues harán que las hierbas estén más contaminadas durante las primeras horas del día, coincidiendo con la salida de los animales a los pastos.

Desde que se eliminan los huevos hasta que se transforman en larvas infestantes, transcurre un periodo que oscila con las condiciones ambientales; si son óptimas la L-1 eclosiona a las 36 o 48 horas, aproximadamente el mismo tiempo que transcurre hasta que muda a L-2, y son necesarios otros 2 o 3 días más para que se desarrolle a L-3 infestante.

La infección de animales está condicionada tanto por el desarrollo de los estadios de vida libre como por la posterior migración y supervivencia de las larvas infestantes. <sup>(23, 24, 25)</sup> Fig. 8.

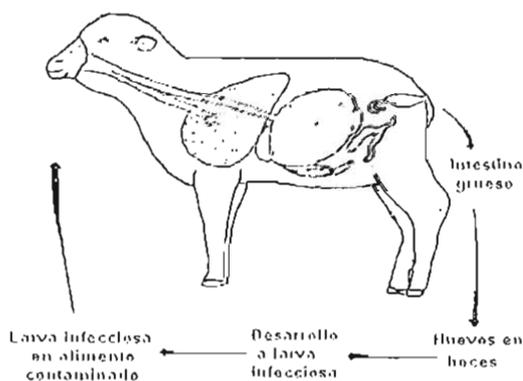


Fig. 8 Ciclo Biológico.

[http://www.geocities.com/raydelpino\\_2000/ombrices.html](http://www.geocities.com/raydelpino_2000/ombrices.html)

Para la propagación de las parasitosis el tipo de animal que ingiere los pastos contaminados es de fundamental importancia y se los puede clasificar en:

1. Animales susceptibles: estos animales al no tener una inmunidad sólida contra los parásitos además de sufrir las consecuencias de las parasitosis actúan como multiplicadores eliminando gran cantidad de huevos a partir de las larvas levantadas con la pastura. Se consideran animales susceptibles a aquellos entre los 4 y 20 meses de edad y a los adultos que no estén con un adecuado nivel de alimentación o que sufran de algunas carencias minerales ( cobre, zinc ) que puedan producir una ruptura del sistema inmune.

2. Animales inmunes: estos animales levantan del campo más larvas de las que contribuyen a formar ya que impiden que lleguen a adulto y eliminen huevos. Actúan como "aspiradoras" y pueden ser útiles para bajar la carga parasitaria de un potrero infectado. Son inmunes los animales mayores de 18-20 meses que se encuentren en un buen estado de alimentación. <sup>(24)</sup>

#### 3.2.1.4. PATOGENIA

La principal característica de la infestación por H. contortus es la anemia. Tanto los adultos como las larvas de cuarto estado son hematófagos y además producen lesiones hemorrágicas en el abomaso. La pérdida media de sangre se ha calculado en 0.05 ml por parásito y día, presentándose sangre en las heces a los 6-12 días de la infestación.

El desarrollo de la anemia en ovinos intensamente infestados con H. contortus se produce en tres fases:

Primera. A los 7-25 días post-infestación, el volumen celular (VC) de ovinos infestados desciende rápidamente del 33 al 22%, mientras que el hierro sérico permanece normal. Esta rápida caída del VC se debe al periodo que transcurre entre la pérdida de sangre y la activación del sistema eritropoyético del hospedador para compensar la pérdida de sangre.

Segunda. Dura de 6-14 semanas, el VC se mantiene estacionario, aunque mas bajo de lo normal, a pesar de la continua pérdida de sangre, ya que los animales infestados la compensan mediante un incremento en la producción de eritrocitos (aproximadamente triplicada). Durante este periodo hay un incremento de hierro plasmático, y un descenso de hierro en heces. Los ovinos tiene limitada su capacidad de reabsorción de hierro intestinal, con solo una media de 11% de reabsorción, si bien los animales que sufren grandes hemorragias adquieren una mayor capacidad de absorción de hierro. Se produce una grave depiación de las reservas de este elemento, hay pérdida de hierro sérico, así como de las reservas en médula ósea y comienza así la tercera fase de la anemia.

Tercera. Se manifiesta por una rápida pérdida de VC, como resultado de la dishematopoyesis debida a la deficiencia férrica.

Los animales infestados pierden gran cantidad de proteínas séricas a través del intestino, habiéndose citado pérdidas fecales medias de plasma de 210 a 340 ml/día, estimadas mediante la pérdida de polivinilpirrolidona marcada con <sup>131</sup>I. Como consecuencia la tasa catabólica fraccional de albúmina sérica puede permanecer en su nivel normal durante varias semanas, lo que puede estar asociado con un notable incremento de la síntesis albuminoidea que se produce

hasta que las reservas metabólicas del animal se agotan.

Los signos clínicos de la verminosis gastrointestinal pueden dividirse en tres síndromes: hiperagudo, agudo y crónico.

Hiperagudo: es poco común, pero puede darse en animales susceptibles expuestos a una infestación masiva repentina. El enorme número de parásitos provoca el rápido desarrollo de una anemia, heces de color oscuro y muerte súbita, debida a la aguda pérdida de sangre. Hay una gastritis hemorrágica intensa. Se puede producir la muerte en el periodo prepatente de tales infestaciones, Fig. 9.



Fig. 9. *Haemonchus* en mucosa de abomaso  
[www.colvet.es/.../dic99/ciencias\\_v/articulo1.htm](http://www.colvet.es/.../dic99/ciencias_v/articulo1.htm)

Agudo: se observa principalmente en animales jóvenes susceptibles con infestaciones intensas. La anemia puede desarrollarse muy rápidamente, pero se produce una respuesta eritropoyética de la médula ósea. La anemia acompañada de hipoproteinemia y edema y se produce la muerte. La cantidad de huevos en heces suele ser alta (más de 100 000 por gramo de heces). El cadáver muestra edema generalizado y anemia y puede haber de 1 000 a 10 000 parásitos en el abomaso.

Crónico: es muy común y de considerable importancia económica. La enfermedad se produce por la infestación crónica con un número notablemente bajo de parásitos (100 a 1 000). La morbilidad es del 100 %, pero la mortalidad es baja. Los animales afectados están débiles, con síntomas de agotamiento. La anemia y la hipoproteinemia pueden ser graves, dependiendo de la capacidad eritropoyética del animal, sus reservas de hierro y las reservas metabólicas nutricionales del hospedero. La cantidad de huevos puede ser en ocasiones menor de 2 000 por gramo de heces. En el examen post-mortem se observan gastritis hiperplásica y alteraciones crónicas de la médula ósea.

Los signos post-mortem varían, dependiendo del síndrome clínico. En general, las membranas mucosas y la piel están pálidas, la sangre tiene un aspecto acuoso. Los órganos internos están intensamente pálidos. Con frecuencia hay hidrotórax, fluido en el pericardio y ascitis, así como una gran caquexia y sustitución de la grasa tisular por un tejido gelatinoso de color marrón brillante; es frágil y muestra

degeneración grasa. El abomaso contiene una mezcla pardo-rojiza, y un gran número de gusanos que se mueven activamente si el cadáver está todavía caliente. La mucosa aparece hinchada y cubierta de pequeñas marcas rojizas, producto de las mordeduras de los parásitos. En ocasiones se observan úlceras superficiales de bordes irregulares en las que se encuentra fijados por su extremo anterior gran número de gusanos. El intestino puede contener algunos gusanos que iban a abandonar al hospedero. Fig. 10. <sup>(12)</sup>



Fig. 10. *Haemonchus* en estómago  
[www.viarural.com.ar/.../nematodestaemonchus.htm](http://www.viarural.com.ar/.../nematodestaemonchus.htm)

### 3.2.1.5. EFECTOS ECONOMICOS

Los efectos del parasitismo sobre la producción son muy conocidos. La anorexia y la reducción de la ingestión de alimentos, las pérdidas de sangre y proteínas plasmáticas en el tracto gastrointestinal, las alteraciones en el metabolismo proteico, la reducción de niveles minerales, la depresión en la actividad de algunas enzimas intestinales y la diarrea contribuyen a reducir las ganancias de peso, crecimiento de la lana y producción de leche.

La reducción en el crecimiento esquelético producida por las deficiencias minerales afecta a la tasa de crecimiento, ya que el tamaño del esqueleto determina, finalmente la capacidad del animal para acumular músculo. Además, los reducidos niveles de incorporación de los aminoácidos a las proteínas del músculo producen una reducción en la ganancia de peso. Incluso se puede producir pérdida del peso mismo. La producción de lana se ve suspendida, como resultado de la reducida incorporación de aminoácidos a las proteínas de los folículos. La cantidad de lana también se empobrece y en animales muy parasitados puede producirse una interrupción en la producción de la misma.

En ovejas, el parasitismo clínico o subclínico, asociado a la ruptura preparto de la inmunidad protectora, puede esperarse supresión en la producción de leche. Esto a su vez, puede reflejarse en la reducción de la tasa de crecimiento de los corderos lactantes. <sup>(12)</sup>

### 3.2.1.6. EPIDEMIOLOGIA

La Epidemiología estudia la dinámica de la población y los factores que determinan la magnitud de la carga parasitaria dentro y fuera del animal. Los ovinos están permanentemente parasitados, la cantidad y géneros actuantes son las que determinan la salud de los animales y el efecto sobre la producción. Los efectos y sus consecuencias pueden ser modificados con manejo de los animales y de las pasturas. Los principales nematodos en ovejas son Haemonchus contortus (parásito colorado del cuajo), Trichostrongylus spp. (parásitos de la diarrea negra), Cooperia spp. y Ostertagia spp., (actualmente Teladorsagia spp.) entre otros. El parásito indudablemente más dañino es el H. contortus que es hematófago produciendo las mayores pérdidas de peso vivo, calidad y cantidad de lana, disminución en la producción de leche y elevada tasa de mortalidad en animales adultos y jóvenes. La infección de los corderos se produce al pie de la madre, sobre todo si esta no tiene buena producción láctea en primavera, aunque generalmente luego del destete, es cuando se los expone a un mayor desafío larvario. Desde antes del parto y durante la lactación las ovejas sufren una considerable disminución en las defensas, debido a la producción de una hormona (prolactina). En primavera y otoño se observa con mayor frecuencia el H. contortus, en invierno en cambio se ve las mayores cargas de Ostertagia spp, mientras que la mayor cantidad de T. axei y colubriformis se observa en primavera y otoño. El parasitismo causado principalmente por el H. contortus llevó a los productores a realizar tratamientos frecuentes con diversos antiparasitarios que llevó a la aparición de resistencia de los parásitos a muchas de las drogas antiparasitarias, en todo el mundo. <sup>(26)</sup>

### 3.2.1.7. DIAGNOSTICO

Los signos clínicos, por si solos, pueden conducir a la sospecha de verminosis gastrointestinal, y si además hay recuentos altos del número de huevos de heces (incluyendo la identificación de larvas en cultivos fecales), se poseen datos suficientes para establecer un diagnóstico. Sin embargo, el diagnóstico definitivo solo puede hacerse mediante necropsia de un caso clínico representativo del rebaño. Fig. 11. <sup>(12)</sup>



Fig. 11 Haemonchus contortus adulte

<http://ucdnema.ucdavis.edu/imagemap/nemmap/ENT158HTML/upenn/hiplacF.gif>

### 3.2.1.8. TRATAMIENTO

Para tratar correctamente las helmintiasis intestinales es indispensable poseer conocimientos científicos sobre los helmintos que se alojan en el tubo digestivo, especialmente los que permiten identificar a las diversas especies de tales parásitos, los que enseñan la manera cómo estos llegan al organismo, los lugares donde se sitúan, su manera de fijarse y alimentarse. También es necesario conocer el proceso mediante el cual tales helmintos son capaces de dañar el organismo, así como las lesiones y los trastornos que esas agresiones pueden causar. También es de gran utilidad, para guiar el tratamiento y apreciar sus resultados, calcular, al menos aproximadamente, el número de los parásitos presentes en el caso por tratar. <sup>(9)</sup>

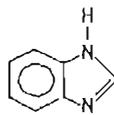
Los antihelmínticos deben ser bien absorbidos y deben tener una amplia distribución en el organismo.

Estos compuestos deben seguir ciertas condiciones:

1. Tener amplio espectro de actividad.
2. Tener un elevado margen terapéutico.
3. Ser efectivos frente a las diferentes fases del desarrollo (huevos, larvas y adultos).
4. Favorecer el desarrollo de la inmunidad natural.
5. No alterar el desarrollo normal del animal.
6. Ser aceptable por los animales y fácil de administrar.
7. Ser económicos.
8. No dejar residuos en los tejidos.
9. Estos compuestos requieren un periodo de supresión previo al sacrificio. <sup>(31)</sup>

Entre los principios desarrollados para el combate de la nematodiasis gastrointestinal podemos considerar:

#### *Benzimidazoles*



**Benzimidazol**

La estructura química de los benzimidazoles se basa en el 1,2 diamino benceno; las diferencias entre los compuestos de este grupo radican en la modificación del carbono 5 del anillo bencénico, lo cual da lugar a diferencias en la farmacocinética y espectro de los mismos.

Su espectro es amplio e incluye: Áscaris, Ancylostoma, Necator, Trichuris, Strongyloides.

El mecanismo de acción de los antihelmínticos benzimidazoles comenzó a comprenderse cuando se observó que la desintegración de las estructuras microtubulares es el principal efecto de mebendazol sobre las células intestinales de Áscaris suum. De esta manera, se confirmó que estos compuestos actúan ligándose selectivamente a la subunidad  $\beta$  de la proteína tubulina de nematodos y cestodos, modificando el patrón de polimerización para la formación de los microtúbulos. Esto origina una pérdida de la homeostasis celular, que si persiste en el tiempo puede resultar letal para el parásito. Los microtúbulos están formados por dos subunidades protéicas muy relacionadas,  $\beta$  tubulina y  $\alpha$  tubulina. Recientes investigaciones parecen indicar que estos compuestos se unen tanto a la  $\alpha$  tubulina como a la  $\beta$  tubulina, con estequiometría de 1:1, y a los polímeros  $\alpha/\beta$  con una estequiometría 2:1. Los microtúbulos son estructuras intracelulares que poseen una amplia variedad de funciones celulares, entre ellas movimiento de cromosomas durante la división celular, soporte estructural de la célula, motilidad, movimiento de partículas intracelulares como metabolitos energéticos, absorción de nutrientes, exocitosis y comunicación célula-célula.

Además inhiben los mecanismos de asimilación de la glucosa por parte del nematodo, la producción de ATP ( adenosinatrifosfato) y la utilización del glucógeno. También inhiben los procesos oxidativos de fosforilación, que afectan la energía del parásito. Reducen la fumarato reductasa, lo que inhibe a su vez la generación de energía a nivel de mitocondrias. El efecto farmacológico de estos antihelmínticos requiere mayor período de latencia, siendo más lento que aquellos que actúan sobre la coordinación neuromuscular del parásito, e incluye déficit energético del parásito por la ruptura brusca de las células intestinales e inhibición de la producción de huevos. Estas diferencias en el mecanismo de acción farmacológico determinan que la acción antihelmíntica *in vivo* no sea inmediata. Se requieren concentraciones sostenidas en el tiempo para asegurar la eliminación de los parásitos de su sitio de localización, razón por la cual es relevante el conocimiento de las propiedades farmacocinéticas de los mismos.

La baja solubilidad aumenta la acción antiparasitaria por cuanto permite el más largo contacto del fármaco con el parásito, dentro del intestino del animal. A medida que se disuelve se van manteniendo concentraciones activas con eficacia antiparasitaria en el plasma, lo que permite actuar sobre ciertas larvas inmaduras y latentes en las paredes intestinales y órganos. Buena parte de la actividad antihelmíntica de la droga, se logra luego de la formación de metabolitos de forma sulfóxido, generado durante el metabolismo hepático.

Entre sus representantes están el albendazol, el mebendazol y el tiabendazol, en preparados orales, lo que es frecuente para este tipo de fármacos.

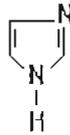
Farmacocinética: se absorbe por el tracto gastrointestinal en pequeña proporción, alcanzando niveles plasmáticos en 2 a 4 horas, no mayores del 1% de la dosis administrada. Se excreta por materia fecal entre un 44% y 50%, sin modificaciones y por orina 1%. Dos semanas luego de su administración pueden detectarse cantidades residuales en los tejidos, principalmente en el hígado. <sup>(33)</sup>

36, 37, 38, 39)

*Probenzimidazoles:* Los probenzimidazoles como el febantel, el tiofanato y el netobimin son prodrogas inactivas que se convierten enzimáticamente en benzimidazoles etil o etil carbamatos una vez que son absorbidos por el hospedero. Una característica importante de los benzimidazoles es su baja solubilidad en agua, lo que afecta su eficacia especialmente en rumiantes, en los cuales se absorben sólo pequeñas cantidades en el tracto gastrointestinal, con excepción del fenbendazol, el oxfendazol y el tiabendazol. Esto hace que la absorción y la biotransformación sean factores importantes que pueden afectar la eficacia de los benzimidazoles.

El mecanismo de acción y la estructura química de los benzimidazoles y probenzimidazoles es similar, pero el porcentaje de efectividad contra algunos parásitos es diferente para cada uno de ellos debido a que el metabolismo, las concentraciones y tiempo de permanencia en sangre y abomaso de los hospederos son distintos. Las dos acciones principales de estos compuestos son: 1) inhibición del sistema enzimático de la fumarato reductasa, la cual es vital para la producción de energía en la mayoría de los parásitos y, 2) fijación a la tubulina de los parásitos, lo que impide la unión de las subunidades de proteína  $\alpha$  y  $\beta$  de la tubulina y altera la función y estructura de los microtúbulos en las células intestinales de los nematodos. <sup>(38, 39)</sup>

## Imidazoles



Imidazol

El tetramisol es una mezcla racémica de dos isómeros ópticos: los tetramisoles S(-) y R(+); no obstante, la actividad antihelmíntica de la mezcla reside exclusivamente en el levoisómero. De los dos compuestos del grupo, el levamisol (levo-isómero del tetramisol) es el más usado por su amplia disponibilidad comercial, siendo también más potente que el tetramisol y con un mayor margen de seguridad; es efectivo contra los estados maduros de los parásitos gastrointestinales de rumiantes y las formas larvianas y maduras de los parásitos pulmonares, pero es poco eficaz contra larvas hipobióticas y carece de acción ovicida. La absorción del medicamento por parte de los parásitos se hace a través de la cutícula; como el levamisol es un agonista colinérgico, afecta la neurotransmisión causando un efecto espástico paralizante sobre los nematodos; además, en concentraciones altas en el nematodo, afecta el metabolismo

energético por inhibición de la fumarato reductasa, igual que los benzimidazoles. Mediante técnicas electrofisiológicas se ha demostrado que la superficie de las células somáticas de los nematodos posee receptores acetilcolino nicotínicos (nAChR), los cuales normalmente permanecen cerrados en ausencia de agentes de afinidad, pero pueden abrirse en presencia de sustancias de afinidad específica como los antihelmínticos nicotínicos; la unión de dichos compuestos con estos receptores produce despolarización y parálisis espástica de los músculos de los nematodos, y como resultado, ocurre la expulsión de los parásitos.

La población de receptores colinérgicos nicotínicos es heterogénea, habiéndose identificado los subtipos G35, G45, G25 y G55 en el nematodo del cerdo Oesophagostomum dentatum. El receptor nicotínico es un pentámero de subunidades homólogas  $\alpha$  y  $\beta$  que forman un poro central o canal iónico permeable a cationes de Na y K. Cuando el levamisol se une con estos receptores, los canales iónicos se abren, aumenta la conductancia a las 24 horas, principalmente a través de la orina, aunque el moco bronquial es otra vía de excreción.

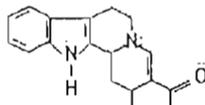
El levamisol se absorbe rápidamente por vía subcutánea en bovinos y alcanza sus niveles sanguíneos máximos en una hora (dos o tres por vía oral), disminuyendo a niveles no detectables a las seis horas postratamiento. El compuesto y sus metabolitos se depuran casi en su totalidad a las 24 horas, principalmente a través de la orina, aunque el moco bronquial es otra vía de excreción.

Existen varias formulaciones del levamisol: aditivos en el alimento, vermífugo, inyecciones subcutáneas e intrarruminal, pour-on y bolos, siendo la vía subcutánea la que confiere mayor biodisponibilidad del fármaco. Se utiliza como clorhidrato y fosfato, sales que son bastante solubles en agua. También se usa porque estimula el sistema inmunitario porque favorece la diferenciación de los linfocitos de tipo T. Además, también estimula la respuesta inmunitaria con otros sistemas y tipos celulares.

Por este motivo, el Levamisol se usa para tratar determinados tipos de inmunodeficiencia y determinadas enfermedades crónicas, y determinadas neoplasias donde la actividad del sistema inmunitario es importante.

Requiere un periodo de supresión porque se acumula a nivel del hígado y riñón. (31, 36, 37, 38, 39)

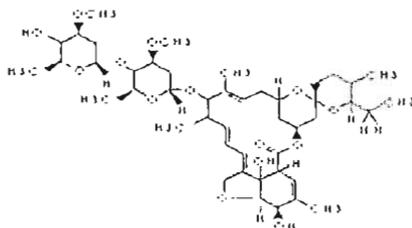
## Tetrahidropiridinas



Tetrahidropiridina

El morantel y el pirantel son dos compuestos de este grupo cuyas formulaciones existen para administración oral. Poseen un modo de acción similar al de los imidazotiazoles y actúan como agentes bloqueadores neuromusculares y despolarizantes, paralizando de esta manera a los parásitos, aunque se menciona que este efecto es reversible. Son altamente efectivos contra las formas adultas de los nematodos intestinales pero no contra las formas larvianas ni los huevos. Estos fármacos existen como sales tartrato o pamoato; las sales del morantel exhiben mayor actividad antihelmíntica que los compuestos del pirantel, por lo que se requieren dosis más bajas para lograr su efecto, y dada su alta solubilidad, es una droga ideal para la liberación lenta en el medio acuoso del rumen que se fórmula como sal tartrato. Son compuestos bastante seguros desde el punto de vista de la bioseguridad y toxicidad, especialmente el morantel. En la oveja este fármaco se absorbe rápidamente desde el cuajar hasta la primera porción del intestino delgado, alcanzando los mayores niveles sanguíneos 4 a 6 horas después de ser administrado. Se usan para combatir nematodos. <sup>(31, 38)</sup>

### Lactonas Macroclícas



Ivermectina

*Avermeclinas* y *milbemicinas* son lactonas macroclícas con actividad antiparasitaria de amplio espectro, gran potencia y actividad persistente, usados para controlar nematodos y artrópodos. Actúan como agonistas de elevada afinidad sobre la subunidad  $\alpha$  de canales iónicos selectivos a cloro presentes en nematodos y artrópodos. Estos canales iónicos están compuestos por cinco subunidades proteicas; tres subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$  se combinan entre sí para formar el pentámero. El ligando natural en invertebrados de estos canales iónicos es el glutamato (Glu), por lo que estos receptores son denominados GluCl. Estos receptores GluCl están localizados mayoritariamente en células musculares somáticas, de la bomba faríngea y del útero, y en sus respectivas neuronas asociadas, por lo que la exposición del parásito blanco a estos compuestos afecta su motilidad, capacidad de alimentación y fecundidad. Cuando estos compuestos se unen selectiva e irreversiblemente a estos receptores aumenta la permeabilidad de membrana al cloro, lo cual origina la hiperpolarización de la

membrana de la célula muscular y/o neuronal del parásito blanco. Como consecuencia se produce una parálisis tipo flácida del parásito que no puede mantenerse en su sitio de localización. Recientemente, Prichard (2001) postuló que la parálisis muscular del cuerpo del nematodo por acción de estas lactonas macrocíclicas es el resultado de la hiperpolarización de las neuronas y, en consecuencia, de la inhibición de las señales de excitación enviadas a los músculos, y no de la inhibición directa de las células musculares corporales. Se ha establecido que las avermectinas y milbemicinas podrían tener un efecto dual: a bajas concentraciones potencian los efectos del glutamato, facilitando la transmisión de un impulso nervioso inhibitorio, ya que el Glu en invertebrados se comporta como un neurotransmisor inhibitorio. Es necesario que más de una molécula de Glu se una a estos canales para que se produzca la apertura. A altas concentraciones estas lactonas macrocíclicas abrirían directa e irreversiblemente los canales de cloro, o sea que, se inhibiría la transmisión del impulso nervioso como resultado de la hiperpolarización de la membrana neuronal/muscular del parásito blanco. Los efectos terapéuticos selectivos de las avermectinas y milbemicinas podrían entonces ser explicados por su acción sobre el canal iónico GluCl que está presente en los parásitos nematodos y artrópodos pero no en el sistema nervioso del animal hospedador. En los mamíferos el Glu se comporta como un neurotransmisor excitatorio de localización central. Las diferentes fibras musculares de los helmintos y sus respectivas neuronas asociadas tienen probablemente diferentes subunidades proteicas del canal de cloro, las cuales pueden ser afectadas por diferentes concentraciones de avermectinas y milbemicinas. Fueron identificadas dos subunidades del canal iónico GluCl en C. elegans. Las subunidades GluCl1 son sensibles a ivermectina, pero no a los compuestos del grupo de las avermectinas que son moléculas naturales y semisintéticas derivadas de los micelios del Streptomyces avermectilis, cuya fermentación produce cuatro pares homólogos de compuestos relacionados: avermectina A1, A2, B1 y B2, las cuales contienen proporciones diversas de estos pares homólogos; así, la abamectina (avermectina B1) contiene 80 % de avermectina B1a y 20 % de avermectina B1b. Más recientemente se han desarrollado las milbemicinas (moxidectin), las cuales, igual que las avermectinas, constituyen un grupo de fármacos con efectos nematocidas, insecticidas y acaricidas extremadamente potentes y de actividad persistente. <sup>(38, 39)</sup>

Para mejorar la actividad y prolongar su vida útil es preciso seguir estos lineamientos:

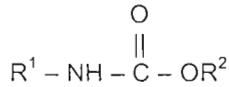
1. Uso racional de los antihelmínticos.
2. Rotación de los antihelmínticos químicamente diferentes para evitar resistencias (tardan bastante).
3. Utilizarlos sólo cuando sea estrictamente necesario.
4. Dosificaciones de ser posible individuales.
5. Tratamiento inmediato y aislamiento de los animales parasitados.
6. Perspectivas de futuro → cría de animales genéticamente resistentes. <sup>(31)</sup>

Cuadro 2. Composición química, mecanismo de acción y variantes de los diferentes grupos de antiparasitarios conocidos.

AMPLIO ESPECTRO		
Mecanismo de acción	Principio activo	Familia farmacológica
Fijadores de tubulina	Benzimidazoles	Cambendazol, Oxfendazol, Flubendazol, Mebendazol, Albendazol, Thiabendazol, Fenbendazol, Parbendazol, Luxabendazol, Triclabendazol.
	Probenzimidazoles	Febantel, Thiofanato, Nelobimin.
Bloqueadores ganglionares	Imidazotiazoles	Tetramisol, Levamisol.
	Tetrahidropirimidinas	Morantel, Pirantel.
Potenciadores GABA	Avermectinas	Ivermectina, Abamectina, Doramectina.
	Milbemicinas	Moxidectin.
CORTO ESPECTRO		
Desacopladores de la fosforilación oxidativa	Salicilanilidas	Cloxacida, Oxiclosanida, Rafoxanide, Closantel.
	Sustitutos	Nitroxinil.
	Nitrofenílicos	Disofenol.
Antagonistas de acetilcolinesterasa	Organofosforados	Triclorfom, Haloxon, Naftalofos, Diclorvos.

## IV. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS CARBAMATOS

La fórmula general de los carbamatos es:



R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>: Grupos alquil o aril

Estas sustancias han sido y son usadas principalmente en la agricultura como insecticidas, fungicidas, herbicidas inhibidores de retoños y nematocidas.<sup>(9,14)</sup>

Son conocidas tres clases de carbamatos, derivados de los ésteres del ácido carbámico o uretano, usados como insecticidas y nematocidas que generalmente son estables y poseen una baja solubilidad en agua. Los carbamatos herbicidas que contienen radicales aromáticos o alifáticos y los carbamatos fungicidas que contiene un grupo bencimidazol.

La síntesis y comercialización de los carbamatos pesticidas se ha dado desde 1950. Los fungicidas bencimidazoles fueron introducidos en el mercado alrededor de 1970.

El medio acuoso es un vehículo importante de transporte para los carbamatos altamente solubles, la característica de fácil absorción de los carbamatos contribuye a su rápida descomposición (por fotodegradación o fotodescomposición) bajo condiciones acuosas.

Los carbamatos insecticidas son aplicados principalmente en las plantas y pueden llegar al suelo, mientras que los carbamatos nematocidas y herbicidas son aplicados directamente en el suelo, en donde hay varios factores que influyen en la biodegradación tales como volatilidad, tipo de suelo, humedad, absorción, pH, temperatura y fotodescomposición. El hecho de que estos compuestos tienen diferentes propiedades hace claro que cada uno debería ser evaluado por sus propios méritos, y no por extrapolación de los resultados. Un carbamato puede ser fácil de descomponer, mientras que otro puede ser fuertemente absorbido en el suelo.

Algunas condiciones medioambientales favorecen el crecimiento y actividad de microorganismos que contribuyen a la degradación de carbamatos por hidrólisis.

Los carbamatos son metabolizados por plantas y animales, descompuestos en agua y suelo, los microorganismos presentes en el suelo son capaces de metabolizar (hidrolizar) carbamatos y pueden adaptarse fácilmente ellos mismos a metabolizar diferentes tipos de carbamatos, sin embargo, los carbamatos y sus metabolitos a altas dosis pueden afectar la microflora y causar cambios importantes a la productividad del suelo.

Los carbamatos son tóxicos para los gusanos y otros organismos que viven en el suelo, hay una gran reducción en la población de gusanos de tierra cuando se aplican carbamatos en éste.

La ruta metabólica de los carbamatos es básicamente la misma en plantas, insectos y mamíferos, son fácilmente absorbidos a través de membranas mucosas, tracto respiratorio y gastrointestinal, los metabolitos generalmente son menos tóxicos que los compuestos similares, sin embargo, en casos específicos

los metabolitos son tan tóxicos o más que los compuestos parientes de los carbamatos, en muchos mamíferos los metabolitos son rápidamente excretados en la orina.

El primer paso en el metabolismo de carbamatos es la hidrólisis a ácido carbámico, el cual se descompone en bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y su correspondiente amina.

Existe muy poca información disponible sobre la distribución de carbamatos en varios órganos o tejidos de mamíferos dada por la exposición a la inhalación o por ruta oral. Los órganos en los cuales han sido reportados residuos son: el hígado, riñones, cerebro, grasa y músculo. La vida media en rata es en orden de 3 – 8 h. los datos disponibles muestran que la excreción de carbamatos por vía urinaria también es rápida en el hombre y la ruta metabólica es la misma en ratas. <sup>(14,15)</sup>

Los carbamatos son efectivos insecticidas en virtud de su habilidad para inhibir la acetilcolinesterasa (AC) en el sistema nervioso. La carbamilación de las enzimas es inestable y la regeneración de la AC es relativamente rápida comparada con la enzima fosforilada, de ésta forma, los pesticidas carbamatos son menos peligrosos para el humano que la exposición a los pesticidas organofosforados. AC cataliza la hidrólisis de la neurotransmisión de la acetilcolina a ácido acético. AC es un mediador sináptico de los impulsos nervioso del sistema nervioso de los mamíferos e insectos, actúa como:

1. Neurotransmisor del cerebro de mamíferos y sistema nervioso central de insectos.
2. Neurotransmisor preganglionar del sistema nervioso autónomo y
3. Regulador de la contracción neuromuscular del músculo esquelético

Para entender el mecanismo de toxicidad es necesario revisar el evento que da lugar a la contracción muscular, la inervación muscular produce un impulso nervioso en la neurona alcanzando la terminación nerviosa en donde AC que se encuentra almacenada en vesículas en la terminación nerviosa, es liberada en la contracción. Dentro de los 2 – 3 milisegundos, AC interfiere del lado del receptor en el músculo.

AC es convertida hidrolíticamente a colina y ácido acético, causando que la contracción decrezca y cese. Cuando AC es inhibida por un carbamato éster, puede hidrolizar la AC, así su concentración permanece alta en la contracción, incrementando la estimulación continua del músculo el cual lleva a la tetania. De esta manera, la inhibición de AC por carbamatos ésteres causa efectos tóxicos en animales y humanos, siendo el resultado de una gran variedad de síntomas de envenenamiento y eventualmente culminar en fallas respiratorias y muerte.

La toxicidad aguda de los diferentes carbamatos puede ir de una condición ligera a la aguda y mortal. La dosis letal 50 (DL50) para la rata tiene un rango de 1 mg/Kg hasta por encima de 5000 mg/Kg. Para ciertos metil carbamatos la DL50 es 20 veces o más la correspondiente dosis efectiva 50 (DE50). Una relación dosis-efecto existe entre la dosis, la severidad de los síntomas y el grado de inhibición de la colinesterasa.

La toxicidad aguda dérmica de los carbamatos es baja o moderada; una excepción es el aldicarbamato ya que es altamente tóxico. Es evidente que aparte de la actividad anticolinesterasa, puede seguir una influencia sobre la funcionalidad del sistema hematopoyético y altas dosis una degeneración de

hígado, riñones y testículos, lo cual depende de la especie animal y la estructura química del carbamato.

Por muchos años los datos de toxicidad en carbamatos han sido evaluados por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, la Organización Mundial de la Salud Join meeting on Pesticide Residues, y en varias especies de animales han llevado a los diferentes carbamatos a un número considerable de estudios sobre efectos en la reproducción y teratogenicidad. Fueron encontradas diferentes anomalías como disturbios en el sistema endócrino, efectos sobre la hipófisis y en el funcionamiento gonadotrófico estos efectos fueron significativos con altas dosis. Generalmente los efectos fetales incluyeron un incremento en la mortalidad, decremento del peso ganado durante las primeras semanas después del nacimiento e inducción a una muerte temprana del embrión.

Se ha encontrado en estudios con ratones que todos los carbamatos son rápidamente distribuidos en tejidos y órganos. Los valores de vida media fueron de 8 a 17 minutos. El primer paso usual es la oxidación natural, se introduce un grupo funcional hidroxilo que sirve como una forma de conjugación secundaria llevándolo a ser un producto que puede excretarse por vía urinaria o fecal. En algunos casos, los metabolitos oxigenados como el 5-hidroxiopropoxur y el 5-hidroxicarbamil.

Oxidación: la principal ruta del metabolismo de los carbamatos ésteres insecticidas es la oxidativa y generalmente está asociada con la función mezclada de enzimas oxidasas (MFO) la cual se presenta en varios tejidos.

Las reacciones típicas oxidativas incluyen a:

1. Hidroxilación de anillos aromáticos o epoxidación.
2. O-dealquilación.
3. N-metil hidroxilación.
4. N-dealquilación.
5. Hidroxilación y subsecuente oxidación de cadenas alifáticas.
6. Oxidación tioéter a sulfóxidos y sulfones.

Hidrólisis: los carbamatos son hidrolizados ya sea espontáneamente o por esterasas (Aldringe y Reigner, 1972) dando como producto final una amina, dióxido de carbono y alcohol o fenol. En general, la velocidad de hidrólisis de los carbamatos por esterasas es más rápido en mamíferos que en plantas e insectos, pero hay excepciones. La diferencia entre la velocidad enzimática y la hidrolítica depende de la estructura del carbamato en particular de las esterasas (A-esterasa o arilesterasa) ha sido establecido que la hidrólisis enzimática ocurre tanto *in vivo* como *in vitro*.

Conjugación: la conversión a productos conjugados de hidroxiproducidos está dada por un sistema de enzimas metabolizadoras de fármacos, es una importante reacción que lleva a la formación de compuestos solubles en agua tales como O' y N' glucurónidos, sulfatos y ácido mercaptúrico, los cuales son eliminados vía urinaria o por heces.

En animales de laboratorio, la oxidación de carbamatos ocurre pero no siempre resulta detoxificación, generalmente el metabolismo oxidativo lleva a productos de gran polaridad y solubilidad en agua y, realmente pueden ser eliminados en orina y heces más que otros compuestos emparentados.

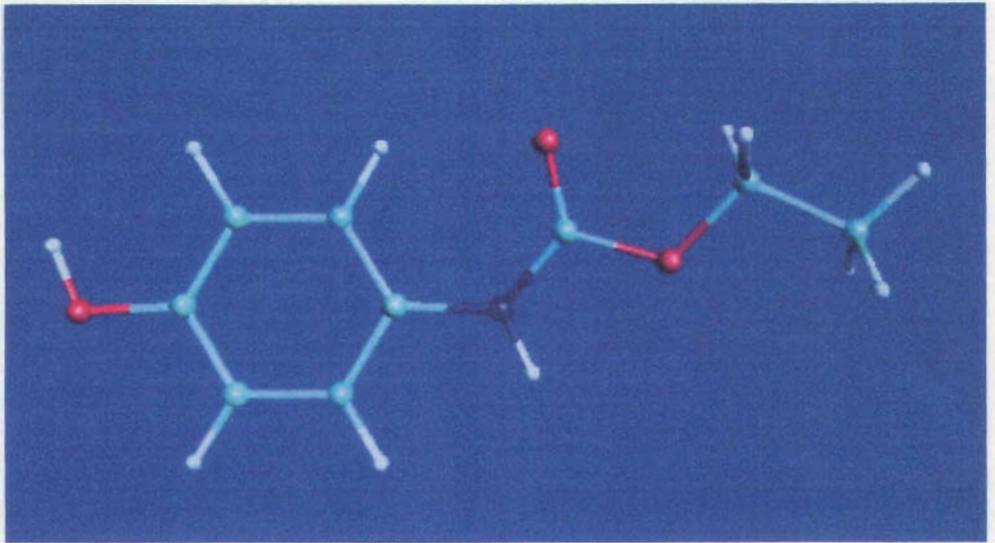


Figura 12. Estructura Química General de los Fenil carbamatos de etilo.

En donde:



Nitrógeno



Oxígeno



Hidrógeno



Carbono

## V. OBJETIVOS

Evaluar nueve principios de síntesis reciente derivados del 4-Hidroxifenil carbamato de etilo identificados como IRE 1A, IRE 2A, IRE 2B, IRE 5A, IRE 6A, IRE 6B, IRE 7B, IRE 8A, IRE 8B, mediante una técnica in vitro con Haemonchus contortus para determinar la posible actividad antihelmíntica.

Comparar la actividad antihelmíntica de los nueve principios a concentraciones de 5, 10, 20, 50 y 100  $\mu\text{g/ml}$ , con respecto a un principio de uso comercial (Albendazol).

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales con infestación:

Se recolectaron muestras de animales con infestación natural en el municipio de Temoaya, Estado de México.

### Técnica de flotación:

De las muestras recolectadas se colocó alrededor de 5 gramos de heces en un vaso de precipitados, se adicionó solución saturada de cloruro de sodio, se homogenizó con la ayuda de una espátula, se dejó reposar por 15 minutos, al término de este tiempo se tomó una muestra de los huevos que se encontraban flotando en la superficie con la ayuda de asa microbiológica, se colocó en un portaobjetos y se observó en un microscopio con el ocular de 10X, esto con la finalidad de observar la presencia de H. contortus.

Detectada la infestación se hicieron cultivos en cajas de petri las cuales se colocaron sin tapa dentro de otra más grande que tenía agua para que las larvas migraran hacia ésta y se incubaron a temperatura de 25°C por siete días, después de este tiempo se obtuvieron las larvas y se procedió a hacer la identificación y separación de larvas de H. contortus por morfología y dimensiones.

### Animales con infestación inducida:

Con las larvas obtenidas se indujo el parasitismo por vía oral para tener animales infestados exclusivamente con H. contortus. El periodo de prepatencia para que los animales empezaran a eliminar huevos en las heces fue de tres semanas, al término de este tiempo se recolectaron las heces por medio de la técnica de flotación se demostró la infestación.

### Huevos de H. contortus:

Los huevos fértiles de los parásitos se separaron de heces frescas de ovinos infestados por medio de flotación con solución saturada de cloruro de sodio recolectando los huevos que se encontraban flotando en la superficie con la ayuda de una cucharilla de metal y se lavaron cinco veces con agua destilada centrifugando a 100 rpm, durante 5 minutos para eliminar por completo la solución salina.

### Técnica de MacMaster:

Posteriormente se realizó la técnica de Gordon & Whitlock (1939), que utiliza la cámara de MacMaster, para el conteo de huevos por gramo de heces y se hizo el ajuste de la densidad de 100 huevos en 200  $\mu\text{L}$  de agua para llevar a cabo la metodología descrita por Ibarra y Jenkins 1984.<sup>(49)</sup>

El técnica de Mac Master es un método cuantitativo basado en el principio de la flotación. Consiste en la cuenta del número de parásito contenidos en 0.30 mL de una suspensión de materia fecal diluida 1 en 15 y requiere de la utilización de una cámara.

La cámara de Mac Master se compone de dos compartimientos contiguos separados por una división, cada uno de ellos tienen un volumen de 0.15 ml. La cubierta de cada compartimiento se divide en 6 cuadros de 1.7 milímetros de ancho.

Se pesó exactamente 1 gramo de heces, se adicionaron 14 ml de solución de flotación y se homogenizó, con la ayuda de una jeringuilla se llenó cada uno de los dos compartimientos de la cámara de Mac Master con la suspensión. Se dejó reposar durante 5 minutos y se observó al microscopio con el objetivo 10X, y se realizó el conteo por separado de cada compartimiento.

Para calcular el número de huevos por el gramo se multiplicó el resultado obtenido a la hora de la cuenta en un compartimiento por un factor 100. <sup>(50)</sup>

Principio activo de prueba.

Los principios que se usaron son derivados del 4-Hidroxifenil carbamato de etilo identificados de la siguiente manera en razón de que sus fórmulas son confidenciales:

IRE 1A, IRE 2A, IRE 2B, IRE 5A, IRE 6A, IRE 6B, IRE 7B, IRE 8A, IRE 8B y se utilizaron a concentraciones de 5, 10, 20, 50, y 100  $\mu\text{g/ml}$ . Para obtener estas concentraciones se hicieron las siguientes diluciones:

Solución stock de la muestra. Se pesaron 10 mg del principio, se transfirieron a un matraz volumétrico de 100 ml, se solubilizó con 10 ml de acetona (ya que los principios son insolubles en agua), se evaporó el disolvente completamente con calor ligero, se hidrató con agua destilada, se llevó al aforo y se mezcló obteniéndose una concentración aproximada de la solución 100  $\mu\text{g/ml}$ .

Solución 50  $\mu\text{g/ml}$ . Se transfirió una alícuota de 5 ml de la solución stock de la muestra a un matraz volumétrico de 10 ml, se llevó al aforo con agua destilada y se mezcló obteniéndose una concentración aproximada de la solución 50  $\mu\text{g/ml}$ .

Solución 20  $\mu\text{g/ml}$ . Se transfirió una alícuota de 2 ml de la solución stock de la muestra a un matraz volumétrico de 10 ml, se llevó al aforo y se mezcló obteniéndose una concentración aproximada de la solución 20  $\mu\text{g/ml}$ .

Solución 10  $\mu\text{g/ml}$ . Se transfirió una alícuota de 1 ml de la solución stock de la muestra a un matraz volumétrico de 10 ml, se llevó al aforo y se mezcló obteniéndose una concentración aproximada de la solución 10  $\mu\text{g/ml}$ .

Solución 5  $\mu\text{g/ml}$ . Se transfirió una alícuota de 5 ml de la solución stock de la muestra a un matraz volumétrico de 100 ml, se llevó al aforo y se mezcló obteniéndose una concentración aproximada de la solución 5  $\mu\text{g/ml}$ .

Suplemento alimenticio:

Consistió en una parte de agua destilada y una parte de una suspensión de heces fecales de ratón con un tamaño de partícula no mayor de 45  $\mu\text{m}$  de diámetro, rica en bacterias para el desarrollo de las larvas ya que éstas durante las fases que se mantienen libres se nutren de microorganismos.

Control positivo:

Se pesó una cantidad del polvo equivalente a 100 mg de albendazol, se transfirió a un matraz volumétrico de 100 ml, se disolvió con agua y se llevó al aforo con el

mismo disolvente. Se transfirió una alícuota de 2 ml a un matraz volumétrico de 100 ml, se llevó al aforo con agua destilada y se mezcló obteniéndose una concentración aproximada de la solución 20 µg/ml. Este control se hizo con la finalidad de comprobar la inhibición de la evolución del parásito con un principio de uso comercial con la prueba *in vitro*.

Control negativo:

Para este control se utilizó agua destilada en lugar del principio. Este se hizo con la finalidad de observar si las condiciones provistas para el ensayo (temperatura, humedad y suplemento alimenticio) eran las óptimas y no afectaban el desarrollo normal de las larvas.

Prueba (Técnica *in vitro*):

Para el ensayo se colocó una alícuota de 200 µl de agua con aproximadamente 100 huevos, 40 µl del principio y 160 µl de suspensión de bacterias. El volumen final fue de 400 µl. El ensayo se hizo junto con el control positivo y el control negativo. Se necesitaba leer la misma muestra durante los cuatro días siguientes, para reducir el error de experimentación y ya que el volumen era muy pequeño se colocaron las muestras y los controles por separado en blister de polietileno y se incubaron a 25°C en cámara húmeda para evitar la evaporación. La cámara húmeda se hizo colocando el blister sobre un algodón húmedo dentro de una caja de petri, y se mantuvo húmedo adicionando agua destilada durante los cuatro días que duró el ensayo. Cada ensayo se hizo por triplicado.

Interpretación de la prueba:

Se observaron las muestras en un microscopio con el ocular de 10X. Los resultados se registraron del día uno al día cuatro diferenciando vivos y muertos.

Análisis estadístico:

Para hacer el análisis se utilizó la prueba de hipótesis con un nivel de confianza de 95% para las diferencias de muestras independientes con el propósito de observar si las medias de los tratamientos y el control eran iguales o diferentes. (51, 52, 53, 54)

Las hipótesis planteadas fueron:

Hipótesis Nula ( $H_0$ ):  $\mu_{\text{tratamiento de prueba}} - \mu_{\text{control +}} = 0$ . No hay diferencia entre los tratamientos de prueba y el control positivo.

Hipótesis Alternativa ( $H_1$ ):  $\mu_{\text{tratamiento de prueba}} - \mu_{\text{control +}} \neq 0$ . Si hay diferencia entre los tratamientos de prueba y el control positivo.

## VII. RESULTADOS

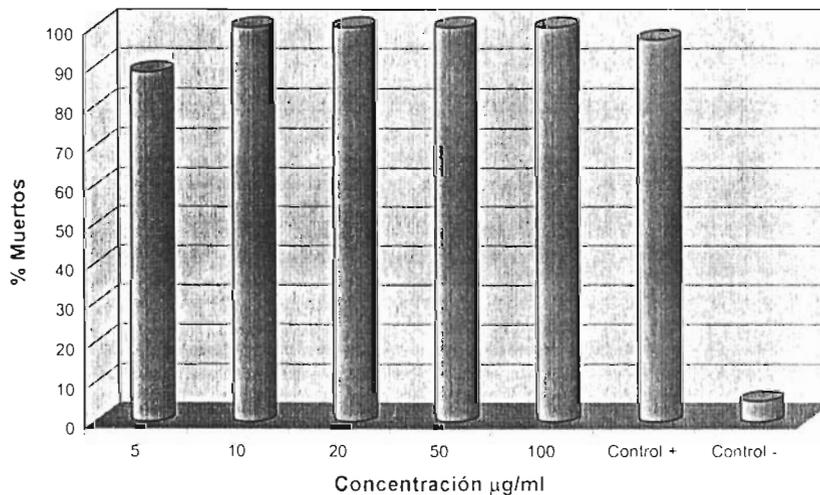
Tabla 1

Concentración $\mu\text{g/ml}$	ENSAYO									
	1o	2o	3o	4o	5o	6o	7o	8o	9o	10o
IRE 1A	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
5	94	91	91	82	93	85	83	83	94	91
10	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
20	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
50	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Control +	98	98	98	87	99	98	97	97	98	98
Control -	1	8	8	5	5	5	6	5	3	8

La tabla 1 presenta los resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 1A. El promedio de parásitos muertos (M) de cada ensayo realizado por triplicado, las concentraciones a las cuales se utilizó el principio de prueba, un control positivo (Albendazol 20  $\mu\text{g/ml}$ ) y un control negativo (0  $\mu\text{g/ml}$ ). En esta tabla podemos observar que el 100% de la inhibición del parásito se presenta a concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$ .

Gráfico 1

IRE 1A



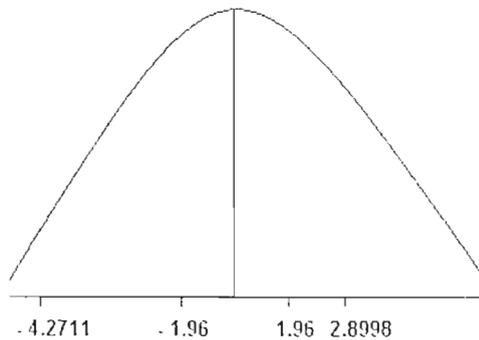
El gráfico 1 muestra el promedio en porcentaje de parásitos muertos a diferentes concentraciones de 10 ensayos del principio identificado como IRE 1A, control positivo y control negativo. A concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  se presenta el 100% de inhibición.

Tabla 1a

	5 $\mu\text{g/ml}$	10 $\mu\text{g/ml}$	Control +
Media	88.7	100.0	96.8
Varianza	23.7889	0	12.1778
Ensayos	10	10	10
Diferencia hipotética de las medias	0	0	
Z de prueba	-4.2711	2.8998	
Valor crítico de z (dos colas)	1.9600	1.9600	

La tabla 1a presenta el análisis estadístico de la tabla 1 en donde tenemos el valor de z de prueba y z crítica o de tablas con una confianza del 95%. Análisis entre IRE 1A 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Análisis entre IRE 1A 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Este análisis se hizo únicamente para las concentraciones de 5  $\mu\text{g/ml}$  y 10  $\mu\text{g/ml}$  contra el Control + ya que se observa que a la concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  se obtuvo el 100% de inhibición.

Gráfico 1a



El gráfico 1a representa los valores de la tabla 1a, donde tenemos el valor de z crítica (de -1.96 a 1.96) El valor de z para IRE 1A 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control + (-4.2711); y el valor de z para IRE 1A 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control + (2.8998). Por lo tanto se acepta  $H_1$ . Con un 95% de confiabilidad se puede decir que las medias de los tratamientos son diferentes.

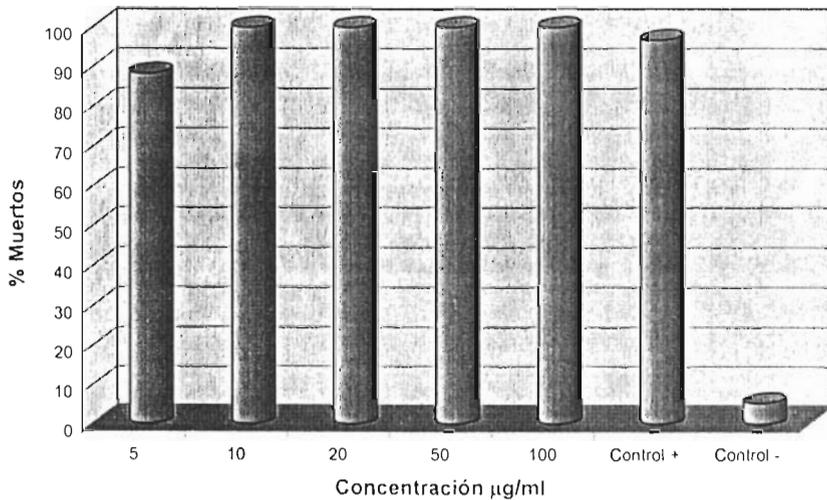
Tabla 2

Concentración µg/ml	ENSAYO									
	1o	2o	3o	4o	5o	6o	7o	8o	9o	10o
IRE 2A	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
5	94	90	90	88	98	81	83	79	90	90
10	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
20	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
50	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Control +	98	98	98	87	99	98	97	97	98	98
Control -	1	8	8	5	5	5	6	5	3	8

La tabla 2 presenta los resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 2A. El promedio de parásitos muertos (M) de cada ensayo realizado por triplicado, las concentraciones a las cuales se utilizó el principio de prueba, un control positivo (Albendazol 20 µg/ml) y un control negativo (0 µg/ml). En esta tabla podemos observar que el 100% de la inhibición del parásito se presenta a concentración de 10 µg/ml.

Gráfico 2

IRE 2A



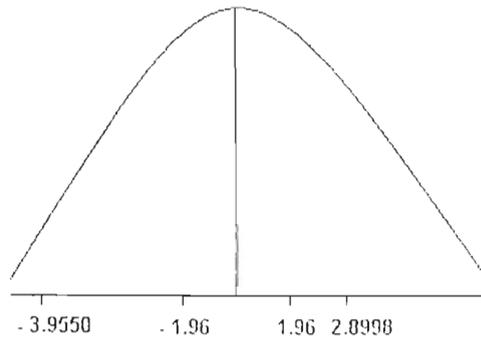
El gráfico 2 muestra el promedio en porcentaje de parásitos muertos a diferentes concentraciones de 10 ensayos del principio identificado como IRE 2A, control positivo y control negativo. A concentración de 10 µg/ml se presenta el 100% de inhibición.

Tabla 2a

	5 $\mu\text{g/ml}$	10 $\mu\text{g/ml}$	Control +
Media	88.3	100.0	96.8
Varianza	34.0111	0	12.1778
Ensayos	10	10	10
Diferencia hipotética de las medias	0	0	
Z de prueba	-3.9550	2.8998	
Valor crítico de z (dos colas)	1.9600	1.9600	

La tabla 2a presenta el análisis estadístico de la tabla 2 en donde tenemos el valor de z de prueba y z crítica o de tablas con una confianza del 95%. Análisis entre IRE 2A 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Análisis entre IRE 2A 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Este análisis se hizo únicamente para las concentraciones de 5  $\mu\text{g/ml}$  y 10  $\mu\text{g/ml}$  contra el Control + ya que se observa que a la concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  se obtuvo el 100% de inhibición.

Gráfico 2a



El gráfico 2a representa los valores de la tabla 2a, donde tenemos el valor de z crítica (de -1.96 a 1.96) El valor de z para IRE 2A 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control + (-3.9550); y el valor de z para IRE 1A 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control + (2.8998). Por lo tanto se acepta  $H_1$ . Con un 95% de confiabilidad se puede decir que las medias de los tratamientos son diferentes.

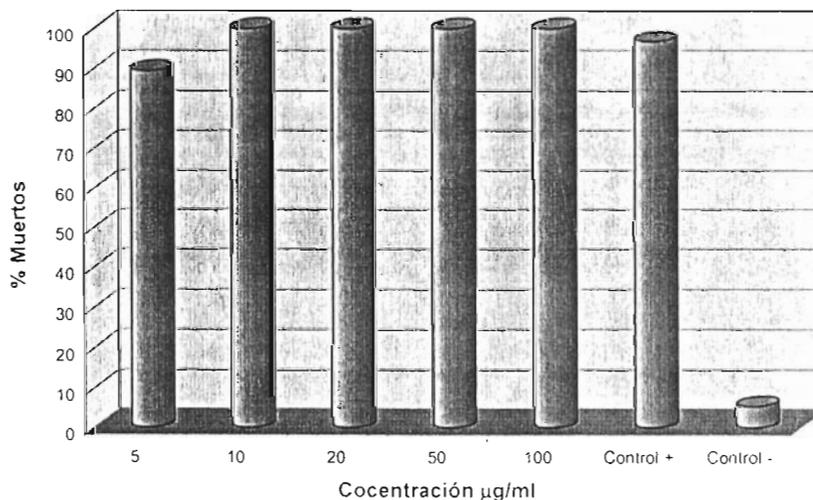
Tabla 3

Concentración $\mu\text{g/ml}$	ENSAYO									
	1o M	2o M	3o M	4o M	5o M	6o M	7o M	8o M	9o M	10o M
5	98	90	90	88	97	87	81	85	90	88
10	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
20	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
50	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Control +	98	98	98	87	99	98	97	97	98	98
Control -	1	8	8	5	5	5	6	5	3	8

La tabla 3 presenta los resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 2B. El promedio de parásitos muertos (M) de cada ensayo realizado por triplicado, las concentraciones a las cuales se utilizó el principio de prueba, un control positivo (Albendazol 20  $\mu\text{g/ml}$ ) y un control negativo (0  $\mu\text{g/ml}$ ). En esta tabla podemos observar que el 100% de la inhibición del parásito se presenta a concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$ .

Gráfico 3

IRE 2B



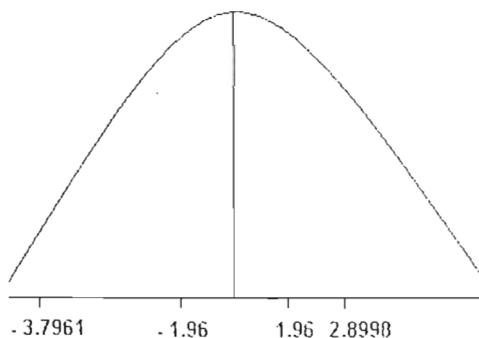
El gráfico 3 muestra el promedio en porcentaje de parásitos muertos a diferentes concentraciones de 10 ensayos del principio identificado como IRE 2B, control positivo y control negativo. A concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  se presenta el 100% de inhibición.

Tabla 3a

	5 $\mu\text{g/ml}$	10 $\mu\text{g/ml}$	Control +
Media	89.4	100.0	96.8
Varianza	25.8222	0	12.1778
Ensayos	10	10	10
Diferencia hipotética de las medias	0	0	
z de prueba	-3.7961	2.8998	
Valor crítico de z (dos colas)	1.9600	1.9600	

La tabla 3a presenta el análisis estadístico de la tabla 3 en donde tenemos el valor de z de prueba y z crítica o de tablas con una confianza del 95%. Análisis entre IRE 2B 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Análisis entre IRE 2B 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Este análisis se hizo únicamente para las concentraciones de 5  $\mu\text{g/ml}$  y 10  $\mu\text{g/ml}$  contra el Control + ya que se observa que a la concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  se obtuvo el 100% de inhibición.

Gráfico 3a



El gráfico 3a representa los valores de la tabla 3a, donde tenemos el valor de z crítica (de -1.96 a 1.96) El valor de z para IRE 2B 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control + (-3.7961); y el valor de z para IRE 2B 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control + (2.8998). Por lo tanto se acepta  $H_1$ . Con un 95% de confiabilidad se puede decir que las medias de los tratamientos son diferentes.

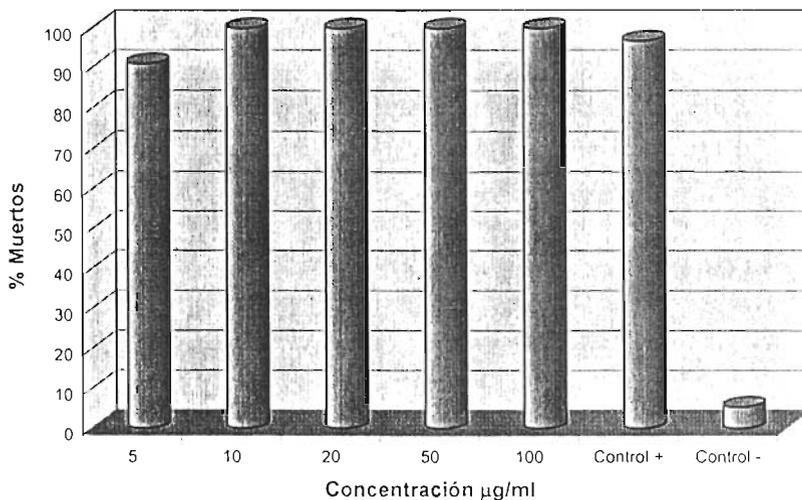
Tabla 4

Concentración $\mu\text{g/ml}$	ENSAYO									
	1o	2o	3o	4o	5o	6o	7o	8o	9o	10o
IRE 5A	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
5	99	91	91	92	96	86	83	85	92	96
10	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
20	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
50	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Control +	98	98	98	87	99	98	97	97	98	98
Control -	1	8	8	5	5	5	6	5	3	8

La tabla 4 presenta los resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 5A. El promedio de parásitos muertos (M) de cada ensayo realizado por triplicado, las concentraciones a las cuales se utilizó el principio de prueba, un control positivo (Albendazol 20  $\mu\text{g/ml}$ ) y un control negativo (0  $\mu\text{g/ml}$ ). En esta tabla podemos observar que el 100% de la inhibición del parásito se presenta a concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$ .

Gráfico 4

IRE 5A



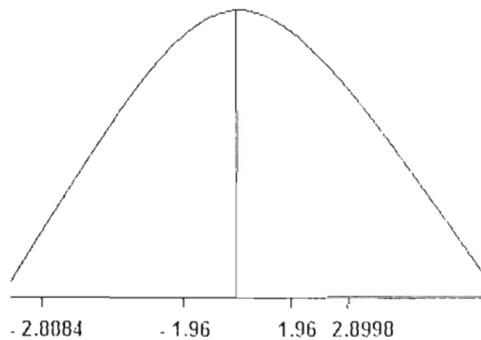
El gráfico 4 muestra el promedio en porcentaje de parásitos muertos a diferentes concentraciones de 10 ensayos del principio identificado como IRE 5A, control positivo y control negativo. A concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  se presenta el 100% de inhibición.

Tabla 4a

	5 $\mu\text{g/ml}$	10 $\mu\text{g/ml}$	Control +
Media	91.1	100.0	96.8
Varianza	26.7667	0	12.1778
Ensayos	10	10	10
Diferencia hipotética de las medias	0	0	
z de prueba	-2.8884	2.8998	
Valor crítico de z (dos colas)	1.9600	1.9600	

La tabla 4a presenta el análisis estadístico de la tabla 4 en donde tenemos el valor de z de prueba y z crítica o de tablas con una confianza del 95%. Análisis entre IRE 5A 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Análisis entre IRE 5A 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Este análisis se hizo únicamente para las concentraciones de 5  $\mu\text{g/ml}$  y 10  $\mu\text{g/ml}$  contra el Control + ya que se observa que a la concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  se obtuvo el 100% de inhibición.

Gráfico 4a



El gráfico 4a representa los valores de la tabla 4a, donde tenemos el valor de z crítica (de  $-1.96$  a  $1.96$ ) El valor de z para IRE 5A 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control + ( $-2.8884$ ); y el valor de z para IRE 5A 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control + ( $2.8998$ ). Por lo tanto se acepta  $H_1$ . Con un 95% de confiabilidad se puede decir que las medias de los tratamientos son diferentes.

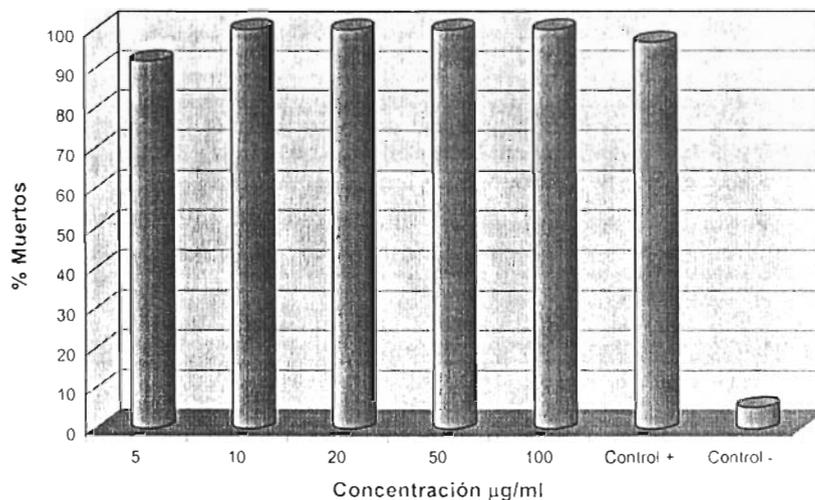
Tabla 5

Concentración µg/ml	ENSAYO									
	1o	2o	3o	4o	5o	6o	7o	8o	9o	10o
IRE 6A	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
5	100	89	89	96	94	90	90	88	94	90
10	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
20	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
50	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Control +	98	98	98	87	99	98	97	97	98	98
Control -	1	8	8	5	5	5	6	5	3	8

La tabla 5 presenta los resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 6A. El promedio de parásitos muertos (M) de cada ensayo realizado por triplicado, las concentraciones a las cuales se utilizó el principio de prueba, un control positivo (Aibendazol 20 µg/ml) y un control negativo (0 µg/ml). En esta tabla podemos observar que el 100% de la inhibición del parásito se presenta a concentración de 10 µg/ml.

Gráfico 5

IRE 6A



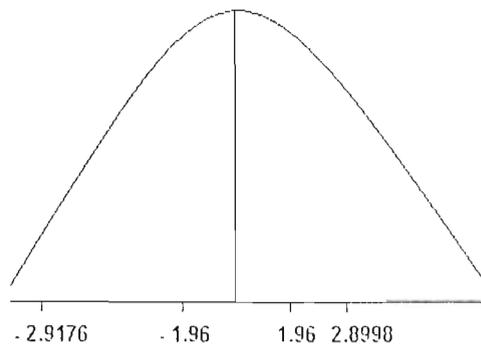
El gráfico 5 muestra el promedio en porcentaje de parásitos muertos a diferentes concentraciones de 10 ensayos del principio identificado como IRE 6A, control positivo y control negativo. A concentración de 10 µg/ml se presenta el 100% de inhibición.

Tabla 5a

	5 $\mu\text{g/ml}$	10 $\mu\text{g/ml}$	Control +
Media	92.0	100.0	96.8
Varianza	14.8889	0	12.1778
Ensayos	10	10	10
Diferencia hipotética de las medias	0	0	
z de prueba	-2.9176	2.8998	
Valor crítico de z (dos colas)	1.9600	1.9600	

La tabla 5a presenta el análisis estadístico de la tabla 5 en donde tenemos el valor de z de prueba y z crítica o de tablas con una confianza del 95%. Análisis entre IRE 6A 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Análisis entre IRE 6A 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Este análisis se hizo únicamente para las concentraciones de 5  $\mu\text{g/ml}$  y 10  $\mu\text{g/ml}$  contra el Control + ya que se observa que a la concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  se obtuvo el 100% de inhibición.

Gráfico 5a



El gráfico 5a representa los valores de la tabla 5a, donde tenemos el valor de z crítica (de  $-1.96$  a  $1.96$ ) El valor de z para IRE 6A 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control + ( $-2.9176$ ); y el valor de z para IRE 1A 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control + ( $2.8998$ ). Por lo tanto se acepta  $H_1$ . Con un 95% de confiabilidad se puede decir que las medias de los tratamientos son diferentes.

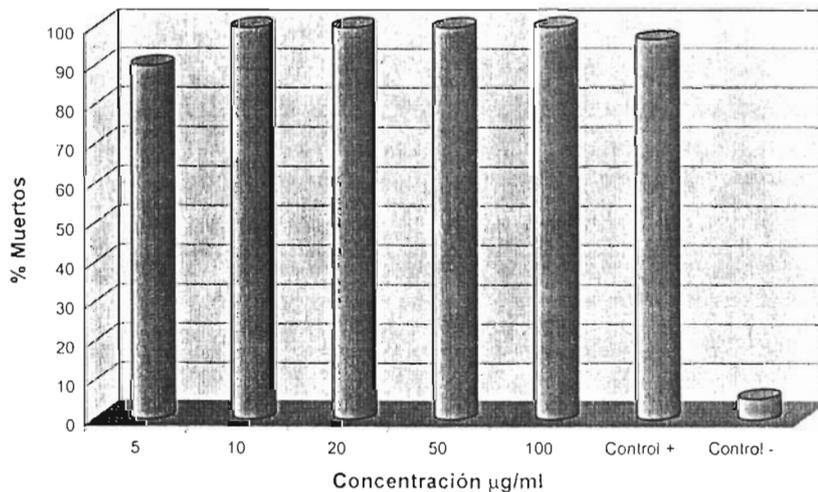
Tabla 6

Concentración µg/ml	ENSAYO									
	1o	2o	3o	4o	5o	6o	7o	8o	9o	10o
IRE 6B	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
5	95	84	89	97	97	90	87	85	90	87
10	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
20	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
50	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Control +	98	98	98	87	99	98	97	97	98	98
Control -	1	8	8	5	5	5	6	5	3	8

La tabla 6 presenta los resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 6B. El promedio de parásitos muertos (M) de cada ensayo realizado por triplicado, las concentraciones a las cuales se utilizó el principio de prueba, un control positivo (Albendazol 20 µg/ml) y un control negativo (0 µg/ml). En esta tabla podemos observar que el 100% de la inhibición del parásito se presenta a concentración de 10 µg/ml.

Gráfico 6

IRE 6B



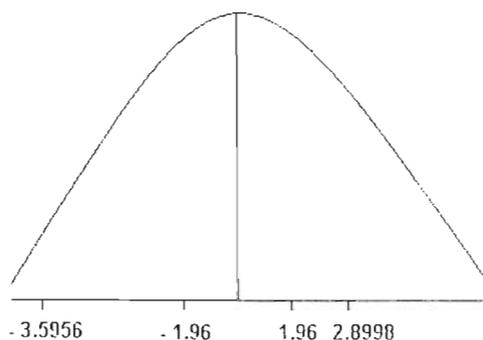
El gráfico 6 muestra el promedio en porcentaje de parásitos muertos a diferentes concentraciones de 10 ensayos del principio identificado como IRE 6B, control positivo y control negativo. A concentración de 10 µg/ml se presenta el 100% de inhibición.

Tabla 6a

	5 $\mu\text{g/ml}$	10 $\mu\text{g/ml}$	Control +
Media	90.1	100.0	96.8
Varianza	22.5444	0	12.1778
Ensayos	10	10	10
Diferencia hipotética de las medias	0	0	
z de prueba	-3.5956	2.8998	
Valor crítico de z (dos colas)	1.9600	1.9600	

La tabla 6a presenta el análisis estadístico de la tabla 6 en donde tenemos el valor de z de prueba y z crítica o de tablas con una confianza del 95%. Análisis entre IRE 6B 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Análisis entre IRE 6B 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Este análisis se hizo únicamente para las concentraciones de 5  $\mu\text{g/ml}$  y 10  $\mu\text{g/ml}$  contra el Control + ya que se observa que a la concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  se obtuvo el 100% de inhibición.

Gráfico 6a



El gráfico 6a representa los valores de la tabla 6a, donde tenemos el valor de z crítica (de -1.96 a 1.96) El valor de z para IRE 6B 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control + (-3.5956); y el valor de z para IRE 6B 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control + (2.8998). Por lo tanto se acepta  $H_1$ . Con un 95% de confiabilidad se puede decir que las medias de los tratamientos son diferentes.

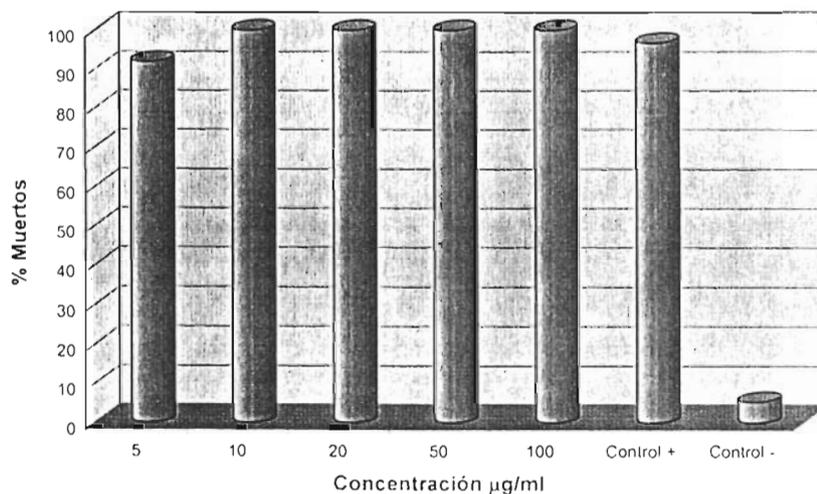
Tabla 7

Concentración $\mu\text{g/ml}$	ENSAYO									
	1o M	2o M	3o M	4o M	5o M	6o M	7o M	8o M	9o M	10o M
5	100	85	89	95	92	94	92	90	92	90
10	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
20	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
50	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Control +	98	98	98	87	99	98	97	97	98	98
Control -	1	8	8	5	5	5	6	5	3	8

La tabla 7 presenta los resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 7B. El promedio de parásitos muertos (M) de cada ensayo realizado por triplicado, las concentraciones a las cuales se utilizó el principio de prueba, un control positivo (Albendazol 20  $\mu\text{g/ml}$ ) y un control negativo (0  $\mu\text{g/ml}$ ). En esta tabla podemos observar que el 100% de la inhibición del parásito se presenta a concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$ .

Gráfico 7

IRE 7B



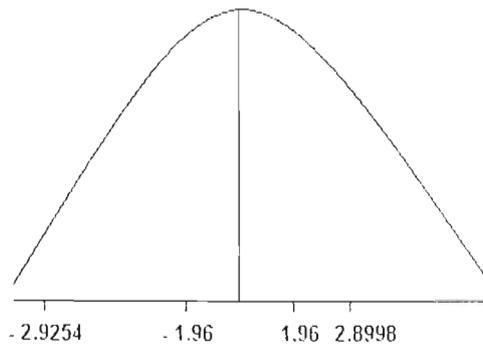
El gráfico 7 muestra el promedio en porcentaje de parásitos muertos a diferentes concentraciones de 10 ensayos del principio identificado como IRE 7B, control positivo y control negativo. A concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  se presenta el 100% de inhibición.

Tabla 7a

	5 $\mu\text{g/ml}$	10 $\mu\text{g/ml}$	Control +
Media	91.9	100.0	96.8
Varianza	15.8778	0	12.1778
Ensayos	10	10	10
Diferencia hipotética de las medias	0	0	
z de prueba	-2.9254	2.8998	
Valor crítico de z (dos colas)	1.9600	1.9600	

La tabla 7a presenta el análisis estadístico de la tabla 7 en donde tenemos el valor de z de prueba y z crítica o de tablas con una confianza del 95%. Análisis entre IRE 7B 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Análisis entre IRE 7B 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Este análisis se hizo únicamente para las concentraciones de 5  $\mu\text{g/ml}$  y 10  $\mu\text{g/ml}$  contra el Control + ya que se observa que a la concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  se obtuvo el 100% de inhibición.

Gráfico 7a



El gráfico 7a representa los valores de la tabla 7a, donde tenemos el valor de z crítica (de -1.96 a 1.96) El valor de z para IRE 7B 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control + (-2.9254); y el valor de z para IRE 7B 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control + (2.8998). Por lo tanto se acepta  $H_1$ . Con un 95% de confiabilidad se puede decir que las medias de los tratamientos son diferentes.

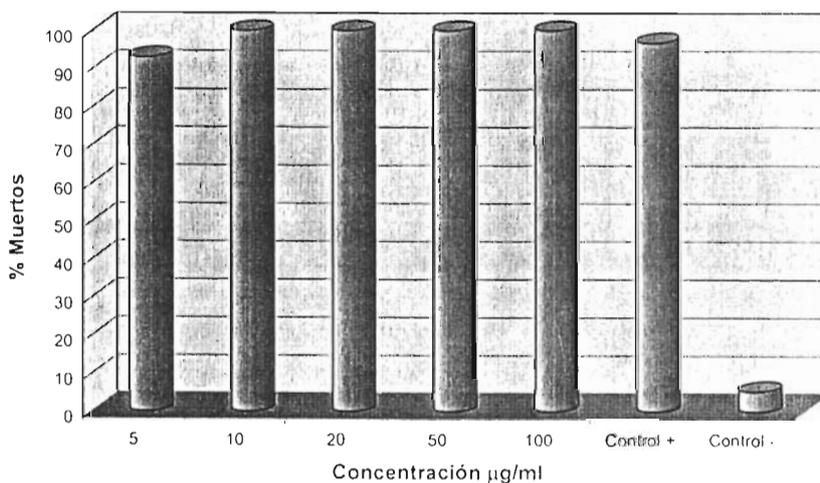
Tabla 8

Concentración $\mu\text{g/ml}$	ENSAYO									
	1o	2o	3o	4o	5o	6o	7o	8o	9o	10o
IRE 8A	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
5	99	91	91	95	96	90	89	90	90	99
10	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
20	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
50	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Control +	98	98	98	87	99	98	97	97	98	98
Control -	1	8	8	5	5	5	6	5	3	8

La tabla 8 presenta los resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 8A. El promedio de parásitos muertos (M) de cada ensayo realizado por triplicado, las concentraciones a las cuales se utilizó el principio de prueba, un control positivo (Albendazol 20  $\mu\text{g/ml}$ ) y un control negativo (0  $\mu\text{g/ml}$ ). En esta tabla podemos observar que el 100% de la inhibición del parásito se presenta a concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$ .

Gráfico 8

IRE 8A



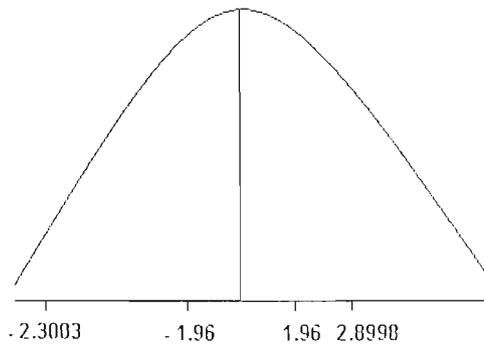
El gráfico 8 muestra el promedio en porcentaje de parásitos muertos a diferentes concentraciones de 10 ensayos del principio identificado como IRE 8A, control positivo y control negativo. A concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  se presenta el 100% de inhibición.

Tabla 8a

	5 $\mu\text{g/ml}$	10 $\mu\text{g/ml}$	Control +
Media	93.0	100.0	96.8
Varianza	15.1111	0	12.1778
Ensayos	10	10	10
Diferencia hipotética de las medias	0	0	
z de prueba	-2.3003	2.8998	
Valor crítico de z (dos colas)	1.9600	1.9600	

La tabla 8a presenta el análisis estadístico de la tabla 8 en donde tenemos el valor de z de prueba y z crítica o de tablas con una confianza del 95%. Análisis entre IRE 8A 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Análisis entre IRE 8A 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Este análisis se hizo únicamente para las concentraciones de 5  $\mu\text{g/ml}$  y 10  $\mu\text{g/ml}$  contra el Control + ya que se observa que a la concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  se obtuvo el 100% de inhibición.

Gráfico 8a



El gráfico 8a representa los valores de la tabla 8a, donde tenemos el valor de z crítica (de -1.96 a 1.96) El valor de z para IRE 8A 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control + (-2.3003); y el valor de z para IRE 8A 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control + (2.8998). Por lo tanto se acepta  $H_1$ . Con un 95% de confiabilidad se puede decir que las medias de los tratamientos son diferentes.

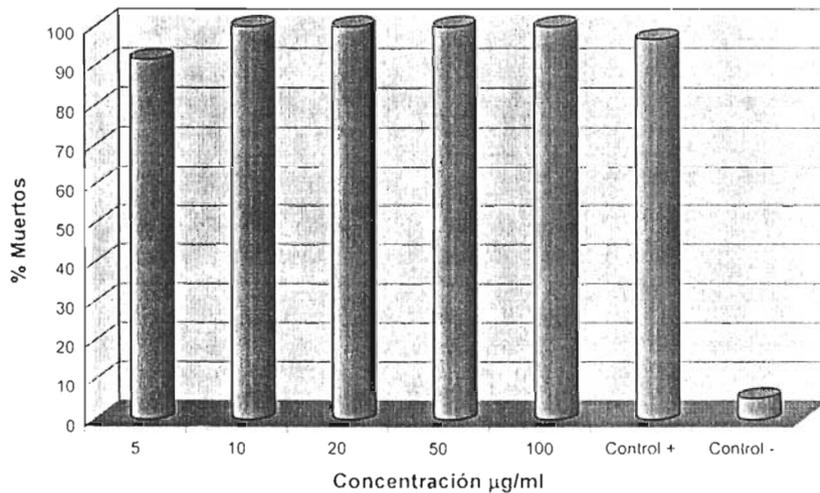
Tabla 9

Concentración µg/ml	ENSAYO									
	1o	2o	3o	4o	5o	6o	7o	8o	9o	10o
IRE 8B	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
5	97	88	88	98	97	89	85	90	97	88
10	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
20	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
50	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Control +	98	98	98	87	99	98	97	97	98	98
Control -	1	8	8	5	5	5	6	5	3	8

La tabla 9 presenta los resultados de 10 ensayos del principio identificado como IRE 8B. El promedio de parásitos muertos (M) de cada ensayo realizado por triplicado, las concentraciones a las cuales se utilizó el principio de prueba, un control positivo (Albendazol 20 µg/ml) y un control negativo (0 µg/ml). En esta tabla podemos observar que el 100% de la inhibición del parásito se presenta a concentración de 10 µg/ml.

Gráfico 9

IRE 8B



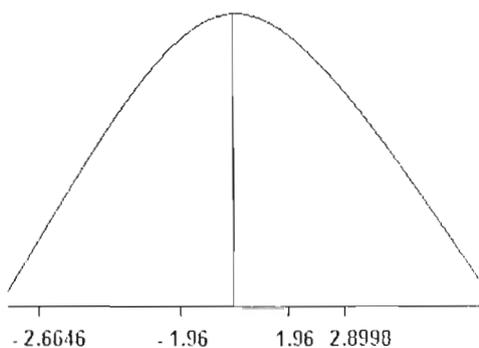
El gráfico 9 muestra el promedio en porcentaje de parásitos muertos a diferentes concentraciones de 10 ensayos del principio identificado como IRE 8B, control positivo y control negativo. A concentración de 10 µg/ml se presenta el 100% de inhibición.

Tabla 9a

	5 $\mu\text{g/ml}$	10 $\mu\text{g/ml}$	Control +
Media	91.7	100.0	96.8
Varianza	24.4556	0	12.1778
Ensayos	10	10	10
Diferencia hipotética de las medias	0	0	
z de prueba	-2.6646	2.8998	
Valor crítico de z (dos colas)	1.9600	1.9600	

La tabla 9a presenta el análisis estadístico de la tabla 9 en donde tenemos el valor de z de prueba y z crítica o de tablas con una confianza del 95%. Análisis entre IRE 8B 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Análisis entre IRE 8B 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control +. En donde z prueba  $\neq$  z crítica. Este análisis se hizo únicamente para las concentraciones de 5  $\mu\text{g/ml}$  y 10  $\mu\text{g/ml}$  contra el Control + ya que se observa que a la concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  se obtuvo el 100% de inhibición.

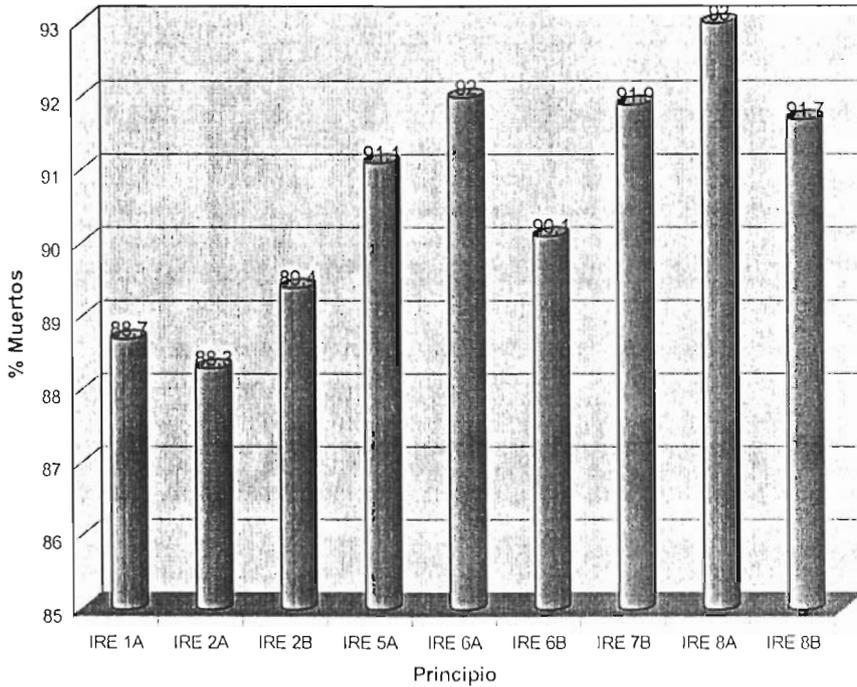
Gráfico 9a



El gráfico 9a representa los valores de la tabla 9a, donde tenemos el valor de z crítica (de  $-1.96$  a  $1.96$ ) El valor de z para IRE 8B 5  $\mu\text{g/ml}$  y Control + ( $-2.6646$ ); y el valor de z para IRE 8B 10  $\mu\text{g/ml}$  y Control + ( $2.8998$ ). Por lo tanto se acepta  $H_1$ . Con un 95% de confiabilidad se puede decir que las medias de los tratamientos son diferentes.

Gráfico 10

Actividad Antihelmíntica de los Nueve Principios a una Concentración de 5  $\mu\text{g/ml}$



El gráfico 10 muestra el promedio en porcentaje de parásitos muertos de 10 ensayos de los nueve principios de prueba a concentración de 5  $\mu\text{g/ml}$ .

Se observa que el principio identificado como IRE 8A con es el que presenta mayor inhibición 93.0%, mientras que el que presenta menor inhibición es IRE 2A 88.3%.

## VIII. DISCUSIÓN

El desarrollo de la técnica *in vitro* para demostrar la actividad antihelmíntica de los principios probados presentó los resultados esperados ya que los parásitos que utilizamos se encontraba en la fase de huevos y en el transcurso de los cuatro días murieron, por lo tanto el principio estaba actuando en forma satisfactoria ya que se esperaba un 100% de muertos.

Cabe mencionar también que la técnica utilizada fue tomada de un artículo de Ibarra y Jenkins 1984 en el cual se hicieron ensayos *in vitro* con antiparasitarios de uso comercial arrojando buenos resultados. Debido a los resultados registrados en el artículo fue nuestro interés por probar con los principios sintetizados en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Es importante aclarar que el análisis se hizo únicamente para las concentraciones de 5  $\mu\text{g/mL}$  y 10  $\mu\text{g/mL}$  contra el Control + ya que se observa que a la concentración de 10  $\mu\text{g/mL}$  se obtuvo el 100% de inhibición y no tendría caso hacerlo para las todas las concentraciones ya que obtendríamos el mismo resultado que para la concentración de 10  $\mu\text{g/mL}$ .

Se observó que los principios de prueba presentaron mejores resultados a concentración de 10  $\mu\text{g/mL}$  en comparación con el Albendazol el cual se uso a concentración de 20  $\mu\text{g/mL}$ , ya que los principios de prueba presentaron el 100% de inhibición a dicha concentración mientras que el Albendazol presentó un 96.8% de inhibición utilizando el doble de la concentración de los principios de prueba.

El análisis entre los nueve principios a concentración de 5  $\mu\text{g/mL}$  demostró que el principio con mayor actividad antiparasitaria en el identificado como IRE 8A con un 93% y el que presenta menor actividad es el IRE 2A con un 88.3 % de inhibición.

Debemos tener en cuenta que el antiparasitario es un recurso necesario pero no renovable, en la medida que la resistencia va avanzando progresivamente sobre los más modernos grupos químicos disponibles. Se requiere promover un cambio en la manera de pensar y de abordar la problemática del control de parásitos por parte de ganaderos, asesores técnicos, laboratorios, entidades de investigación y demás grupos involucrados. El cambio conceptual se refiere a dejar de creer que los pesticidas y productos químicos son una fuente inagotable y la única alternativa para el control de los parásitos del ganado. En este sentido se requiere una constante acción de extensión sobre los ganaderos. Los profesionales de la actividad privada, aparecen como los "agentes multiplicadores" por excelencia, en función de su permanente contacto con el medio rural. Claro está, que se impone la permanente actualización técnica de los mismos (Educación Continua) si lo que se pretende es obtener el máximo beneficio en el proceso de transferencia de conocimientos.

La tecnología no-química disponible actualmente, no es capaz de sustituir completamente a las drogas, por lo que extender su "vida útil" es una necesidad

impostergable para el productor, los gobiernos y la industria farmacéutica. La experiencia de más de cinco décadas, ha demostrado que no existe antiparasitario "resistente" a la resistencia. De esto se desprende, que se requiere de forma urgente de una investigación conjunta y multidisciplinaria que tomando aspectos moleculares fármaco-parasitológicos, nos permita optimizar el uso de las drogas disponibles, y conocer mucho más sobre el fenómeno de la resistencia parasitaria y su diagnóstico precoz.

Los gobiernos y la industria farmacéutica, no disponen de la misma capacidad operativa del pasado y en consecuencia en el cercano futuro, cabe esperar un aumento del número de establecimientos que no dispongan de opciones de control.

El tiempo del control "fácil y práctico" ha expirado. Cada vez es más importante integrar distintas y en ocasiones más complicadas estrategias de control para lograr los mismos resultados.

Es necesario realizar los máximos esfuerzos para desarrollar, validar y utilizar sistemas de Control Integrado de Parásitos a efectos de contrarrestar los efectos producidos por la resistencia parasitaria.

Los costos se han constituido en un problema debido a la ineficacia originada por el mal uso que generalmente se hace de los productos, lo que "obliga" a los productores a hacer aplicaciones más frecuentes, y por el otro lado, porque la investigación y los costos inherentes al desarrollo de nuevas moléculas hacen que los productos nuevos sean más costosos.

En esta década, vencidas las patentes de exclusividad para muchos productos, existen dudas y expectativas acerca de si los productos genéricos podrían ser una alternativa para tornar más barato el control. Se debe recordar que la actividad de un producto depende en gran medida, tanto de la calidad del principio activo como de su formulación; esto último en ocasiones es un secreto comercial de diversas compañías, lo que podría considerarse en una desventaja para los genéricos. Sin embargo, sería una situación que cada ganadero debe evaluar acorde a su disponibilidad de recursos y experiencia en el uso de un producto particular disponible en el mercado.

La eficacia en el uso de un producto dependerá del objetivo para el cual se aplica. Nuestra inquietud reside en que posiblemente el productor no tiene claro ese objetivo. Por un lado podría estar la motivación cosmética de mantener totalmente "limpios" a sus animales, lo cual se ha demostrado está lejos del óptimo económico; entonces un objetivo loable sería mantener los parásitos a niveles inferiores a un umbral de daño. Desafortunadamente, la diversidad de cruces y sistemas de producción que imperan en nuestras regiones, hace que sea muy difícil establecer un rango numérico que sea adaptable y válido para todas las condiciones que se presentan en el campo.

La preservación de la flora y fauna nativa, en particular de los enemigos naturales y el mínimo impacto sobre el ambiente, deben ser una de las preocupaciones centrales en el diseño de un plan de manejo integrado de las enfermedades parasitarias del ganado.

La propuesta después de haber culminado esta investigación es hacer ensayos in vivo con animales que presenten la infestación natural y determinar como actúan estos productos.

## IX.- CONCLUSIONES

Los nueve principios de síntesis reciente derivados del 4-Hidroxifenil carbamato de etilo identificados como IRE 1A, IRE 2A, IRE 2B, IRE 5A, IRE 6A, IRE 6B, IRE 7B, IRE 8A, IRE 8B utilizados en la técnica *in vitro* con Haemonchus contortus presentaron actividad antihelmíntica al 100% a una concentración de 10 , 20, 50 y 100 µg/ml.

A concentración de 5 µg/ml la actividad antihelmíntica fue:

IRE 1A 88.7%

IRE 2A 88.3%

IRE 2B 89.4%

IRE 5A 91.1%

IRE 6A 92.0%

IRE 6B 90.1%

IRE 7B 91.9%

IRE 8A 93.0%

IRE 8B 91.7%.

A esta concentración la mejor respuesta fue con el principio identificado como IRE 8A con un 93.0% y la menor respuesta fue presentada por el principio identificado como IRE 2A con un 88.3%, mientras que el control positivo presento una actividad del 98% pero a concentración de 20 µg/ml , cuatro veces mayor a la concentración utilizada por los principios de prueba.

## X.- BIBLIOGRAFÍA

1. <http://www.jornada.unam.mx/1999/nov99/991122/cien-galeria.html>
2. <http://rafaela.inta.gov.ar/revistas/inf0101.htm>
3. [http://www.corpoica.org.co/sitiocorpoica/comunidades/redectopar/REDECTOPAR\\_archivos/buiatria/INTRODUCCION.htm](http://www.corpoica.org.co/sitiocorpoica/comunidades/redectopar/REDECTOPAR_archivos/buiatria/INTRODUCCION.htm)
4. <http://ranm.insde.es/sesiones/conf2001040301.htm>
5. BOTERO, D; Restrepo, M. Parasitosis Humanas. 1ª edición. Ediciones Corporación para Investigaciones Biológicas. Colombia 1992. Págs. 1-21
6. CHANDLER, Asa. Introducción a la parasitología. 2ª edición. Editorial Omega. Barcelona 1976.
7. ALMADA, B. I. "Salud y Crisis en México". Centro de Investigaciones interdisciplinarias en Humanidades, U.N.A.M. Siglo XXI Editores. 1ª edición 1990.
8. GENNARO, C. A; Chase, D. G ET/AL Remingtons Pharmaceutical Ciences 17 th.
9. MARTINEZ, B. M. Manual de parasitología Médica. 2ª edición. Ediciones Científicas La Prensa Médica Mexicana. México 1982.
10. ATIAS, A; Neghme, A. Parasitología Clínica. 2ª edición. Editorial Mediterráneo 1984.
11. MARTINEZ, L; P. Manual de Laboratorio de Parasitología. U.N.A.M. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. 1999.
12. SOULSBY E.J.L. "Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos". 1ª edición en español. Editorial Limusa 1986.
13. GOODMAN, Louis. S. Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 5ª Edición. Editorial Interamericana.
14. CRAIG Y FAUST. Parasitología Clínica. 8ª Edición. Editorial Salvat. España 1984.
15. CRAIG, Charles. R. Farmacología Médica. Editorial Interamericana. México 1984.
16. BAEVER, P. C; R. C. ET/AL. Parasitología Clínica. 2ª Edición. Salvat editores, México 1990. pp. 527,552-554
17. <http://translate.google.com/translate?hl=es&sl=en&u=http://merops.sanger.ac.uk/speccards/peptidase/sp000462.htm>
18. <http://www.nematodes.org/nematodesEsts/Haemonchus/Haemonchus.html>
19. <http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.ulb.ac.be/sciences/biodic/images/nematodes/haemonchus01.jpg&imgrefurl=http://www.ulb.ac.be/sciences/biodic/EImNematodes.html&h=406&w=656&sz=94&tbnid=vfhSTO9W1H4J:&tbnh=84&tbnw=135&start=5&prev=/images%3Fq%3DHaemonchus%2Bcontortus%26hl%3Des%26lr%3D%26ie%3DUTF-8%26sa%3DN>
20. <http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.viarural.com.ar/viarural.com.ar/biomarketprincipal/calendarioosanitarios/bovinos/parasitosbovinos/haemonchusenabomaso.jpg&imgrefurl=http://www.viarural.com.ar/viarural.com.ar/biomarketprincipal/calendarioosanitarios/bovinos/parasitosbovinos/nematodeshaemonchus.htm&h=140&w=154&sz=8&tbnid=A->

- DSdcS77awJ:&tbnh=82&tbnw=90&start=20&prev=/images%3Fq%3Dhaemonchus%2Bcontortus%26hl%3Des%26lr%3D%26ie%3DUTF-8%26sa%3DN
21. [http://www.geocities.com/raydelpino\\_2000/ciclodescrpciondeparasitosdecabras.html](http://www.geocities.com/raydelpino_2000/ciclodescrpciondeparasitosdecabras.html)
  22. <http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.wiz.uni-kassel.de/ntier/tasso12.gif&imgrefurl=http://www.wiz.uni-kassel.de/ntier/tasso1.html&h=190&w=511&sz=11&tbnid=lyYsmkzfUuQJ:&tbnh=47&tbnw=126&start=34&prev=/images%3Fq%3Dhaemonchus%2Bcontortus%26start%3D20%26hl%3Des%26lr%3D%26ie%3DUTF-8%26sa%3DN>
  23. <http://www.exopol.com/general/circulares/177.html>
  24. [http://www.produccionbovina.com/informacion\\_tecnica/parasitosis/06-parasitosis\\_region\\_centro\\_oeste.htm](http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/parasitosis/06-parasitosis_region_centro_oeste.htm)
  25. <http://www.visionveterinaria.com/rojas/nematodiasis.htm>
  26. [http://www.agronegocios.com.py/rural/ganaderia/ovinos\\_nota2.html](http://www.agronegocios.com.py/rural/ganaderia/ovinos_nota2.html)
  27. [http://www.geocities.com/raydelpino\\_2000/lombrices.html](http://www.geocities.com/raydelpino_2000/lombrices.html)
  28. [http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.colvet.es/infvet/dic99/ciencias\\_v/imagenes/art1/FIG%252016.jpg&imgrefurl=http://www.colvet.es/infvet/dic99/ciencias\\_v/articulo1.htm&h=200&w=300&sz=85&tbnid=T14cqKJ3-TEJ:&tbnh=74&tbnw=111&start=22&prev=/images%3Fq%3Dhaemonchus%2Bcontortus%26start%3D20%26hl%3Des%26lr%3D%26ie%3DUTF-8%26sa%3DN](http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.colvet.es/infvet/dic99/ciencias_v/imagenes/art1/FIG%252016.jpg&imgrefurl=http://www.colvet.es/infvet/dic99/ciencias_v/articulo1.htm&h=200&w=300&sz=85&tbnid=T14cqKJ3-TEJ:&tbnh=74&tbnw=111&start=22&prev=/images%3Fq%3Dhaemonchus%2Bcontortus%26start%3D20%26hl%3Des%26lr%3D%26ie%3DUTF-8%26sa%3DN)
  29. <http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.viarural.com.ar/viarural.com.ar/biomarketprincipal/calendariosanitarios/bovinos/parasitosbovinos/haemonchusenabomaso.jpg&imgrefurl=http://www.viarural.com.ar/viarural.com.ar/biomarketprincipal/calendariosanitarios/bovinos/parasitosbovinos/nematodeshaemonchus.htm&h=140&w=154&sz=8&tbnid=A-DSdcS77awJ:&tbnh=82&tbnw=90&start=20&prev=/images%3Fq%3Dhaemonchus%2Bcontortus%26hl%3Des%26lr%3D%26ie%3DUTF-8%26sa%3DN>
  30. <http://ucdnema.ucdavis.edu/imagemap/nemmap/ENT156HTML/upenn/hplacF.gif>
  31. <http://www.canal-h.net/webs/sgonzalez002/Farmaco/ANTIHELMINTICOS.htm>
  32. GROLL; Erhard. "Advances in Pharmacology and Chemoterapy" Vol. 2
  33. <http://images.google.com.mx/images?q=benzimidazol&hl=es&lr=&ie=UTF-8&start=20&sa=N>
  34. <http://www.veterinaria.org/ajfa/art12.htm>
  35. <http://www.americas.oie.int/InfoGeneral/SemVIII/VIIIFARMACOSAPROBADOSdef/FENBENDAZOLE2002.pdf>
  36. <http://www.geocities.com/CollegePark/Residence/8781/antihelm.htm>
  37. <http://cnia.inta.gov.ar/helmineto/PDF%20RESISTENCIA/Mottier2.pdf>
  38. <http://www.corpoica.org.co/sitioicorpoica/corpoica/publicaciones/revistacorpo/55-71.pdf>
  39. [http://www.colvet.es/infvet/oct01/ciencias\\_v/articulo1.htm](http://www.colvet.es/infvet/oct01/ciencias_v/articulo1.htm)
  40. HAYES, W.J. Jr. 1975. Toxicology of pesticides. The Williams and Wilkins Company, USA.
  41. WILKINSON, C.F. 1976. Insecticide biochemistry and physiology. Plenum Press, USA-UK

42. <http://www.exopol.com/default.html>
43. J.L. COLLAR(1998): "El uso de los fungicidas en España". Vida rural, n1 70 (15, julio 1998).
44. KREMLIN(1995) : Plaguicidas modernos y su acción bioquímica. Ed.Uteha Noriega Editores. México.
45. GÓMEZ-ARNAU (1999). Contribución de la Química a la protección de cultivos. En La industria química en el siglo XXI. Desarrollo sostenible y compromiso de progreso. Ed. Federación Empresarial de la Industria Química Española. 1999.
46. PLANES, S.; CARRERO, J.M.: Plagas del campo. Ed. Mundi Prensa. Madrid, 1995.
47. PRIMO YÚFERA, E.; CARRASCO DORRIEN, J.M.: Química Agrícola II. Plaguicidas y fitoreguladores. Ed. Alhambra. Madrid, 1990.
48. ANGELES, E; Santillán, E; ET/AL "A simple method for the synthesis of Carbamatos". Synthetic communications, 24 (17), 2441-1447 (1994). (1985). Pp.11,113,126,135-139
49. IBARRA, O. F. And Jenkins, D. C. The relevance of in vitro anthelmintic screening test employing the free-living stages of trichostrongylid nematodes. Journal of Helminthology (1984) 58, 107-112.
50. [http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.vet-lyon.fr/etu/copro/sommaire/techniques/analyse/larve\\_copro\\_internet/l\\_haemonchus.jpg&imgrefurl=http://www.vet-lyon.fr/etu/copro/sommaire/techniques/analyse/description\\_larves\\_coprocul/ovins/l\\_haemon\\_ov.htm&h=386&w=179&sz=12&tbnid=ljOWxV8hMyEJ:&tbnh=118&tbnw=55&start=31&prev=/images%3Fq%3DHaemonchus%2Bcontortus%26start%3D20%26hl%3DDes%26lr%3D%26ie%3DUTF-8%26sa%3DN](http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.vet-lyon.fr/etu/copro/sommaire/techniques/analyse/larve_copro_internet/l_haemonchus.jpg&imgrefurl=http://www.vet-lyon.fr/etu/copro/sommaire/techniques/analyse/description_larves_coprocul/ovins/l_haemon_ov.htm&h=386&w=179&sz=12&tbnid=ljOWxV8hMyEJ:&tbnh=118&tbnw=55&start=31&prev=/images%3Fq%3DHaemonchus%2Bcontortus%26start%3D20%26hl%3DDes%26lr%3D%26ie%3DUTF-8%26sa%3DN)
51. CANAVOS G.C. Probabilidad y Estadística. Aplicaciones y Métodos. Editorial Mc Graw Hill 1988.
52. WALPOLE, MYERS Probabilidad y Estadística. 4ª edición. Editorial Mc Graw Hill 1992.
53. HINES, WILLIAM W. MONTGOMERY DOUGLAS. Probabilidad y Estadística. 3ª Edición. Editorial CECSA 1993.
54. MONTGOMERY, DOUGLAS – RUNGER GEORGE C. Probabilidad y Estadística. Editorial Mc Graw Hill 1996.