



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN

**Efecto de la ivermectina sobre larvas de *Ancylostoma  
caninum* en hospederos paraténicos a intervalos  
mensuales**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

**García Rangel Eduardo Javier**

**ASESOR: M. en C. Juan Pablo Martínez Labat**

**CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO**

**2017**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

EXÁMENES PROFESIONALES

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Efecto de la ivermectina sobre larvas de Ancylostoma caninum en hospederos paraténicos a intervalos mensuales

Que presenta el pasante: EDUARDO JAVIER GARCÍA RANGEL

Con número de cuenta: 30120046-0 para obtener el Título de la carrera: Medicina Veterinaria y Zootecnia

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

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 24 de julio de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Juan Pablo Martínez Labat	
VOCAL	M.V.Z. Gloria Josefina Ortiz Gasca	
SECRETARIO	M.V.Z. Concepción Oswelia Serna Huesca	
1er. SUPLENTE	M.V.Z. David Ramírez Martínez	
2do. SUPLENTE	M.V.Z. Emilio López Rodríguez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/ntm\*

## **AGRADECIMIENTOS**

Principalmente a mis padres que son la base de todo lo realizado en mi vida. A ellos por su amor incondicional y por saberme guiar en mis decisiones, por su paciencia y esfuerzo para sacar adelante a mí y mis hermanos, por todo lo que hicieron y siguen haciendo para hacer de mí una persona sobresaliente ante la sociedad. Los amo.

Para mis hermanos Francisco y José Luis, los cuales fueron mis ejemplos de virtudes y errores y porque junto con ellos crecí sabiendo que la vida no es sencilla y que hay que esforzarse para lograr nuestras metas. Los amo.

Para mi Esposa Nayeli que ha dedicado 11 años de su vida para estar conmigo y que a cada día seguimos superándonos como pareja, gracias por tu paciencia y apoyo, por estar siempre en mis éxitos y fracasos, por darme el privilegio de formar una familia a tu lado. Gracias por todo eso, Te amo.

Gracias a mi hijo Mauricio que sin saberlo es una pieza fundamental en todo este esfuerzo realizado, y gracias a mi bebe en espera que también es un impulso para concretar mis metas para salir adelante.

A mis Maestros, principalmente al Dr. Pablo Martínez que me supo asesorar y me tuvo toda la paciencia necesaria para realizar el proyecto, que hoy en día es mi pase para titularme, y a todos los maestros conocidos durante la carrera, sin duda la mejor facultad, gracias a ustedes.

A mis compañeros de facultad, que se convirtieron en mis mejores amigos, Sergio, Alexis, Magaly, Angélica, Sonia, Carolina y Jesús, después de una larga travesía a lo largo de los pasillos de la FES y otros lugares visitados, y a pesar de los años transcurridos, seguimos riendo y compartiendo momentos importantes. Los quiero mucho.

Gracias a la UNAM, mi casa de estudios desde el CCH, estoy orgulloso de permanecer a esta Universidad, la cual me dio las herramientas necesarias para enfrentarme a la sociedad como buen universitario.

**POR TODO ESO Y MUCHO MÁS... GRACIAS!!!**

# ÍNDICE GENERAL

Pág.

ÍNDICE GENERAL.....	4
ÍNDICE DE FIGURAS.....	5
ÍNDICE DE GRAFICAS.....	6
ÍNDICE DE TABLAS.....	6
1. RESUMEN.....	8
2. INTRODUCCIÓN.....	9
2.1 GENERALIDADES.....	9
2.2 <i>Ancylostoma caninum</i> .....	10
2.2.1 ETIOLOGÍA.....	10
2.2.2 EPIDEMIOLOGÍA.....	11
2.2.3 MORFOLOGÍA.....	12
2.2.4 CICLO BIOLÓGICO.....	14
a) Vía oral.....	14
b) Transmisión transcutánea.....	15
c) Transmisión lactogénica.....	15
d) Transmisión transplacentaria.....	15
2.2.5 DISTRIBUCIÓN.....	16
2.2.6 PATOGENIA.....	17
2.2.7 TIPOS DE ANCILOSTOMIASIS y CUADRO CLÍNICO.....	19
a) Ancilostomiasis hiperaguda.....	19
b) Ancilostomiasis aguda.....	19
c) Ancilostomiasis crónica.....	19
d) Larvas hipobióticas y eliminación retardada de huevos.....	20
2.2.8 DIAGNÓSTICO.....	20
2.2.9 TRATAMIENTO.....	21
2.2.9.1 FENOTIAZÍNAS.....	21
a) Piperazina.....	21
2.2.9.2 TETRAHIDROPIRINDINAS.....	21
a) Morantel.....	22
b) Pirantel.....	22
2.2.9.3 BENCIMIDAZOLES.....	22
a) Mebendazol.....	22
b) Albendazol.....	23
c) Febendazol.....	23
2.2.9.4 LACTONAS MACROCÍCLICAS.....	23
2.2.10 IVERMECTINA.....	24

2.2.10.1	FARMACODINAMIA.....	25
2.2.10.2	FARMACOCINETICA.....	25
2.2.10.3	DISTRIBUCIÓN.....	26
2.2.10.4	EXCRECIÓN.....	26
2.2.10.5	INDICACIONES Y DOSIS.....	27
2.2.10.6	REACCIONES ADVERSAS.....	27
2.2.10.7	CONTRAINDICACIONES.....	29
2.2.11	PREVENCIÓN Y CONTROL.....	29
3.	OBJETIVOS.....	30
3.1	OBJETIVO GENERAL.....	30
3.2	OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	30
3.3	HIPOTESIS.....	30
4.	MATERIALES Y METODOLOGÍA.....	31
4.1	MATERIAL BIOLÓGICO.....	31
4.2	MATERIAL DE LABORATORIO.....	31
4.3	METODOLOGÍA.....	32
4.3.1	LOCALIZACIÓN.....	32
4.3.2	CULTIVO LARVARIO DE <i>Ancylostoma caninum</i> .....	32
4.3.3	DETERMINACIÓN DE VIABILIDAD Y CONTEO LARVARIO.....	35
4.3.4	INOCULACIÓN Y GRUPOS EXPERIMENTALES.....	36
5.	RESULTADOS.....	40
6.	DISCUSIÓN.....	51
7.	CONCLUSIONES.....	53
8.	ANEXOS.....	54
9.	BIBLIOGRAFÍA.....	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Capsula bucal de <i>Ancylostoma caninum</i> .....	12
<b>Figura 2</b>	Fases adultas de Macho y hembra de <i>Ancylostoma</i> spp.....	13
<b>Figura 3</b>	Huevo de <i>Ancylostoma caninum</i> .....	14
<b>Figura 4</b>	Ciclo biológico de <i>Ancylostoma caninum</i> .....	16
<b>Figura 5</b>	Estructura química de la Ivermectina.....	24
<b>Figura 6</b>	Destino metabólico de la Ivermectina.....	26
<b>Figura 7</b>	Obtención, concentración y observación de huevos de <i>Ancylostoma caninum</i> .....	34
<b>Figura 8</b>	Concentración de huevos de <i>Ancylostoma caninum</i> .....	34

<b>Figura 9</b> Larva de <i>Ancylostoma caninum</i> obtenida por cultivo en el laboratorio (10X).....	35
<b>Figura 10</b> Tubos con órganos en jugo gástrico.....	39
<b>Figura 11</b> Larva de <i>Ancylostoma caninum</i> enquistada en musculo de ratón con dos tratamientos de ivermectina.....	41

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

<b>Gráfica 1</b> Promedio de larvas de <i>Ancylostoma</i> obtenidas en los tejidos de todos los grupos.....	48
<b>Gráfica 2</b> Porcentaje de la eficacia de la ivermectina en base al porcentaje de eliminación de larvas.....	49

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Clasificación taxonómica de <i>Ancylostoma caninum</i> .....	10
<b>Tabla 2</b> Frecuencia de la infección por parásitos intestinales en 1500 muestras obtenidas en centros de control canino de Iztapalapa en la Ciudad de México en 2006.....	17
<b>Tabla 3</b> Espectro de la ivermectina sobre algunos parásitos internos y externos.....	27
<b>Tabla 4</b> Promedio obtenido del conteo de larvas.....	36
<b>Tabla 5</b> Sumatoria de los pesos para obtener el promedio.....	37
<b>Tabla 6</b> Peso de carcasa de cada ratón con promedio para obtener total de larvas en musculo esquelético.....	42
<b>Tabla 7</b> Resultados obtenidos en el grupo de ratones no inoculados y no tratados.....	42

<b>Tabla 8</b> Resultados obtenidos del análisis de las digestiones de diversos tejidos de ratones inoculados con 500 larvas infectantes de <i>Ancylostoma caninum</i> y no sometidos a tratamiento.....	43
<b>Tabla 9</b> Resultados de ratones inoculados con 500 larvas infectantes de <i>Ancylostoma caninum</i> y sometidos a un tratamiento con 200µg/kg de ivermectina.....	43
<b>Tabla 10</b> Resultados de ratones inoculados con 500 larvas infectantes de <i>Ancylostoma caninum</i> y sometidos a dos tratamientos con 200µg/Kg de ivermectina.....	44
<b>Tabla 11</b> Resultados de ratones inoculados con 500 larvas infectantes de <i>Ancylostoma caninum</i> y sometidos a tres tratamientos con 200µg/Kg de ivermectina.....	44
<b>Tabla 12</b> Resultados de ratones inoculados con 500 larvas infectantes de <i>Ancylostoma caninum</i> y sometidos a cuatro tratamientos con 200µg/Kg de ivermectina.....	45
<b>Tabla13</b> Resultados de ratones inoculados con 500 larvas infectantes de <i>Ancylostoma caninum</i> y sometidos a cinco tratamientos con 200µg/Kg de ivermectina.....	46
<b>Tabla 14</b> Resultados de ratones inoculados con 500 larvas infectantes de <i>Ancylostoma caninum</i> y sometidos a seis tratamientos con 200 µg/Kg de ivermectina.....	46
<b>Tabla 15</b> Total de larvas recuperadas en todos los grupos por número de ratón.....	47
<b>Tabla 16</b> Promedio de la suma de larvas de <i>Ancylostoma</i> obtenidas de todos los tejidos de cada uno de los grupos.....	47
<b>Tabla 17</b> Tabla de ANOVA aplicada a los valores del número de larvas de <i>Ancylostoma caninum</i> encontradas en los grupos que recibieron tratamiento.....	49
<b>Tabla 18</b> Tabla de comparación entre medias.....	50

## 1. RESUMEN

El presente trabajo busca contribuir al estudio de la actividad de fármacos antiparasitarios en la remoción de fases enquistadas de *Ancylostoma caninum* y medir la eficacia de la ivermectina como desparasitante sobre las mismas, esto en diferentes intervalos de tiempo. También se busca medir su eficacia en la dosis que se ha venido usando (200µg) de manera general en las especies domésticas.

La ancilostomiasis es una enfermedad con distribución geográfica principal en climas tropicales y subtropicales y es causada por la presencia de larvas y parásitos adultos del nematodo *Ancylostoma sp* en el intestino delgado y otros tejidos.

Para determinar la efectividad del antiparasitario se formaron 8 grupos, cada uno con 5 ratones machos de la cepa CD – 1, los cuales fueron inoculados con 500 larvas-3 activas de *Ancylostoma caninum* cada ratón, obtenidas por medio de cultivos larvarios. Esto se realizó al recolectar heces de perros infectados con el parásito, creando concentraciones de huevos de *Ancylostoma caninum* las cuales se cultivaron en una estufa bacteriológica para lograr el desarrollo de la larva-3 activa. Al tener el número necesario de larvas se determinó la viabilidad de la misma en base al movimiento (serpenteante activo) y se procedió a la inoculación de cada ratón.

El grupo 1, no fue inoculado y no recibió tratamiento (NI – NT), a ese grupo se le llamo control negativo, el grupo 2 fue inoculado y no recibió tratamiento a este grupo se le llamo control positivo (SI – NT), los 6 grupos restantes fueron inoculados y recibieron tratamiento de ivermectina (SI – ST) a una dosis de 200µg a intervalos mensuales. El primer tratamiento de ivermectina se realizó 30 días pos-inoculación, y a los 60 días se realizó el sacrificio del grupo control negativo (NI – NT), del grupo control positivo (SI – NT) y del primer grupo inoculado con un tratamiento (SI – ST1), el mismo día se administró el segundo tratamiento de ivermectina a los 5 grupos restantes, así sucesivamente; a los 90 días se sacrificó al grupo 2 (SI – ST2) y se trató al resto de los grupos; a los 120 días al grupo 3 (SI – ST3); a los 150 días al grupo 4 (SI – ST4); a los 180 días al grupo 5 (SI – ST5) y a los 210 días post – inoculación se sacrificó al grupo 6 contando con seis tratamientos (SI – ST6). De los ratones sacrificados se obtuvieron el hígado, los riñones, el corazón, los pulmones, 1g. de musculo esquelético y el cerebro. Los cuales se sometieron a digestión artificial con una preparación de ácido clorhídrico y pepsina durante 24 horas, posteriormente se procedió a contar el número de larvas del sedimento obtenido de cada digestión.

Al conteo se obtuvo un total de 1450.8 larvas de los 40 ratones totales; en base a los resultados se realizaron las técnicas estadísticas de análisis de varianza y prueba de Tukey, para determinar las diferencias entre los diversos grupos así como la técnica de Wescot para analizar el porcentaje de efectividad de la ivermectina en cada uno de los tratamientos.

En el análisis de varianza se obtuvo una Fc de 37.7 y una F $\alpha$  2.3, lo que nos indica que existe suficiente evidencia de que la ivermectina tiene efecto sobre las larvas de *Ancylostoma caninum*. En la prueba de Wescot se obtuvo en el grupo 1 (SI – ST1) un porcentaje de eficacia del 70.1% con base al control positivo (SI – NT), un 89.9% en el grupo 2 (SI – ST2), un 91.8% en el grupo 3 (SI – ST3), un 96% en el grupo 4 (SI – ST4), un 97% en el grupo 5 (SI – ST5) y un 100% en el grupo 6 (SI – ST6). Lo cual nos indica que conforme se aplican intervalos mensuales de ivermectina a 200 $\mu$ g se puede alcanzar la remoción de larvas enquistadas de *Ancylostoma caninum*.

## 2. INTRODUCCIÓN

### 2.1 GENERALIDADES

En los animales de compañía, las parasitosis causan serios problemas, y algunas representan una amenaza constante para la salud humana por la convivencia que se da directamente con los perros y los gatos, es por esta razón que el control de los parásitos es indispensable (Quiroz 2011).

En la actualidad el perro (*Canis familiaris*), es el animal doméstico más antiguo y compañero predilecto del hombre, por ello ha estado colaborando a nuestro lado en diferentes actividades que benefician al humano de una u otra manera. Estas relaciones, hombre-animal implican riesgo de zoonosis que es necesario reducir en especial en personas inmunocomprometidas; es aquí donde el Médico Veterinario debe cumplir una importante función en la asesoría para la tenencia responsable de las mascotas. Asimismo es esencial que el propietario conozca cuáles son las obligaciones legales relativas a la tenencia de una mascota (Gómez 2007).

La importancia de mantener a los perros sanos no solo elimina el riesgo de zoonosis, sino también que se conviertan en diseminadores de estas infecciones, las cuales durante los últimos años han ido adquiriendo gradualmente importancia por ser el perro un habitante frecuente en los hogares y tener una estrecha convivencia con el humano. Así entonces el perro domestico tiene un reconocido papel en la transmisión de infecciones parasitarias de tipo zoonotico como la provocada por *Giardia*, *Dipylidium*, *Toxocara*, *Ancylostoma*, *Cryptosporidium*, *Sarcoptes*, así como las infestaciones por garrapatas y pulgas que cada vez resultan más relevantes por su asociación a la transmisión de protozoarios, virus y rickettsias (Berck 2010).

Las parasitosis del tubo digestivo en caninos son generalmente producidas por protozoarios, nematodos y platelmintos, siendo de amplia relevancia la ancilostomiasis, por su frecuencia e impacto en los animales y su potencial zoonótico (Carvalho 2007).

## 2.2 *Ancylostoma caninum*

La ancilostomiasis se puede definir como la infestación causada por la presencia y acción de las fases larvarias y adultos de varias especies del género *Ancylostoma* en el intestino delgado y otros tejidos de los perros, gatos e incluso los seres humanos (larva migratoria cutánea), causando deterioro en el intestino delgado y pérdida de sangre (Quiroz 2011). *Ancylostoma caninum* es el principal responsable de la ancilostomiasis canina en México, presentando una elevada morbilidad en las poblaciones de esta especie en el país.

Los humanos pueden ser hospedadores paraténicos que son infestados por larvas del parásito presentes en el suelo contaminado o agua debido a que estas fases penetran la piel.

### 2.2.1 ETIOLOGÍA

---

<b>REINO</b>	<i>Animalia</i>
<b>RAMA</b>	<i>Helminta</i>
<b>SUBRAMA</b>	<i>Nemathelminta</i>
<b>CLASE</b>	<i>Nematoda</i>
<b>SUBCLASE</b>	<i>Adenophorea</i>
<b>ORDEN</b>	<i>Strongylida</i>
<b>SUBORDEN</b>	<i>Strongylina</i>
<b>SUPERFAMILIA</b>	<i>Strongyloidea</i>
<b>FAMILIA</b>	<i>Ancylostomatidae</i>
<b>SUBFAMILIA</b>	<i>Ancylostomatinae</i>
<b>GENERO</b>	<i>Ancylostoma</i>
<b>ESPECIE</b>	<i>caninum</i>

---

**Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Ancylostoma caninum* (Guerrero; Vollmer 2009)**

### 2.2.2 EPIDEMIOLOGÍA

La ancilostomiasis es una enfermedad endémica que alcanza morbilidades hasta del 100% en algunas regiones. Los perros de menos de un año presentan mayor riesgo de estar gravemente infestados; una vía de infección frecuente en los cachorros es la lactogénica; los síntomas se observan frecuentemente en cachorros lactantes desnutridos que son criados en grupos o perreras (Angus 1983)

La ancilostomiasis sigue siendo una de las infecciones crónicas más frecuentes en humanos, con un estimado de 740 millones de casos en áreas de pobreza, trópicos y subtropicos. Los humanos también albergan múltiples tipos de helmintos, como *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* y especies de esquistosomas que junto con la ancilostomiasis infectan una cuarta parte de la población mundial (de Silva *et al* 2003).

Este parásito se puede transmitir por vía oral, transcutánea, transplacentaria o lactogénica. Una infección por *Ancylostoma* genera un nivel de afectación de acuerdo con la intensidad del ataque, la edad, el estado nutricional e inmunológico del hospedero (Eckert, 2000).

Los suelos de tierra con vegetación, húmedos, porosos, con grietas y contaminados con heces favorecen la infección producida por las larvas, así como el potencial desarrollo de una forma grave de la enfermedad. En condiciones favorables las larvas sobreviven más de 6 semanas; superficies expuestas al sol son letales para las larvas (Angus 1983).

Dado que las fases larvarias de *Ancylostoma* tienen motilidad limitada, su desarrollo y la supervivencia dependen del entorno: humedad ambiental, la temperatura y la luz ultravioleta y las diferencias geográficas en la transmisión estarán influidas por estos y otros factores relacionados como la lluvia, el tipo de suelo y la altitud (Chandler, 1929).

Las hembras maduras son muy prolíficas y producen entre 10 Y 20 mil huevos por día. Los huevos recién eliminados, necesitan condiciones adecuadas de temperatura, humedad y oxigenación, para el desarrollo de la larva 1 (L-1). Tras la eclosión las L-1 mudan dos veces en el medio y se convierten en L-3 que son las fases infectantes. (Cordero 1999).

Estos nematodos tienen la capacidad de desarrollar el estado de hipobiosis o dormancia, lo cual es una estrategia para evadir las condiciones desfavorables del ambiente y eludir los mecanismos de defensa del hospedero. Las larvas de *A. caninum* en hipobiosis se encuentran en la pared intestinal y en el tejido muscular esquelético de los perros adultos y no se eliminan con los esquemas de tratamiento rutinarios (Eckert, 2000).

Las larvas latentes, además de servir como fuente de infección para cachorros lactantes, también sirven para repoblar el intestino con adultos que contaminan el medio ambiente. En la práctica los veterinarios frecuentemente se encuentran con perros con *Ancylostoma*

*caninum* resistentes, incluso tras tratamientos repetidos con una variedad de fármacos en el transcurso de muchos meses (Eckert, 2000).

En la población humana las deficiencias en la vivienda, y especialmente, la falta de letrinas y agua corriente favorecen la contaminación de las zonas aledañas a las casas, bien sea por el campo o en los barrios pobres de los pueblos y ciudades (Botero 1998).

Actualmente existen tratamientos a gran escala basados en la educación, esto se pretende con previsión de agua potable y saneamiento. También se desarrollan antihelmínticos y vacunas contra *Ancylostoma* (Brooker, et. al. 2002).

### 2.2.3 MORFOLOGÍA

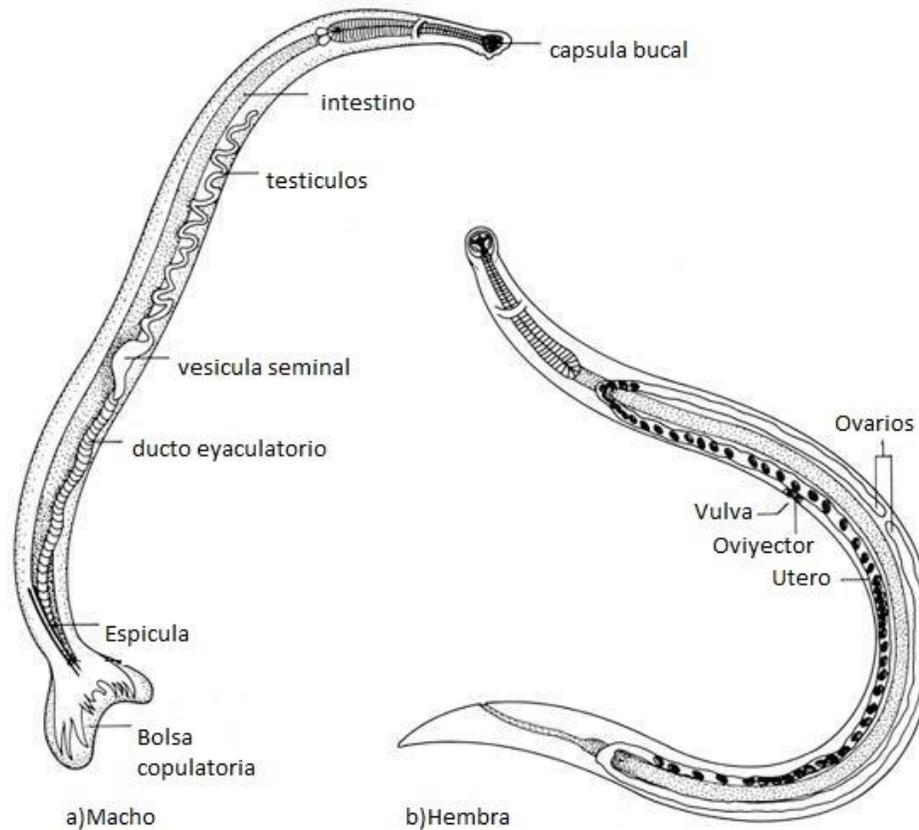
Son gusanos cilíndricos rojo-grisáceos, que miden de 8 a 11mm el macho y 10 a 13 mm la hembra por 0.3 a 0.4 mm. Poseen una gruesa cutícula blanquecina y un tubo digestivo que se inicia en una cavidad bucal provista de dientes cortantes.



**Fig. 1** Capsula bucal de *Ancylostoma caninum* (Carrada 2007).

El macho presenta en el extremo posterior una dilatación en forma de campana, conocida como bolsa copuladora que está formada por tres lobulaciones membranosas soportadas por engrosamientos llamados radios, esta estructura es ancha y translúcida, y por en medio presenta dos espículas filamentosas que le permiten fijarse en el momento de la cópula. La

hembra fértil (que puede poner entre 10 y 20 mil huevos al día, los libera de manera continua (Guerrero – Vollmer 2009).



**Fig. 2 Fases adultas (Macho y hembra) de *Ancylostoma*. Las principales diferencias son que el macho es mas pequeño (8 – 11 mm) y cuenta con una estructura llamada bolsa o bursa copuladora y dos espículas que permiten fijarse a la hembra. La hembra es mas grande (10 – 13 mm) y su extremo posterior es conico y tiene una espina caudal terminal.**

Los huevos de *Ancylostoma* son ovoides, lisos y envueltos por una cascara hialina y delgada, miden de 50 a 60 x 40 a 45  $\mu\text{m}$ , y se les encuentra en las heces del hospedador, después de incubarse 24 a 48 horas sus blastómeros se dividen para dar origen a los estadios larvarios (Carrada – Bravo 2007).



**Fig. 3 Huevo de *Ancylostoma caninum* (García 2016)**

## **2.2.4 CICLO BIOLÓGICO**

El ciclo evolutivo de *Ancylostoma caninum*, inicia con la eliminación por los hospederos de miles de huevos con las heces, pero es necesario que se disperse el bolo fecal para el desarrollo de las fases larvarias. El suelo que más favorece esto es el ligeramente arenoso, con bastante humedad y oxígeno; la temperatura óptima para esto está entre 23 y 30° C. La primera larva se desarrolla en un día, se alimenta de bacterias y muda para llegar al segundo estadio larvario. Se alimenta y muda para dar lugar al tercer estadio larvario, retiene la muda de la segunda larva y ya no se alimenta y esta le sirve como protección; esto sucede en 22 días a 15°C o en 2 días a 20 o 30°C. La larva 3 logra infestar al hospedero por vía cutánea o por vía oral, sigue la ruta linfática para llegar al corazón y pulmones, en donde a través de los capilares pasa a los alveolos, siguen su migración por bronquiolos, bronquios, tráquea y faringe, en donde es deglutida, para llegar al intestino; esta migración tarda desde dos días hasta una semana (Quiroz, 2003).

### **a) Vía oral**

La posibilidad del desarrollo de las larvas varía: algunas son ingeridas y completan su desarrollo realizando dos mudas en la mucosa del intestino delgado, y así llegan directamente a adultos. Una vez que la L – 3 llega al intestino penetra en las criptas de la mucosa y sufre su primera muda. La L – 4 emerge a la superficie de la mucosa y ahí realiza su segunda muda. Estas larvas poseen una capsula bucal pequeña que las capacita para adherirse a la pared intestinal (Dunn, 1983).

Las larvas que penetran por el intestino generalmente pasan por las glándulas de Lieberkhün del intestino delgado y luego de dos días regresan al lumen, mudan tres días después y llegan a adultos; el periodo prepatente es de 15 a 18 días en perros jóvenes y de 15 a 26 días en perros adultos, el periodo patente es 6 a 12 meses (Del Valle, 2003).

Otras alcanzan el sistema circulatorio desde la mucosa de la propia cavidad oral, pasando por los pulmones y efectuando una migración traqueal para regresar finalmente al intestino.

La muda a L4 tiene lugar en los bronquios y tráquea y posteriormente son deglutidas con el moco bronquial, finalizando su desarrollo a L- 5 y adulto en el intestino delgado. La vida media de los adultos es de 6 meses (Cordero, 1999).

#### **b) Vía transcutánea**

Las larvas penetran a través de la piel intacta migrando hacia la dermis y la hipodermis, rica en capilares sanguíneos y linfáticos, y son transportadas por el sistema venoso o el conducto torácico al corazón y a los pulmones. Las larvas se desplazan hacia los alveolos migrando por bronquiolos, bronquios y tráquea desde donde son deglutidos y maduran en el intestino delgado. La muda al cuarto estadio se produce después de que las larvas llegaran a los alveolos (48 horas), las larvas del cuarto estadio se encuentran en gran número en el intestino, en el cuarto día postinfección. La cuarta muda que da lugar a los adultos inmaduros se produce al sexto día, los órganos reproductores se evidencian en los gusanos adultos sobre el duodécimo día, y las fases adultas comienzan a aparecer unos 17 días después de la infestación.

#### **c) Vía transplacentaria**

Otra forma de infestación es a través de la placenta. Tratándose de perras gestantes, las larvas pueden llegar a los fetos, infestándolos prenatalmente. Las L – 3 permanecen latentes en el hígado hasta que los cachorros nacen, en cuyo momento tiene lugar la migración pulmonar, llegando al intestino y alcanzando su madurez mientras los cachorros son aún muy jóvenes (Quiroz, 2003).

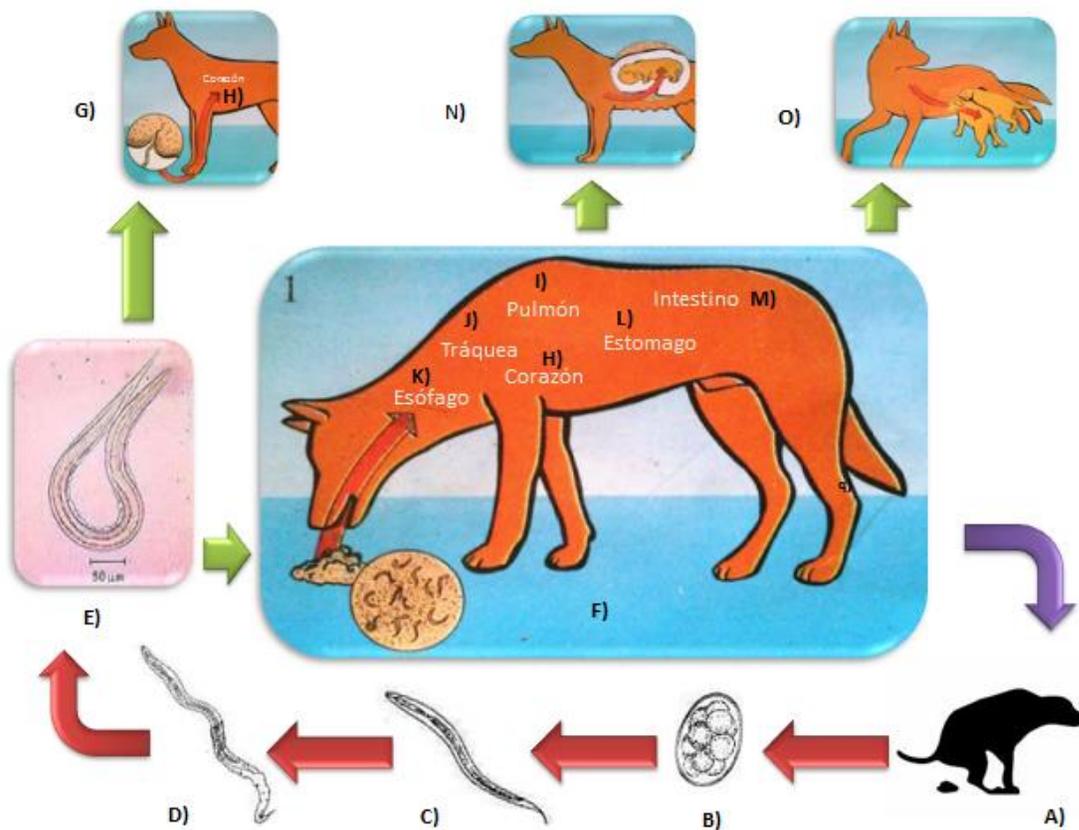
#### **d) Vía lactogénica**

Algunas larvas que llegan a los pulmones no prosiguen su camino hacia el intestino, sino que migran hacia los músculos donde pueden permanecer inertes durante más de 240 días. En este aspecto cobran interés las perras porque durante la gestación las larvas somáticas se reactivan y se eliminan por la leche, infectando a los cachorros durante las primeras tres semanas de lactación, aunque la primera semana puerperal es realmente la más importante.

Las larvas permanecen acantonadas en los músculos durante meses y pueden transmitirse con el calostro y la leche al menos en tres lactaciones seguidas, sin reinfección de la madre (Fisher, 2007).

Las larvas infectantes de *Ancylostoma caninum* no crecen en el hospedador paraténico sino por el contrario se distribuyen a través del cuerpo y persisten por largos periodos en estado

de dormancia. Un porcentaje de estas larvas se reactiva y se transmite durante la gestación y la lactancia por efecto de las hormonas progesterona y prolactina (Del Valle, 2003).



**Fig. 4** Ciclo biológico de *Ancylostoma caninum* (García, 2016). El perro infectado por *Ancylostoma* defeca en el ambiente (A), dejando una gran cantidad de huevos (B), los cuales con el ambiente adecuado evolucionan a larva 1 (C), larva 2 (D) y larva 3 infectante (E), la cual puede infectar por vía oral (F) o cutánea (G) donde se busca una migración linfática al corazón (H), luego a pulmones donde se da la muda a larva 4 (I), tráquea (J), hay deglución hacia esófago (K), estómago (L), intestino donde se da la muda a larva 5 y adulto (M). Algunas larvas se enquistan en músculo donde se mantienen en latencia y se reactivan al haber gestación, donde se da la transmisión transplacentaria (N) o al nacer los cachorros, se pueden infectar vía lactogénica (O).

## 2.2.5 DISTRIBUCIÓN

La distribución es cosmopolita, si bien es más frecuente en áreas tropicales y subtropicales de Norteamérica, Australia y Asia (Fisher, 2007).

En México se han realizado varios trabajos sobre parasitosis intestinales de perros en poblaciones urbanas, en los cuales se mencionan sus implicaciones zoonóticas. México,

donde se ha presentado un amplio crecimiento poblacional, tanto humana como canino en los últimos años (Cordero, 1999).

Parásito	Muestras positivas	Porcentaje
<i>Ancylostoma caninum</i>	595	39.66%
<i>Toxocara canis</i>	102	6.80%
<i>Isospora sp.</i>	23	1.53%
<i>Giardia lamblia</i>	171	11.4%
<i>Toxocara canis y Ancylostoma caninum</i>	156	10.4%
<i>Toxocara canis e Isospora sp.</i>	34	2.26%
<i>Ancylostoma caninum e Isospora sp.</i>	10	0.66%
<i>Ancylostoma caninum, Isospora sp, Toxocara canis</i>	8	0.53%
<i>Ancylostoma caninum, Giardia lamblia</i>	46	3.06%
<i>Toxocara canis, Giardia lamblia</i>	15	1%
<i>Ancylostoma caninum, Toxocara canis, Giardia lamblia</i>	8	0.53%
<i>Ancylostoma caninum, Isospora sp, Giardia lamblia</i>	2	0.13%

**Tabla 2. Frecuencia de la infección por parásitos intestinales en 1500 muestras obtenidas en centros de control canino de Iztapalapa en la Ciudad de México en 2006 (García 2006).**

## 2.2.6 PATOGENIA

Las infecciones por *Ancylostoma* están universalmente asociadas a la respuesta inflamatoria por citosinas Th2 y niveles altos de IgE, eosinofilia y mastocitosis (Yazdanbakhsh, 2001).

Una de las principales proteínas secretadas por la L-3 activa de *Ancylostoma* es una metaloproteasa que contiene zinc de la clase astacina (Zhan et. al. 2003) y dos proteínas secretoras ricas en cisteína conocidas como proteínas Secretoras por *Ancylostoma* (ASPs) (Hotez, et. al. 2003). La función de estas moléculas no se ha establecido definitivamente, aunque se cree que tienen un papel importante en la invasión de tejidos y la inmunomodulación del huésped (Brooker et. al. 2003).

Cuando las L - 3 infectantes de *Ancylostoma* en el suelo entran en contacto con la piel humana desnuda (por ejemplo, en zonas de juego o en playas contaminadas), penetran en ella gracias a la producción de enzimas del tipo de las colágenasas y migran durante semanas o meses entre el corion y el estrato granuloso de la epidermis cada día unos milímetros o centímetros. En el punto de penetración se van a desarrollar eflorescencias papulosas. Los túneles subcutáneos, de hasta 2mm de ancho, que se edematizan y destacan ligeramente de la superficie de la piel, provocan un prurito más o menos intenso. Como consecuencia de las autoexcoraciones, pueden aparecer infecciones secundarias bacterianas y pueden producir dermatitis eritematosa (Sugathan, 2002).

Los eventos histopatológicos incluyen una dermatitis difusa con acantosis, focos de espongirosis con vesículas intraepidérmicas que contienen queratinocitos necróticos. En zonas perivasculares de la dermis superior y media se observan infiltrados inflamatorios de predominio eosinofílico. El hallazgo de la larva de *Ancylostoma* u otro agente etiológico no es frecuente debido a que el parásito no se encuentra de la lesión visible (Uribarren 2013).

A su llegada a los pulmones se desarrolla una segunda etapa en la que las larvas pueden provocar considerables alteraciones, generando un proceso neumónico derivado de la destrucción de tejido, la producción de hemorragias y la reacción a cuerpos extraños que desencadenan (Sloss, 1994, Soubly, 1986).

El daño generado esta en relación por una parte con la migración larvaria que realizan por los diferentes tejidos y por otra parte debido a sus necesidades metabólicas (Quiroz, 2003).

El parásito adulto ejerce acción traumática en el intestino al morder la mucosa que es de mayor o menor importancia en relación con el número de parásitos presentes en la condición del hospedero. Paralelamente se produce acción expoliatriz, en primer lugar es histófaga, al tener que digerir el tapón de mucosa que introduce en su boca, en segundo lugar una acción hematófaga muy importante, el consumo de sangre es de .8ml de sangre al día aproximadamente. La mayor parte de la sangre la utilizan en procesos respiratorios, por lo que pasa en gran cantidad al contenido intestinal (Quiroz, 2003).

Se ha demostrado que estos organismos poseen aspartilproteasas, metaloproteasas, serinproteasa y cistein proteasas, así como proteínas formadoras de poros en membranas, que facilitarían la ruptura de las células y que los capacitan para metabolizar la hemoglobina y los subproductos de ésta, que trabajan en forma de cascada multienzimática. Sobre el factor VIIa tisular y el factor Xa, además liberan un inhibidor de plaquetas que se unen a receptores de integrina, glicoproteína IIb/IIIa (Harrison, 2002, Williamson, 2003, Lee y Vlasuk, 2003, del Valle, 2003).

La zona donde esta adherido el verme aparece infiltrada de sustancias anticoagulantes y enzimas proteolíticas, que favorecen que la pequeña ulcera siga sangrando después de que el parásito cambia de sitio de alimentación, dando lugar a que se produzcan ligeras infecciones o continúe la pérdida de sangre (Quiroz, 2003).

En perros adultos cuando la infección es ligera, la anemia es leve y crónica, puesto que la respuesta eritropoyética de la medula ósea puede compensar bien la pérdida de elementos sanguíneos. Al comienzo de la infección la anemia es de naturaleza normocítica-normocrómica; no obstante a medida que se van agotando la reservas de hierro del hospedador, se torna hipocrómica y al revés microcítica. En ocasiones, especialmente en infecciones intensas, las secreciones anticoagulantes de los *Ancylostoma* que pasan a la circulación del hospedador pueden alterar la coagulación normal (Arasu, 1999).

El curso de la enfermedad depende de la intensidad de la infección, edad del hospedador, nutrición y características inmunológicas; la infección frecuentemente es asintomática; los síntomas más importantes son: deficiencia de hierro, anemia (hipocrómica, microcítica), fatiga, pérdida de condición corporal, diarrea, colapso circulatorio (Angus 1978).

### **2.2.7 TIPOS DE ANCYLOSTOMIASIS Y CUADRO CLÍNICO.**

Se pueden distinguir diferentes formas clínicas de la ancilostomiasis canina. La enfermedad hiperaguda ocurre en neonatos. La enfermedad aguda tiene lugar en cachorros mayores y perros maduros. La enfermedad crónica es común en perros adultos y puede ir asociada o no con signos clínicos (Beck 2010).

#### **a) Ancilostomiasis hiperaguda**

Esta presentación es el resultado del paso de larvas infectantes vía transplacentaria o lactogénica desde la madre a los cachorros. La infección puede ser mortal con apenas 50 a 100 adultos de *Ancylostoma caninum*. Normalmente, los cachorros tienen un aspecto sano y pulcro la primera semana, después enferman y se deterioran rápidamente durante la segunda semana. Las mucosas visibles están pálidas y las heces entre blandas y líquidas son muy oscuras porque la sangre excretada por los nematodos en el intestino delgado se ha digerido parcialmente durante su expulsión. Los vermes no depositan huevos antes del día 16 postinfección por lo que el diagnóstico debe basarse en los signos clínicos de la enfermedad (Beck 2010).

#### **b) Ancilostomiasis aguda**

Esta resulta de la exposición repentina de cachorros mayores susceptibles a cantidades elevadas de larvas infectantes. Incluso los perros maduros pueden sucumbir si la infección es lo suficientemente numerosa. Normalmente se encuentran muchos huevos en las heces de los animales afectados pero los signos clínicos pueden preceder a la aparición de los huevos en unos 4 días de infecciones especialmente intensas (Beck 2010).

#### **c) Ancilostomiasis crónica**

Normalmente es asintomática. El diagnóstico se basa en la presencia de huevos de *Ancylostoma* en las heces y en las reducciones perceptibles del recuento eritrocítico, hemoglobina sanguínea o el volumen corpuscular total. Sin embargo, ocasionalmente, una adaptación incompleta de parásito y hospedador produce un estado de enfermedad crónica poco apreciable (Beck 2010).

#### **d) Larvas hipobióticas y eliminación retardada de huevos**

Las larvas de *A. caninum* en hipobiosis se encuentran en la pared intestinal y el tejido muscular esquelético de los perros adultos, y no se eliminan con el tratamiento de rutina. Sabemos que las larvas de *A. caninum* están migrando continuamente desde los músculos hasta el intestino, a través de los pulmones. Cuando los vermes adultos se encontraban en el intestino, se desarrollaban a partir de algunas de estas larvas, pero cuando los adultos son eliminadas al tratar al animal, las que se encuentran enquistadas en los músculos son capaces de madurar y empezar a producir huevos en unas 4 semanas. Al tratar por segunda vez, se consigue eliminar los nuevos adultos y estos a su vez son reemplazados por más larvas presentes en los músculos. En consecuencia, las larvas somáticas, además de servir como fuente de infección para cachorros lactantes, también sirven para repoblar el intestino con adultos, que contaminan el ambiente. (Miro, 2007).

#### **2.2.8 DIAGNÓSTICO**

El cuadro clínico hace sospechar de ancilostomiasis en las zonas en donde el problema es enzoótico (Quiroz, 2003).

El diagnóstico se puede hacer basándose en los signos clínicos (heces diarreicas con moco y sangre), historia clínica, necropsia, detección de huevos en heces; los cachorros lactantes pueden mostrar síntomas graves ya durante el periodo de prepatencia (Kassai 1999).

Se recomienda un examen coproparasitológico de flotación donde se observarán los huevos de *Ancylostoma* que son ovoides, lisos y rodeados de dos envolturas hialinas y delgadas, miden de 50 a 60 x 40 a 45µm, y se les encuentra en las heces del hospedador. Al caer al suelo sombreado y húmedo con temperatura media de 23 a 30° C, los huevos se incuban de 24 a 48 horas, se dividen en blastómeros, tornándose fértiles, hasta que en el interior se forma una larva rhabditiforme con la cápsula bucal larga y estrecha (Carrada – Bravo 2007).

El diagnóstico diferencial se realiza contra otras enfermedades causantes de anemia (babesiosis, leishmaniosis, erlichiosis) (Kassai, 1999).

El diagnóstico post-mortem permite detectar las lesiones ulcerativas en el intestino asociados a los gusanos característicos (Cordero, 1999).

### **2.2.9 TRATAMIENTO**

Los animales seriamente afectados por *Ancylostoma caninum* pueden necesitar transfusiones de sangre. El tratamiento de sostén debe incluir un suplemento rico en proteínas. La capacidad de larvas enquistadas para repoblar el intestino puede conducir a una falsa conclusión sobre la resistencia al fármaco por parte del parásito; de ser así, es necesario repetir el tratamiento (Soubsly, 1987).

Para el combate de las parasitosis se han formulado una gran variedad de productos con diferentes principios activos solos o mezclados y a diferentes concentraciones (Fox, 1998).

Los fármacos antiparasitarios se clasifican con base en el tipo de parásito que afectan y en el hecho de si también poseen efectos larvicidas y ovidas dentro del mismo espectro. Es conveniente saber que no existen antiparasitarios de espectro absoluto, pero sí de amplio espectro (Sumano, 2006).

A continuación se enlistan y describen las distintas familias de antiparasitarios cuyo espectro incluye al género *Ancylostoma*:

#### **2.2.9.1 FENOTIAZÍNICOS**

- a) Piperazina: A pesar de su descubrimiento alrededor del año 1900, la piperazina (dietilendiamina) ha sido reconocida solo desde 1954, como molécula antihelmíntica por excelencia, siendo aún utilizada en varios países del mundo por su bajo costo (Godman, 2006; Katzung, 2005).

La molécula de piperazina base se desnaturaliza fácilmente por diversos factores del medio ambiente, y usualmente se combina con diferentes tipos de sales para otorgarle estabilidad (Godman, 2006; Katzung, 2005).

La piperazina ejerce una acción agonista selectiva sobre los receptores del neurotransmisor inhibitor GABA, que producen la apertura de los canales de Cl<sup>-</sup>, e hiperpolarizan la membrana de las células musculares del parásito (Sumano, 2006).

#### **2.2.9.2 TETRAHIDROPIRIDINAS**

El primer componente de este grupo que se utilizó como antiparasitario de amplio espectro fue el pirantel en 1966, luego se desarrolló el morantel (análogo metilado del pirantel) y por último el análogo m-oxifenil, denominado oxantel.

Los compuestos de este grupo ejercen su acción antiparasitaria exclusivamente sobre nematodos gastrointestinales adultos mediante un efecto colinérgico, despolarizando la placa neuromuscular del parásito produciéndole una parálisis espástica.

El mecanismo de acción de las tetrahidropiridinas consiste en el bloqueo de la transmisión neuroganglionar del parásito, con un efecto colinérgico despolarizante (Sumano, 2006).

- a) Morantel: Es un análogo del pirantel que se encuentra en forma de polvo, es de color blanco amarillento. Inodoro y soluble en agua. Su nombre químico es (E)-1,4,5,6-tetrahidro-1-metil-2-[2-(3-metil-2-tienil)etenil]pirimidina. Se metaboliza por vía hepática y se elimina por orina. En el perro es muy tóxico y la dosis letal media es de 690 mg/Kg la eficacia se establece a dosis de 5 a 10 mg/kg. No hay toxicidad en hembras gestantes (Sumano, 2006; Soubly, 1987).
- b) Pirantel: Se introdujo en 1966. Su nombre químico es (E)-1, 4, 5,6-tetrahidro-1-metil-2-[2-(2-tienil)etenil]pirimidina. Sus principales sales son tartrato y pamoato, este último conocido también como emboato de pirantel. La sal tartrato es una de las tetrahidropiridinas más utilizadas; es un polvo blanco soluble en agua, que se utiliza como polvo suspensión o comprimidos. El pamoato es un polvo amarillo muy estable, insoluble en agua. Cuando está en suspensión es muy sensible a la luz solar, que lo inactiva rápidamente. Su dosis es de 5 a 10mg/kg (Sumano, 2006; Soubly, 1987).

### **2.2.9.3 BENCIMIDAZOLES**

En 1950 se estableció el uso potencial de los bencimidazoles como quimioterapéuticos en enfermedades parasitarias. El descubrimiento del tiabendazol en 1961 marco el inicio del desarrollo comercial de los bencimidazoles y propicio la síntesis de nuevos compuestos. Los bencimidazoles con mayor actividad antihelmíntica se denominan bencimidazol carbamatos; en este grupo están incluidos: el mebendazol, albendazol, febendazol que son los más importantes (Sumano, 2006).

- a) Mebendazol: Su nombre químico es (metil-ester 1H-benzimidicarbámico); es un polvo amorfo amarillo y tiene un sabor agradable. El mebendazol difiere de la mayoría de los bencimidazoles en su forma de actuar, ya que no inhibe la fumarato reductasa. Su efecto lo logra al bloquear la utilización de glucosa por el parásito, con la consecuente disminución de las reservas de glucógeno y ATP. Con este fármaco la eliminación del parásito es relativamente lenta y sucede uno o dos días después de suministrarlo (Sumano, 2006; Fuentes, 1994; Meyer, 1986; Booth, 1998). A pesar de su baja absorción, alcanza sus niveles plasmáticos máximos 2-4 horas, y casi nunca es mayor a un 1% de la dosis administrada. Se metaboliza poco, y una gran parte es eliminada sin cambio por las heces al cabo de 1 o 2 días. Por vía urinaria se elimina de un 5 a 10%. La dosis recomendada es de 20 a 50mg/kg/10 a 20 días, o 200mg/kg por 5 días en perros y 20mg/kg en gatos (Sumano, 2006).

b) Albendazol: Es un bencimidazol similar al mebendazol. Es insoluble en agua y soluble en alcohol. Su nombre químico es [ácido carbámico metil-éster 5-(propiltio)-1H-benzimidazol-2-il]. Inhibe la polimerización de la tubulina y la enzima fumarato reductasa, lo que produce deficiencia en la generación de energía (ATP) y por lo tanto ocasiona la muerte del parásito.

El albendazol se absorbe mejor que otros bencimidazoles. Alcanza su nivel máximo a las 20 horas de su administración, se elimina por la orina y se calcula que en las primeras 24 horas se recupera un 50% de la dosis y el otro 50% en un promedio de 10 días. Se suministra por vía oral. Se le considera altamente eficaz contra formas adultas y larvianas de nematodo. La dosis en perros es de 10 a 50mg/kg peso vivo y en gatos de 25 a 50 mg/Kg peso vivo (Sumano, 2006).

c) Febendazol: Es un polvo cristalino y su nombre químico es [ácido carbámico metiléster 5-(feniltio)-1H-benzimidazol-2-il]. No tiene olor y es insoluble en agua, pero soluble en dimetil sulfóxido y en dimetilformoína.

Además del efecto contra los parásitos al actuar sobre la tubulina, interfiere en la asimilación de la glucosa, evitando su integración en forma de glucógeno de tal forma que se altera la producción de energía del parásito. El efecto ovicida de este compuesto se basa en la alteración en la estructura de los huevos, ya que bloquea la eclosión de la larva. Se absorbe en tubo gastrointestinal solo una pequeña porción, alcanzando los valores máximos plasmáticos en un rango variable de 6 a 30 horas. El medicamento se elimina por heces, la orina y leche. El febendazol es poco tóxico en todas las especies. No se han detectado efectos de teratogenicidad ni embriotoxicidad. La dosis es de 10 a 50 mg/Kg peso vivo en perros y gatos (Sumano, 2006).

#### 2.2.9.4 LACTONAS MACROCÌCLICAS

Las avermectinas fueron aisladas en 1976 a partir del actinomiceto *Streptomyces avermitilis*, cultivado en una muestra de suelo obtenida cerca de un campo de golf en Japón. Rápidamente, las avermectinas se caracterizaron como una clase de antihelmínticos extremadamente potentes con actividad inesperada contra artrópodos. Si bien las milbemicinas se conocían desde 1973 como agentes eficaces contra ácaros importantes en agricultura, su actividad contra nematodos se investigó solamente tras la publicación de las propiedades antihelmínticas que les fueron encontradas. Pronto se hizo evidente que ambos fármacos eran miembros importantes de una sola clase con un modo de acción común. La estructura de estos fármacos comparte un anillo macrocíclico de 16 elementos, que da lugar al nombre de la clase. Se dividen en dos familias:

- Avermectinas
  - naturales (ivermectina y abamectina)
  - biosintéticas (doramectina, eprinomectina y selamectina)
- Milbemicinas



### **2.2.10.1 FARMACODINAMIA**

La ivermectina actúa como agonista de canales de cloro inhibitorios específicos de invertebrados que son activados por el ácido glutámico y están relacionados filogenéticamente a los canales de cloro asociados al ácido gamma amino butírico (GABA). Se une de manera irreversible a los canales de cloruro (Cl<sup>-</sup>) relacionados con el glutamato, aumentando la permeabilidad de la membrana de la célula muscular. Esta unión abre el canal, posibilitando el flujo de Cl<sup>-</sup> y creando un desequilibrio iónico que finalmente es letal. La misma acción se aprecia sobre los canales de Cl<sup>-</sup> relacionados al GABA, pero es reversible y tiene 100 veces menos afección. Mientras el efecto selectivo de la ivermectina puede ser explicado por esta acción en los canales asociados al glutamato únicos de los invertebrados, las altas concentraciones de ivermectina pueden también potenciar los canales de cloruro asociados al GABA de los vertebrados (Aparicio 2003, Prescott 2002, San Andrés 2007).

En los nematodos los canales/receptores inhibitorios de cloruros regulados por glutamato se presentan principalmente en la musculatura faríngea y en los músculos de la pared muscular los cuales juegan un papel clave en el control de la alimentación y en la motilidad general del parásito. Como parte del resultado de la inhibición de la neurotransmisión, el músculo faríngeo de los nematodos, se paraliza, lo que interfiere con la ingestión de nutrientes siendo el mecanismo de acción primario de la ivermectina contra el parásito; el movimiento corporal y los niveles de ATP, son inhibidos posteriormente y con concentraciones mayores del fármaco, además de la producción de huevos que también se ve afectada (Geary 1993, Hsu 2008, San Andrés 2007).

Las limitaciones de la ivermectina, contra trematodos, cestodos y protozoarios, está ligada a la ausencia en estos organismos de requerimientos del GABA para las funciones metabólicas y a la ausencia de receptores para su interacción con los canales de cloruro (Cl<sup>-</sup>) (Sumano 2006).

### **2.2.10.2 FARMACOCINÉTICA**

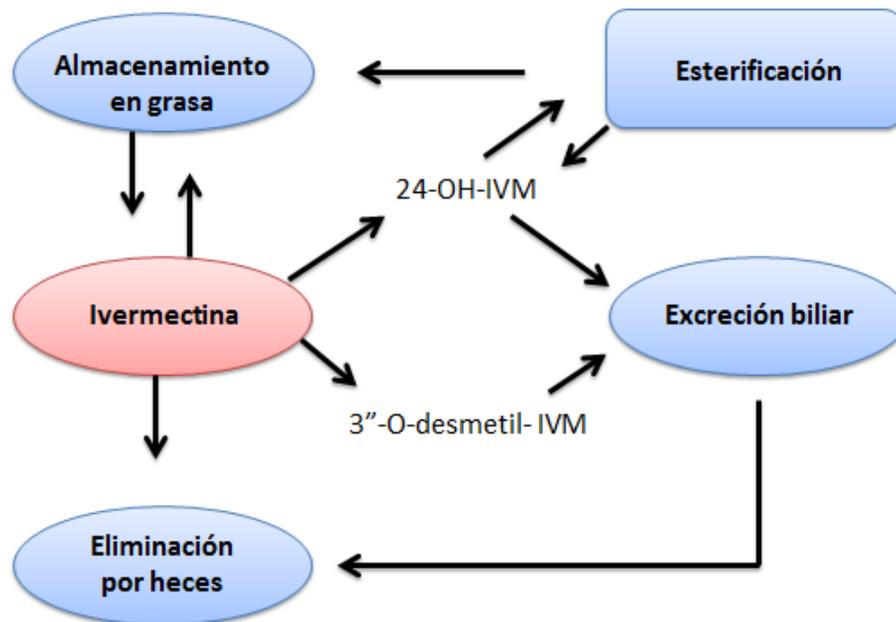
Los laboratorios que comercializan la ivermectina han desarrollado varias formulaciones que permiten la aplicación por diferentes vías (subcutánea, oral y tópica). La fórmula para VO muestra menor biodisponibilidad. El fármaco es muy liposoluble y poco hidrosoluble por lo que se puede aplicar por todas las vías, siendo las más recomendables la subcutánea, intramuscular y por derrame dorsal. Alcanza un valor máximo en el plasma en un lapso de 4 a 10 horas y tiene una vida media de 36 horas en promedio. A un nivel de dosis de 200 µg/kg se alcanza una concentración máxima media de 30,43 ng/ml, a un tiempo máximo medio de 131 horas y la vida media en el plasma es de 142.39 horas (Mendoza, 2010 Sumano 2006).

### 2.2.10.3 DISTRIBUCIÓN

Se distribuyen ampliamente en los tejidos y por lo general se encuentran residuos en bilis, grasa, hígado y menos en cerebro. Cuando se administra en animales, presenta un elevado grado de unión a las proteínas plasmáticas principalmente la albumina y se distribuye a través del torrente sanguíneo a todos los tejidos. Tiene afinidad principal por el tejido adiposo que actúa como depósito del fármaco, también se concentra en grandes cantidades en moco y contenido intestinal. Asimismo, el volumen de distribución tan amplio indica que una gran cantidad se localizará en los diferentes tejidos, incluyendo la piel, lo que es un dato de importancia por el efecto benéfico residual del fármaco que en muchos casos puede ser de 10 a 12 semanas, considerando ideal para el control de ectoparásitos (San Andrés 2007, Sumano 1997).

### 2.2.10.4 EXCRECIÓN

Se elimina por la bilis por lo que detectaran grandes cantidades en heces (aproximadamente un 98%), aunque también se excreta por la orina y en la leche. Una posible repercusión en salud pública se debe a la persistencia del compuesto en productos de origen animal (Sumano 1997).



**Fig. 6 Destino metabólico de la Ivermectina (San Andrés, 2007). La ivermectina se biotransforma principalmente en el tejido adiposo e hígado, en roedores se ha observado que en el hígado la ivermectina se transforma en dos metabolitos principales que son 24 hidroximetil y 3”O-desmetil, esto sugiere que los metabolitos polares producidos en el hígado, son esterificados y depositados en el tejido graso como entidades no polares. Estos metabolitos pueden excretarse en bilis y eliminarse por heces.**

## 2.2.10.5 INDICACIONES Y DOSIS

El uso de la ivermectina en los mamíferos está asociado con un margen amplio de seguridad, además de que en la mayoría de las especies tampoco atraviesa la barrera hematoencefálica; una posible excepción son las razas de perros, en particular los Collie o aquellas emparentadas. En todos los casos se recomienda dosis únicas y repetir los tratamientos con base en la prevalencia de parásitos en el lugar y en la posibilidad de reinfestaciones (Sumano 1997).

La dosis validada por innumerables estudios es de 200µg/kg. La ivermectina es activa contra dos grandes grupos de parásitos:

NEMATODOS	ARTROPODOS	
<i>Ancylostoma caninum</i>	<b>Productores de sarna</b>	<b>No productores de sarna</b>
<i>Trichuris vulpis</i>	<i>Sarcoptes scabiei</i>	<i>Oestrus ovis</i>
<i>Dirifilaria immitis</i>	<i>Demodex canis</i>	<i>Haematopinus sp</i>
<i>Uncinaria stenocephala</i>	<i>Otodectes cynotis</i>	<i>Pediculus sp</i>
<i>Angyostrongylus casorum</i>	<i>Psoroptes sp</i>	<i>Riphicephalus sanguineus</i>
<i>Filaroides osleri</i>		<i>Trichodectes canis</i>

**Tabla 3. Espectro de la ivermectina sobre algunos parásitos internos y externos**

Es usada especialmente para el control de ácaros y es altamente eficaz contra estados adultos, larvas en desarrollo y estados inhibidos de todos los nematodos de las diferentes especies domésticas. También interfieren en la reproducción de los artrópodos (Aparicio, 2003; Hsu, 2008; Madisson, 2008; San Andrés, 2007).

## 2.2.10.6 REACCIONES ADVERSAS

El fármaco se puede considerar para la mayoría de las especies altamente seguro, en general se tolera bien, pero ocasionalmente puede producir leve irritación ocular y cambios electrocardiográficos menores y puede provocar irritación local después de la aplicación subcutánea (Aparicio, 2003; Hsu, 2008). En dosis de 6µg/kg, en el perro de raza collie y el gato se puede presentar luego de la administración un síndrome toxico agudo, caracterizado

por depresión del sistema nervioso central, que puede incluir ligera somnolencia, midriasis, depresión, comportamiento anormal, temblores, salivación, letargia, ataxia, coma, convulsiones, vómito, hipertermia, e incluso la muerte, que ocurre por hipoxia y bradicardia en menos de 2% de los animales con datos de toxicidad. Las manifestaciones anteriormente descritas, tal vez se presenten en más de 5% de los animales tratados. A pesar de que la dosis letal media en el perro es de 80,000 $\mu$ g/kg (80mg/kg) la dosis más alta utilizada sin efectos es de 2mg/kg, aunque se perciben efectos adversos usando dosis de 5-10 mg/kg, en el perro de la raza Collie, la dosis letal es de 100 a 2500 $\mu$ g/kg (Hsu, 2008; Madisson, 2008; San Andrés, 2007; Sumano, 2006).

El síndrome característico a dosis que exceden la recomendada, se ha observado, también en casos individuales en perros de las razas: Viejo pastor inglés, Ovejero australiano, Pastor Alemán, West Highland White Terrier, Border Collie, Australian Blue Heeler, Jack Russell Terrier, Labrador, Pitbull y Samoyedo (Madisson, 2008).

La toxicidad de la ivermectina se relaciona con su unión al receptor de GABA en el sistema nervioso central del hospedero mamífero. La toxicidad selectiva se basa en la afinidad el receptor y la impermeabilidad de la barrera hematoencefálica en los mamíferos, porque las neuronas GABAérgicas se restringen al SNC, por lo que, la susceptibilidad a la acción tóxica de la ivermectina está estrechamente asociada con la mayor penetración del fármaco al SNC. Por ser una molécula altamente liposoluble, se absorbe fácilmente luego de la administración oral o parenteral. Su gran tamaño molecular y el alto grado de unión a proteínas plasmáticas limitan su paso al SNC a través de la barrera hematoencefálica. Esta distribución limitada al SNC parece ser el factor de diferenciación más importante entre la toxicidad selectiva hacia los invertebrados y el amplio margen de seguridad para el hospedero mamífero (Prescott, 2002; San Andrés, 2007).

Los individuos altamente susceptibles a la ivermectina, tienen una mutación de la glicoproteína-P particularmente en las células endoteliales de la barrera hematoencefálica. La glicoproteína-P se encuentra en la membrana apical de las células endoteliales, que se encarga de unirse y transportar al ATP y otros compuestos y es la responsable de la salida de las drogas del cerebro. La mutación de la glicoproteína-P causa retención de medicamentos, particularmente lactonas macrocíclicas en el cerebro de estos individuos. La ivermectina es un potente substrato e inhibidor de la glicoproteína-P en perros (Hsu, 2008).

En el tratamiento de la intoxicación por ivermectina se ha intentado el uso de carbón activado por vía oral, fisostigmina a razón de 1mg/animal por vía intravenosa y a veces glicolpirrolato a dosis de 0.01mg/kg vía intravenosa (Sumano, 1997).

La administración de ivermectina ya sea por inyección subcutánea, en forma tópica pour-on, o a través de la vía oral, determina que una fracción significativa de la dosis administrada, en la mayoría de los casos es de más del 90%, sea eliminada a través de la

materia fecal. Las concentraciones logradas en heces son suficientes para ejercer un efecto dañino sobre el medio ambiente, ya que tienen la capacidad de eliminar interrumpir de desarrollo de una amplia variedad de insectos, principalmente dípteros y coleópteros, que crecen y viven en el excremento de los animales tratados y que juegan un papel importante como depredadores, polinizadores, degradadores de materia orgánica, y constituyen la dieta principal de otros animales, además de ser responsables del proceso de descomposición y dispersión de las heces.

### **2.2.10.7 CONTRAINDICACIONES**

Debe evitarse en la gestación y lactancia en perras. Además no debe utilizarse en perros con alteraciones en la barrera hematoencefálica (meningitis), que puedan aumentar la penetración de la ivermectina al SNC. No puede utilizarse en perros o cruces de la raza collie (Aparicio, 2003).

El efecto colateral al uso de la ivermectina puede ser la inmunoestimulación específica de los linfocitos T, lo cual puede incrementar el beneficio del producto (Sumano, 1997).

La resistencia a la ivermectina ha sido documentada en nematodos de grandes especies. Todavía no se sabe si esta restricción de hospedero se debe a la plasticidad genética de los helmintos, frecuencia del tratamiento, metabolismo del animal, métodos de manejo o una combinación de estas variables (Prescott, 2002).

### **2.2.11 PREVENCIÓN Y CONTROL**

Considerando la importancia de la parasitosis y su potencial zoonótico, se deben tomar en cuenta varias acciones para su prevención. Primero; se debe reducir la cantidad de heces de perros, sobre todo cachorros, que contaminan el medio ambiente y consecuentemente los alimentos. Esto se puede lograr disminuyendo las poblaciones caninas, principalmente las callejeras, con una cultura de dueños responsables y esterilización de machos y hembras. Segundo; el acopio de heces y su disposición de manera sanitaria, para que los huevos no se conviertan en larvas y evitar que los perros defecuen libremente en la calle. Y tercero; eliminar los gusanos de cachorros, hembras y perros adultos, previo diagnóstico coproparasitoscópico (Schantz, *et al.*, 1979).

Para evitar las infecciones se debe mantener alejados a los perros de zonas de juego infantil, playas y otros lugares públicos. Como mínimo los dueños deberían recoger los excrementos de sus perros y aplicar regularmente medidas antihelmínticas adecuadas. En determinadas circunstancias andar descalzos sobre superficies posiblemente contaminadas puede favorecer la infección.

El mantenimiento de condiciones higiénicas óptimas, es esencial para el control de parásitos, por lo que los suelos de perreras y las zonas de ejercicio deben mantenerse secos, limpios, desinfectados y sin grietas. Las superficies se pueden lavar con hipoclorito de sodio al 1%, o bien se puede emplear sosa caustica caliente o limpieza a base de vapor de agua a presión (Cordero, 1999; Foreyt, 1997; Kassai, 1999; Uquhart, 2001).

Debe adoptarse un sistema basado en la higiene regular y la terapia antihelmíntica a los cachorros que están mamando y a los perros adultos deben ser tratados cada 3 meses en zonas de alto riesgo (Uquhart, 2001).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

Contribuir al estudio de la actividad de fármacos antiparasitarios en la remoción de fases enquistadas de *Ancylostoma caninum*.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

Determinar la eficacia de la ivermectina como desparasitante sobre larvas enquistadas de *Ancylostoma caninum* aplicándola en diferentes intervalos de tiempo empleando dosis de 200 µg por vía subcutánea.

#### **3.3 HIPOTESIS**

Si la ivermectina es un desparasitante nematodocida cuando se aplica en una sola dosis deberá eliminar la totalidad de larvas enquistadas en los hospederos paraténicos cuando se suministra reiteradamente.

La ivermectina es incapaz de atravesar la barrera hematoencefálica, por lo tanto no afectará a las larvas que se encuentren en este tejido, esto a causa de su gran tamaño molecular y el alto grado de unión a proteínas plasmáticas. Esta distribución limitada al SNC parece ser el factor de diferenciación más importante en la toxicidad selectiva hacia los invertebrados y el amplio margen de seguridad para el hospedero mamífero. (Prescott, 2002, San Andrés, 2007).

## 4. MATERIALES Y METODOLOGÍA.

### 4.1 MATERIAL BIOLÓGICO

- i. Se utilizaron 40 ratones blancos cepa CD 1 de 3 meses de edad aproximadamente, los cuales fueron mantenidos en contenedores especiales cubriendo las especificaciones marcadas en la norma NOM-062-ZOO-1999, proporcionándoles agua y alimento *ad libitum*, con alimento especial para animales de laboratorio, (Lab Diet–Purina), cama de viruta de madera y sometidos a limpieza cada tercer día, esto en la unidad de aislamiento anexa al edificio de investigación de Campo 4 en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
- ii. Se utilizaron larvas 3 infectantes de *Ancylostoma caninum*; las cuales fueron obtenidas por cultivo a partir de tres cachorros con infección inducida, los cuales se alimentaban dos veces por día (croqueta Top Choice de cachorro – Malta cleyton) se mantuvieron alojados en jaulas metálicas individuales, que contaron con charolas inferiores que permitieron la recolección de las heces, de esa manera se facilitaba la limpieza de las mismas y de las instalaciones en general, la cual se realizaba diario, contaron con focos de luz incandescente para mantener una temperatura adecuada en temporada de frío y cortinas de lona para evitar filtraciones de corrientes de aire.

### 4.2 MATERIAL DE LABORATORIO

#### EQUIPO

- i. Microscopio compuesto binocular Marca Olympus modelo CHS.
- ii. Estufa bacteriológica Marca Macisa, modelo E 33 T.
- iii. Microscopio estereoscópico Leica 2000

#### REACTIVOS

- iv. Agua destilada
- v. Formol al 10%
- vi. Ácido Clorhídrico
- vii. Pepsina
- viii. Solución saturada de Na Cl con una densidad mínima de 1.18 grados Baume ( $\text{g/cm}^2$ )
- ix. Ivermectina al 1% ( Nombre comercial Iverfull–Aranda)

#### LABORATORIO

- x. Cajas de Petri
- xi. Tubos de vidrio para centrifuga
- xii. Jeringas de 10ml

- xiii. Jeringas insulínicas
- xiv. Gradillas
- xv. Pipetas Pasteur
- xvi. Cubreobjetos
- xvii. Portaobjetos
- xviii. Asa parasitológica
- xix. Micropipeta marca sacorex capacidad de 10 a 100µl
- xx. Jarra de 1L de capacidad
- xxi. Vasos de plástico
- xxii. Coladores de plástico
- xxiii. Cucharas de aluminio
- xxiv. Bolsas de polietileno para recolección de muestras
- xxv. Marcadores de aceite
- xxvi. Guantes de látex
- xxvii. Puntas para micropipeta
- xxviii. Probetas graduadas
- xxix. Vasos de precipitados

## OTROS

- xxx. Sonda para alimentación para neonatos
- xxxi. Gasas de algodón
- xxxii. Estuche y Equipo de disección

## 4.3 METODOLOGÍA

### 4.3.1 LOCALIZACIÓN

La recolección de muestras y los cultivos larvarios se llevaron a cabo en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Municipio de Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

### 4.3.2 CULTIVO LARVARIO DE *Ancylostoma caninum*

1. Se obtuvieron las heces de animales infectados con el parásito de manera natural, el diagnóstico de estos animales se hizo por medio de la técnica de flotación, la cual consiste en diluir una fracción de las heces en una solución saturada de Cloruro de Sodio (NaCl), esperar por 15 minutos y tomar una gota de la superficie con una asa parasitológica, sobreponerlo en un portaobjetos y observarlo al microscopio compuesto. Al observar los huevos de *Ancylostoma* se establece que es positivo.

2. Posterior a esto el resto de las heces fueron homogenizadas con la solución saturada de Cloruro de Sodio (NaCl), en jarras de 1L de capacidad y mezcladas con una cuchara de aluminio. Una vez mezclado se hizo pasar por una coladera para extraer todo el material no disuelto, todo este material sobrante fue puesto en bolsas de plástico y desechado. La solución que simulaba una flotación en grandes extensiones se pasó a una probeta graduada de plástico de 1L y se agregó solución saturada NaCl hasta el borde.
3. Después de 15 minutos con una cuchara de aluminio se extrajo la superficie de la solución, aproximadamente 15ml para obtener la mayor cantidad de huevos, la cual se colocó en una probeta de cristal de 500ml para el proceso de sedimentación.
4. La técnica de sedimentación consistió en agregar agua corriente en la probeta que contenían los 15ml de suspensión con estructuras parasitarias y se dejó reposar 20 minutos, después de ese proceso se decantó hasta que quedaran 100 ml de sedimento y se volvió a agregar agua corriente, este proceso se repitió hasta que el sobrenadante quedara totalmente transparente, después se decantó hasta obtener 30ml de sedimento aproximadamente.
5. Este sedimento se colocó en una caja Petri previamente identificada, y se aplicaron 2 a 3 bolos fecales para proveer de bacterias que sirven como alimento para el desarrollo de *Ancylostoma caninum*.
6. Las cajas se introdujeron a la estufa bacteriológica a una temperatura de 37°C para inducir el desarrollo de tercer estadio larvario y en un promedio de 7 días se evaluó la viabilidad de las larvas. Este tercer estadio se extrajo con una jeringa de 10mL desechable. Dicho concentrado se dio posteriormente a cada uno de los tres perros vía oral directamente imitando una de las vías de infestación natural del nematodo.
7. Se esperó por un periodo de 18 días para que el nematodo evolucionara, y una vez que se detectó la presencia de huevos blastomerados en las heces se procedió a realizar los cultivos para inocular a los ratones.
8. Se juntaron todas las muestras de 3 cachorros alojados en jaulas metálicas que contaban con charolas inferiores que permitieron la recolección de las heces. (20 gr por animal aproximadamente).
9. Las heces fueron sometidas a técnica de Flotación en vasos de plástico se agregó una cantidad moderada de heces (5 gramos por vaso) con solución saturada de Na Cl para la obtención de huevos de *A. caninum*. Estas flotaciones se llenaron hasta el borde del vaso para que las estructuras parasitarias fueran obtenidas con una asa parasitológica más fácilmente.
10. Las técnicas de concentración esta vez se realizaron por medio recolección con asas parasitológicas en cajas Petri las cuáles fueron llenadas con agua corriente, estas cajas se pusieron sobre el campo de un microscopio estereoscópico para observar la cantidad de huevos que se iban depositando, y evaluar la concentración.



**Fig. 7 Obtención, concentración y observación de huevos de *Ancylostoma caninum***

11. Cuando la mezcla se hacía turbia se extraía con una jeringa de 10ml el exceso de agua turbia de la superficie y se agregaba más agua corriente, así repetidamente hasta que había una gran cantidad de huevos y el medio quedaba claro.



**Fig. 8 Concentración de huevos de *Ancylostoma caninum***

12. En cada caja de Petri previamente identificada se aplicaron bolos de heces de ratón (2 Bolos) que proporcionaron bacterias que sirven como alimento para el desarrollo de *Ancylostoma caninum*.

13. Se colocó en estufa bacteriológica a una temperatura menor a los 30° C para inducir el desarrollo del tercer estadio larvario en un promedio de 7 días, se evaluó la viabilidad de las larvas.
14. Este procedimiento se realizó 3 veces a la semana por 3 meses con la finalidad de obtener la cantidad necesaria de larvas para inocular a los ratones. Hecho esto se inoculo a los ratones CD 1 para inducir la infección.

#### **4.3.3 DETERMINACIÓN DE VIABILIDAD Y CONTEO LARVARIO**

1. La viabilidad se estableció por medio de observación al microscopio de las larvas para evaluar la motilidad de los organismos larvarios en el medio líquido (movimiento serpenteante activo).
2. A la observación de diferentes cajas de Petri con concentraciones altas de larvas activas se realizaron diez conteos de volúmenes definidos para determinar el promedio de larvas activas por volumen, con una micropipeta se tomaron 10 muestras de 50µl cada una y se colocaron en portaobjetos y se observó al microscopio buscando larvas con movimiento serpenteante activo.
3. Estas 10 tomas se sumaron y se dividieron entre 10 para obtener un promedio de larvas por 50 µl. Tomando en cuenta el volumen total de líquido en cada caja de Petri se obtuvo el total de larvas para la inoculación.



**Fig. 9 Larva de *Ancylostoma caninum* obtenida por cultivo en el laboratorio (10X).  
(Laboratorio de parasitología de FES Cuautitlán, 2014).**

No. de conteo	Larvas viables contabilizadas	
1	6	
2	8	
3	9	
4	13	
5	6	
6	8	
7	9	
8	10	
9	6	
10	16	
Suma	91	Promedio 83/10=9.1

**Tabla 4. Promedio obtenido del conteo de larvas**

El promedio de larvas por cada 50µl es de 9.1 larvas; en cada 100µl hay 18.2 larvas; en cada 1000µl (1ml) hay 182 larvas. Para la inoculación de los 35 ratones se necesitó un total de 17500 larvas; entonces para obtener este resultado se necesitó la siguiente operación:

182 larvas ----- 1ml

17500 larvas ----- X

**X= 96ml total**

La cantidad de suspensión de larvas se determinó en base a la cantidad detectada por ml.

182 larvas ----- 1ml

500 larvas ----- X

**X = 2.7ml por animal**

Esta inoculación se hizo en 2 días, esto por la cantidad de agua a inocular a los ratones y se hizo en tres sesiones por día:

Día 1: .45ml en tres sesiones.

Día 2: .45ml en tres sesiones.

#### **4.3.4 INOCULACIÓN Y GRUPOS EXPERIMENTALES.**

1. Los ratones fueron inoculados con 500 larvas activas viables utilizando una sonda gástrica para alimentación de lactantes.

2. Se formaron 8 grupos de animales constituidos por 5 ratones cada uno. 40 animales en total.
3. El primer grupo fue formado por animales no inoculados y no tratados (NI Y NT) que fueron utilizados como grupo control negativo.
4. El segundo grupo fue integrado por animales inoculados con 500 larvas tres (L3) de *Ancylostoma caninum* viables y no tratados (SI y NT), para utilizarlos como controles positivos.
5. Los 6 grupos restantes fueron inoculados con 500 larvas tres (L3) de *Ancylostoma caninum* viables y correspondieron a los grupos inoculados y tratados, con una dosis de 200µg de ivermectina vía subcutánea (SI y ST).
6. Para aplicar el tratamiento, se tomaron 10 ratones de los 40 disponibles, esto se hizo al azar. El criterio utilizado fue su condición corporal (CC), se tomaron 5 ratones con la condición corporal más baja, y 5 ratones con la condición corporal más alta. Y los datos fueron utilizados de la siguiente manera:

<b>Ratones con baja CC</b>	<b>Ratones con alta CC</b>	
1. 35.1g	1. 45,8g	
2. 32g	2. 41g	
3. 36g	3. 47.5g	
4. 35.1g	4. 44.3g	
5. 25.1g	6. 43.5g	
<b>Suma 163.3g</b>	<b>Suma 222.1g</b>	<b>Suma de ambos 385.54g</b>

**Tabla 5. Sumatoria de los pesos para obtener el promedio.**

Ambos resultados fueron sumados y divididos entre 10 que fue el número de ratones pesados, entonces  $385.54g/10=38.54g$  promedio de peso. Ese fue nuestro peso utilizado para dosificar el medicamento.

7. Posteriormente se estableció que la dosis aplicada a cada ratón seria de 200µg/Kg, la dosis se obtuvo con una regla de tres obteniendo el resultado:

$$200\mu\text{g} \text{ ----- } 1000\text{g}$$

$$X \text{ ----- } 38.4\text{g}$$

$$X = 7.7\mu\text{g de ivermectina}$$

8. La ivermectina al 1% (Iverfull – Aranda), fue diluida con glicerín formol y propelin glicol, en base de 4:6 respectivamente, para bajar la concentración y llegar a la dosis deseada, esto se hizo de la siguiente manera:

10000µg Ivermectina ----- 1mL

X ----- .1mL

$$X = 1000\mu\text{g}$$

Este .1ml de Ivermectina se diluyo con .9ml de glicerín formol más propelin glicol, formando 1ml, del cual se obtiene .1ml nuevamente:

1000µg ivermectina ----- 1mL

X ----- .1mL

$$X = 100\mu\text{g}$$

Se volvió a diluir este .1ml de Ivermectina con .9ml de glicerín formal más propelin glicol, formando nuevamente 1ml, del cual ya se obtuvo la dosis adecuada en ml para aplicar a cada ratón en base a su tamaño:

100µg ivermectina ----- 1mL

7.7µg ----- X

$$X = .077\text{ml ivermectina}$$

9. A partir de aquí se comenzó a dar tratamiento a cada ratón con una dosis de 7.7µg ivermectina (.077ml) por animal, esto se realizó de manera SC, con jeringas insulínicas.
10. **Día 1.** Se inició el procedimiento para la inoculación de los ratones (35); .45ml en tres sesiones: Grupo control positivo (SI y NT) y los 6 grupos inoculados y con tratamiento (SI y ST).
11. **Día 2.** Inoculación de los 35 ratones nuevamente: .45ml en tres sesiones. Grupo control positivo (SI y NT) y los 6 grupos inoculados y con tratamiento (SI y ST).



**Fig. 10 Tubos con órganos en jugo gástrico (García 2016).**

12. **Día 30.** Este día se inició el tratamiento con ivermectina a cada ratón de los 6 grupos que recibirían tratamiento (.077ml/animal).
13. **Día 60.** Grupo control negativo (NI y NT). Estos fueron sacrificados por dislocación cervical, para retirar de su cuerpo el hígado, pulmones, riñones, corazón, cerebro y musculo esquelético (1g), estos órganos fueron fragmentados finamente y se envolvieron en gasa de algodón y se sometieron al proceso de digestión artificial en tubos individuales utilizando jugo gástrico (6 ml de ácido clorhídrico concentrado y 3 g de pepsina en 1L de agua destilada), se colocaron en una estufa bacteriológica a una temperatura de 30°C por 24 horas. Se sacaron los tubos y se agitó el contenido y se sometieron a una segunda incubación por 24 horas, pasado ese lapso se retiraron las gasas con los restos de tejido y se esperó a que sedimentara el contenido, se decantó el sobrenadante para eliminar el jugo gástrico y fue sustituido por formol al 10% que fue empleado como preservador mezclándolo con el sedimento retenido en los tubos. A cada revisión de sedimento se retiró el sobrenadante de formol y se evaluó al microscopio con la finalidad de contabilizar las larvas. Se procedió al sacrificio del grupo que fue inoculado y que no recibió tratamiento con ivermectina, grupo control positivo (SI y NT) y también al primer grupo con un tratamiento (SI y ST, 1 Tratamiento). Se sometió al mismo procedimiento de dislocación cervical y extraer sus órganos para someterlos a digestión artificial. Se aplicó tratamiento con .77ml de ivermectina vía SC al resto de los grupos.

14. **Día 90.** Se procedió al sacrificio del segundo grupo inoculado y con 2 tratamiento (SI y ST, 2 Tratamientos). Se obtuvieron sus órganos y se sometieron a digestión artificial. Se aplicó tratamiento con .77ml de ivermectina SC al resto de los grupos.
15. **Día 120.** Se procedió al sacrificio del tercer grupo inoculado y con tres tratamiento (SI y ST, 3 Tratamientos). Se obtuvieron sus órganos y se sometieron a digestión artificial. Se aplicó tratamiento con .77ml de ivermectina SC al resto de los grupos.
16. **Día 150.** Se procedió al sacrificio del cuarto grupo inoculado y con cuatro tratamientos (SI y ST, 4 Tratamientos). Se obtuvieron sus órganos y se sometieron a digestión artificial. Se aplicó tratamiento con .77ml de ivermectina SC al resto de los grupos.
17. **Día 180.** Se procedió al sacrificio del quinto grupo inoculado y con cinco tratamientos (SI y ST, 5 Tratamientos). Se obtuvieron sus órganos y se sometieron a digestión artificial. Se aplicó tratamiento con .77ml de ivermectina SC al último grupo de animales.
18. **Día 210.** Se procedió al sacrificio del sexto y último grupo de animales si inoculado y con seis tratamientos (SI y ST, 6 Tratamientos). Se obtuvieron sus órganos y se sometieron a digestión artificial.

Se comenzó a hacer el conteo de larvas encontradas en el sedimento de cada uno de los tubos obtenidos. Para poder determinar el porcentaje de eficacia de la ivermectina contra la disminución de larvas, se utilizó la ecuación de Wescott:

$$\%E = \frac{Y - Z}{Y} \times 100$$

Dónde: % E = % de eficacia

Y = Total de larvas detectadas en los animales antes del tratamiento

Z = Total de larvas detectadas en los animales después del tratamiento

## 5. RESULTADOS

En días intermedios de sacrificio y aplicación de tratamientos se realizó la observación al microscopio compuesto para el conteo de larvas en cada órgano.



**Fig. 11 Larva de *Ancylostoma caninum* enquistada en musculo de ratón con dos tratamientos de ivermectina (García, 2016)**

Todos los resultados obtenidos se ordenaron en tablas para su mayor comprensión, y estos resultados fueron sometidos a los análisis estadísticos por medio de la técnica de **Análisis de varianza**, y la prueba de **Tukey**, con el fin de establecer las diferencias entre los diversos grupos, en ambas pruebas se utilizó un  $\alpha=0.05$ .

En el proceso experimental se formaron 8 grupos de animales constituidos por 5 ratones cada uno, 40 animales en total.

El primer grupo fue formado por animales no inoculados y no tratados (NI y NT) que fueron utilizados como grupo control negativo.

El segundo grupo fue integrado por animales inoculados con 500 larvas tres (L3) de *Ancylostoma caninum* viables y no tratados (SI y NT), para usarlos como controles positivos.

Los 6 grupos restantes fueron inoculados con 500 larvas tres (L3) de *Ancylostoma caninum* viables y correspondieron a los grupos inoculados y tratados, con la dosis de 200 $\mu$ g de ivermectina vía subcutánea (SI y ST).

Se procesaron 6 diferentes tejidos de cada ratón, analizando un total de 240 muestras de los 40 ratones.

En el caso del músculo esquelético se determinó el promedio de los pesos de las carcasas (Cuerpo sin órganos ni piel) y el valor de las larvas en el gramo de musculo obtenido se

multiplicó por este peso promedio, esto en los diferentes lotes, esto se hizo de la siguiente manera:

Grupo control positivo, inoculado con 1 tratamiento.

Ratón	Peso de carcasa	Promedio
1	17.3g	
2	18.9g	
3	19,6g	
4	21.8g	
5	18g	Suma= 95.6/5 = <b>19.12</b>

**Tabla 6. Peso de carcasa de cada ratón con promedio para obtener total de larvas en musculo esquelético.**

Ejemplo: Ratón 1 Larvas en 1g de musculo esquelético:  $3 \times 19.12 = 57.36$  Larvas

#### RESULTADOS POR GRUPOS.

Ratón	Hígado	Corazón	Riñón	Pulmón	Muslo	Cerebro	Suma
<b>1</b>	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<b>2</b>	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<b>3</b>	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<b>4</b>	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<b>5</b>	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<b>Suma</b>	<b>0</b>						
<b>Promedio</b>	<b>0</b>						

**Tabla 7. Resultados obtenidos en el grupo de ratones no inoculados y no tratados.**

1. Grupo control negativo (NI y NT). A la revisión de los órganos del grupo no inoculado y no tratado, no se encontró ninguna larva en tejido, este grupo se estableció con la finalidad de verificar que los animales usados en la experimentación estaban libres del parásito antes de iniciar el experimento

Ratón	Hígado	Corazón	Riñón	Pulmón	Muslo	Cerebro	Suma
1	3	3	4	4	221.4	7	242.4
2	3	2	4	4	221.4	6	240.4
3	4	2	4	2	147.6	7	166.6
4	3	4	5	1	147.6	5	165.6
5	1	2	1	3	110.7	4	121.7
Suma	14	13	18	14	848.7	29	936.7
Promedio	2.8	2.6	3.6	2.8	169.74	5.8	187.34

**Tabla 8. Resultados obtenidos del análisis de las digestiones de diversos tejidos de ratones inoculados con 500 larvas infectantes de *Ancylostoma caninum* y no sometidos a tratamiento.**

2. Grupo control positivo (inoculado y no tratado). Este grupo fue tomado como referencia al no someterlo a tratamiento alguno, en este grupo se detectaron larvas de *Ancylostoma caninum* en todos los ratones en los diferentes órganos, se observa que la mayor cantidad de larvas están en músculo esquelético y cerebro, donde hay mayor tendencia a asentarse.

El promedio de asentamiento global de las larvas en base al grupo control positivo fue de 187.34 larvas en todos los tejidos, en el resto de los animales de los diversos grupos se destacó la tendencia de las larvas a depositarse en cerebro y músculo esquelético, y conforme se fueron aplicando los tratamientos se observó una disminución en los demás tejidos.

Ratón	Hígado	Corazón	Riñón	Pulmón	Muslo	Cerebro	Suma
1	2	3	3	1	57.36	4	70.36
2	2	3	2	3	38.24	3	51.24
3	1	1	2	1	76.48	4	85.48
4	0	2	2	2	19.12	1	26.12
5	1	1	2	2	38.24	2	46.24
Suma	6	10	11	9	229.24	14	279.44
Promedio	1.2	2	2.2	1.8	45.8	2.8	55.8

**Tabla 9. Resultados de ratones inoculados con 500 larvas infectantes de *Ancylostoma caninum* y sometidos a un tratamiento con 200µg/Kg de ivermectina.**

3. Grupo 1, inoculado y sometido a un tratamiento con 200µg/Kg de ivermectina aplicado el día 30. Este grupo de animales se sacrificó a los 60 días pos – inoculación. Se observa una tendencia mayor de presencia de larvas en músculo esquelético y el cerebro, en músculo encontramos un promedio de la sumatoria de 45.8 larvas y en cerebro de 2.8 larvas, a partir de aquí se determinó el porcentaje de eficacia por medio de la técnica de Wescott el cual fue en este grupo de un 70.1% comparándolo con el grupo control positivo.

Porcentaje de eficacia del grupo 1 SI y ST con un tratamiento de ivermectina

$$\% E = (936.7 - 279.4/936.7)(100) = 70.1\%$$

Ratón	Hígado	Corazón	Riñón	Pulmón	Muslo	Cerebro	Suma
1	0	0	1	1	0	2	4
2	0	1	0	0	58.32	2	61.32
3	0	0	0	2	0	1	3
4	0	2	0	2	19.44	1	24.44
5	0	0	0	0	0	1	1
Suma	0	3	1	5	77.76	7	93.76
Promedio	0	0.6	0.2	1	15.5	1.4	18.7

Tabla 10. Resultados de ratones inoculados con 500 larvas infectantes de *Ancylostoma caninum* y sometidos a dos tratamientos con 200µg/Kg de ivermectina.

4. Grupo 2, inoculado y tratado en dos ocasiones con intervalo de 30 días. El sacrificio se realizó a los 90 días postinoculación. En estos animales se mantiene la tendencia de asentamiento larvario en el cerebro y el músculo a pesar de que en este último en algunos ratones ya no se observaron larvas. En los animales de este grupo ya no se detectaron larvas en hígado, en corazón solo 3, riñón 1 y pulmón 5. El porcentaje de eficacia detectado en este grupo fue de un 89.9% comparándolo con el grupo inoculado y no tratado.

Porcentaje de eficacia del grupo 2 SI y ST con dos tratamientos de ivermectina

$$\% E = (936.7 - 93.76/936.7)(100) = 89.9\%$$

Ratón	Hígado	Corazón	Riñón	Pulmón	Muslo	Cerebro	Suma
1	0	0	0	0	0	1	1
2	0	1	1	0	32.24	1	35.24
3	1	0	0	0	16.12	3	20.12
4	0	0	0	0	16.12	1	17.12
5	0	1	0	0	0	2	3
Suma	1	2	1	0	64.48	8	76.48
Promedio	0.2	0.4	0.2	0	12.8	1.6	15.2

Tabla 11. Resultados de ratones inoculados con 500 larvas infectantes de *Ancylostoma caninum* y sometidos a tres tratamientos con 200µg/Kg de ivermectina

5. Grupo 3, inoculado y tratado en tres ocasiones (30, 60 y 90 días postinoculación). El sacrificio se realizó a los 120 días postinoculación. En los animales de este grupo se

mantuvo la tendencia al depósito de larvas en músculo esquelético y cerebro, no se observaron larvas en pulmón, el hígado y riñón presentaron 1 larva y en corazón 2 larvas, a diferencia del grupo anterior se observa disminución de larvas en todos los órganos, excepto en hígado y cerebro. El porcentaje de eficacia fue de 91.8% al comparar con el grupo inoculado y no tratado.

Porcentaje de eficacia del grupo 3 SI y ST con tres tratamientos de ivermectina.

$$\% E = (936.7 - 76.48/936.7)(100) = 91.8\%$$

Ratón	Hígado	Corazón	Riñón	Pulmón	Muslo	Cerebro	Suma
1	0	0	0	0	17.34	0	17.34
2	0	0	0	0	0	2	2
3	0	0	0	0	17.34	0	17.34
4	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0
<b>Suma</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>34.68</b>	<b>2</b>	<b>36.68</b>
<b>Promedio</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>6.9</b>	<b>0.4</b>	<b>7.3</b>

**Tabla 12. Resultados de ratones inoculados con 500 larvas infectantes de *Ancylostoma caninum* y sometidos a cuatro tratamientos con 200µg/Kg de ivermectina.**

- Grupo 4 inoculado y tratado en cuatro ocasiones (30, 60, 90 y 120 días postinoculación). El sacrificio se realizó a los 150 días postinoculación. En este cuadro se observa la tendencia a mantenerse las larvas en músculo y cerebro, ya sin presencia de larvas en algunos ratones, negativos en hígado, corazón, riñones y pulmón en todos los individuos. El porcentaje de eficacia detectado fue de 96.0% comparado con el grupo de animales inoculados y no tratados. El promedio de asentamiento es de 7.3 y se observa que sigue disminuyendo.

Porcentaje de eficacia del grupo 4 SI y ST con cuatro tratamientos de ivermectina.

$$\% E = (936.7 - 36.68/936.7)(100) = 96.0\%$$

Ratón	Hígado	Corazón	Riñón	Pulmón	Muslo	Cerebro	Suma
1	1	0	0	1	0	1	3
2	0	0	0	2	0	2	4
3	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	19.74	1	20.74
5	0	0	0	0	0	0	0
Suma	1	0	0	3	19.74	4	27.74
Promedio	0.2	0	0	0	3.9	0.8	5.5

**Tabla 13. Resultados de ratones inoculados con 500 larvas infectantes de *Ancylostoma caninum* y sometidos a cinco tratamientos con 200µg/Kg de ivermectina.**

7. Grupo 5, inoculado y tratado en cinco ocasiones (30, 60, 90, 120 y 150 días postinoculación). El sacrificio se realizó a los 180 días postinoculación. En este grupo se observa una mayor cantidad de larvas en musculo y cerebro, en el ratón 1 se observan larva en hígado pulmón y cerebro, en el ratón dos en pulmón y cerebro y en el cuarto en muslo y cerebro. Nos damos cuenta que en la mayoría sigue siendo el cerebro el órgano de tendencia larvaria. El porcentaje de eficacia es del 97.0% en base al grupo control positivo y este grupo con 5 tratamientos. El promedio de asentamiento es de 5.5.

Porcentaje de eficacia del grupo 5 SI y ST con cinco tratamientos de ivermectina.

$$\% E = (936.7 - 27.74/936.7)(100) = 97.0\%$$

Ratón	Hígado	Corazón	Riñón	Pulmón	Muslo	Cerebro	Suma
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0
Suma	0	0	0	0	0	0	0
Promedio	0	0	0	0	0	0	0

**Tabla 14. Resultados de ratones inoculados con 500 larvas infectantes de *Ancylostoma caninum* y sometidos a seis tratamientos con 200 µg/Kg de ivermectina.**

8. Grupo 6, inoculado y tratado en seis ocasiones (30, 60, 90, 120, 150 y 180 días postinoculación). El sacrificio se realizó a los 210 días postinoculación. El resultado de larvas en este grupo fue negativo para todos los ratones. El porcentaje de eficacia

obtenido fue del 100% comparado con el grupo de animales inoculados y no sometidos a tratamiento.

Porcentaje de eficacia del grupo 6 SI y ST con seis tratamientos de ivermectina.

$$\% E = (936.7 - 0/936.7)(100) = 100\%$$

Ratón	Control (-)	Control (+)	Gpo. 1	Gpo. 2	Gpo. 3	Gpo. 4	Gpo. 5	Gpo. 6	Suma
1	0	242.4	70.36	4	1	17.34	3	0	338.1
2	0	240.4	51.24	61.32	35.24	2	4	0	394.2
3	0	166.6	85.48	3	20.12	17.34	0	0	292.54
4	0	165.6	26.12	24.44	17.12	0	20.74	0	254.02
5	0	121.7	46.24	1	3	0	0	0	171.94
Suma	0	936.7	279.44	93.76	76.48	36.68	27.74	0	<b>1450.8</b>
Promedio	0	187.34	55.8	18.7	15.2	7.3	5.5	0	290.16

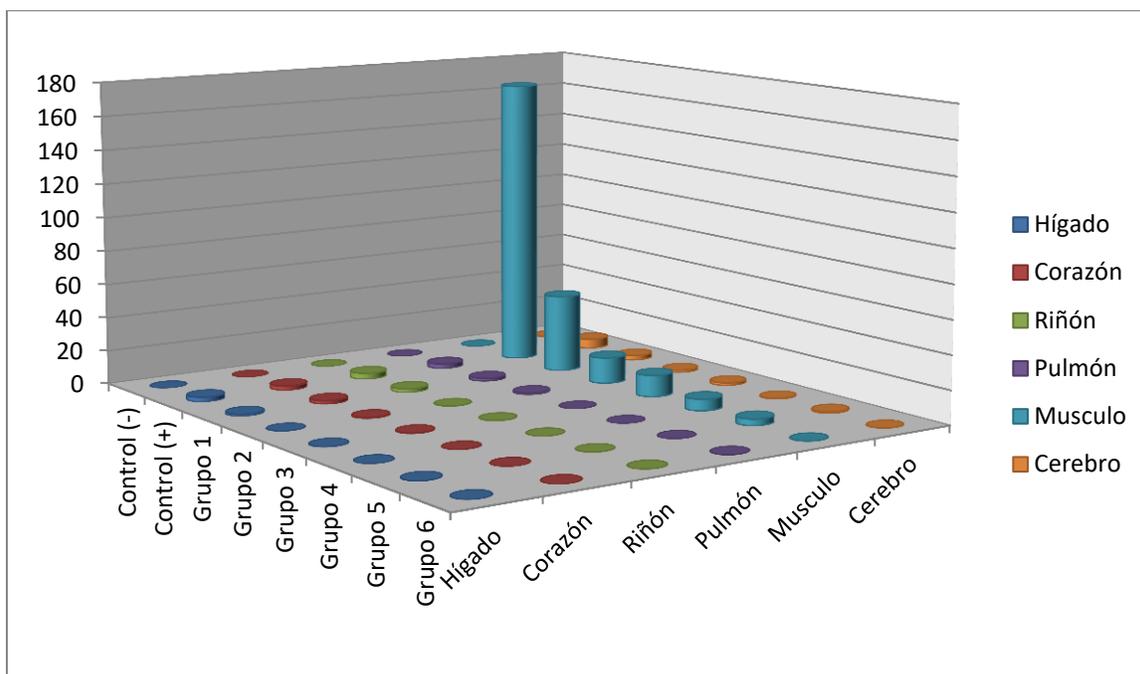
**Tabla 15. Total de larvas recuperadas en todos los grupos por número de ratón**

En la tabla 15 se observa el número de larvas encontradas en todos los grupos y cada uno de los ratones, así como la suma y los promedios de cada uno de los grupos, se observa que el número total de larvas encontradas durante todo el experimento fue de 1450.8 larvas, esto nos indica que del total de larvas inoculadas a todos los grupos (17500 larvas), solo se recuperó el 8.29% de todas las larvas.

No. de larvas							
GRUPO	HÍGADO	CORAZÓN	RIÑÓN	PUMÓN	MUSCULO	CEREBRO	SUMA
Control (-)	0	0	0	0	0	0	0
Control (+)	14	13	18	14	848.7	29	936.7
Grupo 1	6	10	11	9	229.24	14	279.24
Grupo 2	0	3	1	5	77.76	7	93.76
Grupo 3	1	2	1	0	64.48	8	76.48
Grupo 4	0	0	0	0	34.68	2	36.68
Grupo 5	1	0	0	3	19.74	4	27.74
Grupo 6	0	0	0	0	0	0	0
SUMA	22	28	31	31	1274.6	64	1450.6
PROMEDIO	<b>2.75</b>	<b>3.5</b>	<b>3.9</b>	<b>3.9</b>	<b>159.3</b>	<b>8</b>	<b>181.3</b>

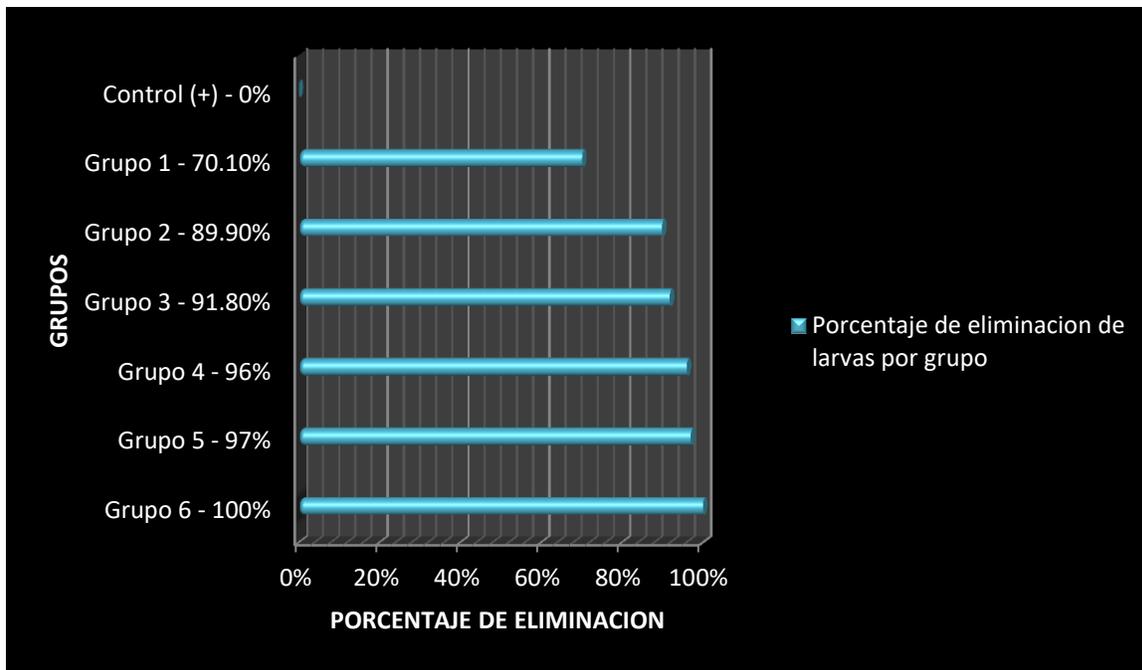
**Tabla 16. Promedio de la suma de larvas de *Ancylostoma* obtenidos de todos los tejidos de cada uno de los grupos**

En la tabla 16 se observa como hay una disminución gradual del número de larvas en cada grupo, conforme se aplicaron los tratamientos con ivermectina. También se observa como el mayor número de larvas se concentraba en músculo y cerebro y a pesar de eso también hay una disminución gradual en ambos órganos, al final de los tratamientos también el cerebro queda sin larvas. En los demás órganos se aprecia un paso de larvas esporádico.



**Gráfica 1. Promedio de larvas de *Ancylostoma caninum* obtenidas en los tejidos de todos los grupos.**

En la gráfica 2 se observa el promedio de larvas encontradas en cada uno de los grupos y de sus órganos respectivos. También esta grafica es útil para comparar los resultados de cada tratamiento con ivermectina y observar los grados de eficacia, por grupo y por órgano.



**Grafica 2. Porcentaje de la eficacia de la ivermectina en base al porcentaje de eliminación de larvas.**

En la gráfica 3 se pueden comprender mejor los promedios de eficacia de la ivermectina en los diferentes grupos experimentales incluyendo el control positivo, donde el resultado es del 0% ya que no recibió tratamiento, podemos ver que el porcentaje de eliminación de larvas va aumentando en cada tratamiento, hasta llegar al grupo 6 donde la eficacia fue del 100% al haber eliminado todas las larvas.

#### TABLA DE ANOVA

F.V.	g.l	SC	CM	Fc	F $\alpha$ = 0.05%
TRATAMIENTOS	6	134311.9	22385.3	36.4	2.45
ERROR	28	17186.2	613.7		
TOTAL	34	151498.1			

**Tabla 17. Tabla de ANOVA aplicada a los valores del número de larvas de *Ancylostoma caninum* encontradas en los grupos que recibieron tratamiento.**

De los resultados de la tabla de ANOVA general se definen las siguientes hipótesis:

H<sub>0</sub> en la cual los tratamientos no actúan sobre las larvas.

H<sub>1</sub> en la cual los tratamientos si actúan sobre las larvas.

Como  $F_c = 36.4 > F_{\alpha} = 2.45$  se rechaza la  $H_0$ , por lo que existe suficiente evidencia estadística de que la ivermectina tiene efecto contra las larvas de *Ancylostoma caninum* enquistadas en los tejidos de los ratones.

### PRUEBA DE TUKEY

Esta prueba fue aplicada ya que permite hacer una comparación de medias honesta en la cual se obtiene el valor de la diferencia mínima significativa honesta (DMSH) para hacer la comparación entre grupos.

El valor obtenido después de aplicar la fórmula fue de 47.8 por lo que la diferencia entre 2 medias que excedan este valor se considera estadísticamente significativa.

COMPARACION	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
Control + - Control -	$187.34 - 0 = 187.34$	Control + > Control -
Control + - Grupo 6	187.34	Control + > Grupo 6
Control + - Grupo 5	181.84	Control + > Grupo 5
Control + - Grupo 4	180.04	Control + > Grupo 4
Control + - Grupo 3	172.14	Control + > Grupo 3
Control + - Grupo 2	168.64	Control + > Grupo 2
Control + - Grupo 1	131.54	Control + > Grupo 1
Grupo 1 - Control -	55.8	Grupo 1 > Control -
Grupo 1 - Grupo 6	55.8	Grupo 1 > Grupo 6
Grupo 1 - Grupo 5	50.3	Grupo 1 > Grupo 5
Grupo 1 - Grupo 4	48.5	Grupo 1 > Grupo 4
Grupo 1 - Grupo 3	40.6	No significativo
Grupo 1 - Grupo 2	37.1	n. s.
Grupo 2 - Control -	18.7	n. s.
Grupo 2 - Grupo 6	18.7	n. s.
Grupo 2 - Grupo 5	13.2	n. s.
Grupo 2 - Grupo 4	11.4	n. s.
Grupo 2 - Grupo 3	3.5	n. s.
Grupo 3 - Control -	15.2	n. s.
Grupo 3 - Grupo 6	15.2	n. s.
Grupo 3 - Grupo 5	9.7	n. s.
Grupo 3 - Grupo 4	7.9	n. s.
Grupo 4 - Control -	7.3	n. s.
Grupo 4 - Grupo 6	7.3	n. s.
Grupo 4 - Grupo 5	1.8	n. s.
Grupo 5 - Control -	5.5	n. s.
Grupo 5 - Grupo 6	5.5	n. s.
Grupo 6 - Control -	0	n. s.

**Tabla 18. Tabla de comparación entre medias.**

## 6. DISCUSIÓN

La búsqueda de un antiparasitario ideal que sea efectivo contra un espectro amplio de géneros, capaz de eliminar a la totalidad de los organismos con una sola aplicación, que sea libre de efectos tóxicos o colaterales, de dosificación sencilla, seguro y económico ha llevado a que los investigadores estudien una gran cantidad de moléculas y realicen una gran cantidad de evaluaciones de una amplia gama de fármacos con resultados variados en términos de efectividad, que ha permitido detectar al paso del tiempo variaciones en el comportamiento que siguen estas sustancias, esto incluye en algunos casos el desarrollo de diferentes grados de resistencia ya sea colateral (entre fármacos del mismo grupo) o múltiple (contra fármacos de diferentes grupos), siendo la primera más frecuente (Kassai, 2002).

En este estudio se planteó determinar el nivel de actividad de la ivermectina en dosis de 200 µg/Kg por vía subcutánea sobre las larvas de *Ancylostoma caninum* aplicando hasta seis tratamientos con intervalos de 30 días.

Se trabajó con un total de 40 ratones de los cuales 35 fueron inoculados con 500 larvas de *Ancylostoma caninum* cada uno, dando un total de 17500 larvas, de este total se logró la recuperación de 1450.8 larvas, lo que significa un 8.29% del total de larvas lo que representa un bajo resultado de recuperación a diferencia de lo que ocurre por ejemplo con *Toxocara canis*, que es un nematodo que tiene mucha habilidad para establecerse en los diferentes tejidos de sus hospederos y que puede estar asociado a la vía de inoculación regularmente empleada por estos organismos ya que su fase infectante regularmente ingresa por vía oral y además está adaptada a una multitud de hospederos paraténicos en tanto *Ancylostoma caninum* tiene como vía de ingreso más frecuente la transcutánea que demanda una interacción fuerte con varios tipos de tejido por lo que sus posibilidades de éxito se reducen además del potencial que tenga de instalación en los roedores como hospederos paraténicos.

Como se puede observar en los cuadros de resultados los tejidos por los que mostraron mayor tendencia a depositarse las larvas fueron músculo esquelético y cerebro, el promedio de larvas recuperadas en musculo esquelético fue de 159.3 larvas por grupo, mientras que en cerebro el promedio de recuperación fue de 8 por grupo. En el estudio realizado por Bhopale y Jhori (1978) se detectó que hasta el 45% de las larvas inoculadas estaban presentes en tejido muscular al día 9 post inoculación. En este estudio en el grupo control (+) se recuperaron 848.7 larvas al sacrificio a los 60 días lo cual nos indica un 58.4 % del total recuperado. En otro estudio realizado por Vardhani y Jhori (1981), no se detectaron larvas en el cerebro, aunque en este experimento sí; desde el grupo control (+) hubo una recuperación de 29 larvas lo cual equivale al 1.99% de las recuperadas, esto puede ser a consecuencia del tiempo de revisión o sacrificio, el cual no fue el suficiente para permitir la

migración hasta el cerebro, ya que nuestro primer sacrificio fue hasta el día 60 postinoculación.

La afinidad de las larvas de *Ancylostoma caninum* por el cerebro, puede ser asociado al comportamiento que siguen otros nematodos que usan este tipo de tejido para evadir los diferentes mecanismos de la respuesta inmune montada por el hospedero; particularmente de los mecanismos inflamatorios que se desarrollan en esta área que regularmente es de baja intensidad y que puede hacerse eficiente cuando la infección se hace crónica, por contar con una respuesta primaria ligada a las células de la microglia, las cuales a diferencia de otras células no tiene la capacidad de regenerarse, por lo que este tejido resulta un lugar de fácil asentamiento para las larvas como ocurre en el caso de las de *Toxocara canis* que de algún modo resulta un mecanismo de protección para los organismos (González, 2006).

En el caso de valores encontrados en los animales de los grupos con varios tratamientos en los que se observó una marcada disminución de larvas en cerebro, donde teóricamente no penetra la ivermectina debido a la existencia de la barrera hematoencefálica, se puede deducir que las larvas enquistadas en cerebro se reactivan al ser eliminadas larvas de los demás órganos, haciendo que empiecen a migrar nuevamente en tejido muscular, pulmonar y hepático. Esto se deduce por los resultados del grupo 5 donde se vuelven a encontrar larvas en estos dos órganos. Esto nos indica que los patrones de migración de *Ancylostoma caninum* son muy variados, en el cuerpo de los hospederos paraténicos.

Considerando los resultados obtenidos en este trabajo se obtuvo un 100% de efectividad de la ivermectina sobre las larvas de *Ancylostoma caninum*, en los diferentes órganos de los ratones, donde el promedio fue disminuyendo gradualmente. La mayor parte de la eliminación de larvas se manifiesta desde el primer tratamiento, teniendo un porcentaje de efectividad del 70.01% en el grupo 1, ya en los siguientes tratamientos se observó una disminución gradual menor; grupo 2: 89.9% solo un 19.8% de avance, en el grupo 3: 91.8%, solo un 1.9% de avance, hasta llegar a un 100 % en el grupo 6. En uno de los pocos estudios disponibles realizado por Anderson, (1982), se trabajó con una dosis de 50µg/kg PV alcanzando un 99 % de eficacia contra *Ancylostoma caninum* en su forma larvaria y adulta, estos valores de eficacia pueden ser diferentes a causa de que el estudio se desarrolló directamente con perros y solo emplearon una dosis de tratamiento, además el estudio fue realizado en una época en la que la ivermectina se empleaba casi solo en rumiantes y equinos y era incipiente su empleo en los perros de modo que al ser una molécula totalmente nueva presentaba el potencial de eliminar a literalmente a todos los organismos susceptibles, entonces, si consideramos el comportamiento a la baja en los resultados de actividad que se ha venido observando con *Toxocara canis* nematodo que ha sido expuesto muy ampliamente a esta molécula el comportamiento justamente corresponde con los resultados que se obtuvieron en este estudio, por lo que se requiere de múltiples tratamiento para que se logre una completa remoción de organismos del cuerpo de hospederos paraténicos.

En otro trabajo realizado por Ruiz (2011), que fue enfocado a eliminar fases adultas se determinó que empleando una combinación de diferentes antiparasitarios (febendazol, pirantel, prazicuantel e ivermectina), suministrados en una sola dosificación se obtuvo una eficacia de eliminación de fases adultas de *Ancylostoma caninum* de un 91.57%; cabe destacar que este trabajo se realizó con diferentes variaciones, la primera es que se hizo el trabajo en perros que son los hospederos que alojan la fase adulta a nivel intestinal, la segunda fue una sola dosis pero dado que el principio activo se distribuye por vía hematológica y alcanza valores plasmáticos elevados y que además se trata de organismos hematófagos resulta muy efectivo sobre las fases adultas del parásito resultando esto en una elevada eliminación del parásito con el empleo de una sola dosis.

## 7. CONCLUSIONES

En este estudio se obtuvo el efecto deseado de la remoción absoluta de fases larvianas de *Ancylostoma caninum*, en ratones de la cepa CD – 1 con una dosis mensual de 200µg/kg.

Los resultados obtenidos en el ensayo muestran que la aplicación de ivermectina vía subcutánea, actúa sobre fases larvianas de *Ancylostoma caninum* cuando se emplea en dosis repetitivas a intervalos mensuales en dosis de 200µg/kg, pudiendo eliminar en los hospederos paraténicos hasta el 100% de los organismos y también se comprobó que la mayor parte de la remoción de larvas se obtuvo desde el primer tratamiento, posteriormente fue gradual, dando un resultado de eficacia del 70.1% al primer tratamiento, un 89.9% en el segundo tratamiento, un 91.8% en el tercer tratamiento, un 96% en el cuarto tratamiento, un 97% en el tercer tratamiento y un 100 % en el último tratamiento, con lo que llegó al objetivo deseado.

En el musculo esquelético se observó que hubo un porcentaje de reducción de un 51.8% en el primer tratamiento, un 75.9% en el segundo tratamiento, un 72.5% en el tercer tratamiento, un 93.2% en el cuarto tratamiento, un 86.3% en el quinto tratamiento y un 100% en el último tratamiento. Se logró la eliminación total de larvas de *Ancylostoma caninum* en los animales de experimentación.

Aun se espera la realización de más trabajos para determinar la cantidad exacta de tratamientos para la remoción de larvas enquistadas de *Ancylostoma* en hospederos paraténicos, aun así se comprobó que la utilización de ivermectina sigue siendo eficaz para la eliminación de la parasitosis empleando varias dosificaciones.

## 8. ANEXOS

Aquí se presenta el proceso que se siguió para el desarrollo del análisis estadístico de los resultados con la prueba de Análisis de varianza y la prueba de Tukey.

### DESARROLLO DEL ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL CÁLCULO DE F.

Ratón	Control (-)	Control (+)	Gpo. 1	Gpo. 2	Gpo. 3	Gpo. 4	Gpo. 5	Gpo. 6	Suma
1	0	242.4	70.36	4	1	17.34	3	0	338.1
2	0	240.4	51.24	61.32	35.24	2	4	0	394.2
3	0	166.6	85.48	3	20.12	17.34	0	0	292.54
4	0	165.6	26.12	24.44	17.12	0	20.74	0	254.02
5	0	121.7	46.24	1	3	0	0	0	171.94
<b>Suma</b>	0	936.7	279.44	93.76	76.48	36.68	27.74	0	<b>1450.8</b>
<b>Promedio</b>	0	187.34	55.8	18.7	15.2	7.3	5.5	0	290.16

**Total de larvas recuperadas en todos los grupos por número de ratón**

$$G = 1450.8$$

Factor de corrección C

$$C = G^2 / (r \times t)$$

$$C = (1450.8)^2 / (5 \times 7) = 2104820.64 / 35 = 60137.7$$

$$C = 60137.7$$

Se obtiene la suma de los cuadrados de cada uno de los ratones

CUADRADOS DE DATOS

Ratón	Control (-)	Control (+)	Gpo. 1	Gpo. 2	Gpo. 3	Gpo. 4	Gpo. 5	Gpo. 6
1	0	58757.7	4950.5	16	1	300.6	9	0
2	0	57792.1	2625.5	3760.1	1241.8	4	16	0
3	0	27755.5	7306.8	9	404.8	300.6	0	0
4	0	27423.3	682.2	597.3	293.0	0	430.1	0
5	0	14810.8	2138.1	1	9	0	0	0
<b>SUMA</b>	0	<b>186539.4</b>	<b>17703.1</b>	<b>4383.4</b>	<b>1949.6</b>	<b>605.2</b>	<b>455.1</b>	0
<b>SUMA DE CUADRADOS</b>			<b>211635.8</b>					

**Cuadrado de la suma de larvas de cada uno de los ratones.**

Se obtiene la suma de cuadrados del total (SCTL)

$$SCTL = 211635.8 - 60137.7 = 151498.1$$

$$\mathbf{SCTL = 151498.1}$$

Se obtiene la suma del total de las larvas al cuadrado

#### CUADRADOS DE LA SUMA DE GRUPOS

CONTROL (-)	CONTROL (+)	GPO 1	GPO 2	GPO 3	GPO 4	GPO 5	GPO 6
0	877406.8	78086.7	8790.9	5849.1	1345.4	769.5	0
SUMA	972248.4						

#### Cuadrados de la suma de grupos.

Se obtiene la suma de cuadrados de los tratamientos

$$SCTR = 972248.4 / 5 - 60137.7 = SCTR = 194449.68 - 60137.7 = 134311.9$$

$$\mathbf{SCTR = 134311.9}$$

Se obtiene la suma de cuadrados del error

$$SCER = SCTL - SCTR$$

$$SCER = 151498.1 - 134311.9$$

$$\mathbf{SCER = 17186.2}$$

#### GRADOS DE LIBERTAD

- Para Tratamiento =  $t - 1 = 7 - 1 = 6$
- Para Error =  $t (r - 1) = 7 (5 - 1) = 28$
- Para Total =  $r (t - 1) = 5 (7 - 1) = 30$

Se obtiene el cuadrado medio para los tratamientos

$$CMTR = SCTR / g.l. = 134311.9 / 6 = 22385.3$$

$$\mathbf{CMTR = 22385.3}$$

Se obtiene el cuadrado medio para el error

$$CMER = SCER / g.l. = 17186.2 / 28 = 613.7$$

$$\mathbf{CMER = 613.7}$$

Se obtiene el Factor de corrección

$$F_c = CMTR / CMER = 22385.3 / 613.7 = 36.4$$

$$F_c = 36.4$$

Se desarrolla la tabla de ANOVA

F.V.	g.l	SC	CM	Fc	F $\alpha$ = 0.05%
TRATAMIENTOS	6	134311.9	22385.3	36.4	2.45
ERROR	28	17186.2	613.7		
TOTAL	34	151498.1			

Con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$  y 6 y 28 g.l. el valor en tabla es de **2.45**

De los resultados de la tabla de ANOVA general se definen las siguientes hipótesis:

$H_0$  en la cual los tratamientos no actúan contra las larvas.

$H_1$  en la cual los tratamientos si actúan sobre las larvas.

**Como  $F_c = 36.4 > F_{\alpha} = 2.45$  se rechaza la  $H_0$ , por lo que existe suficiente evidencia estadística de que la ivermectina tiene efecto contra las larvas de *Ancylostoma caninum* enquistadas en los tejidos de los ratones.**

### PRUEBA DE TUKEY

Es una prueba de comparación de medias estricta.

Calcular el valor de la DMSH

Ordenar datos:

$$DMSH = q_{\alpha, t, g.l.} (s\hat{x})$$

Localizado el valor en tabla  $q = 0.05, 6, 28 = 4.32$

$$\text{Calcular el valor de } s\hat{x} = \sqrt{CMER/t} = \sqrt{613.7/5} = 11.07$$

$$DMSH = 4.32 (11.07) = 47.8$$

La diferencia entre 2 medias que excedan este valor se considera estadísticamente significativa.

TABLA DE COMPARACION

COMPARACION	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
Control + - Control -	187.34 - 0 = 187.34	Control + > Control -
Control + - Grupo 6	187.34	Control + > Grupo 6
Control + - Grupo 5	181.84	Control + > Grupo 5
Control + - Grupo 4	180.04	Control + > Grupo 4
Control + - Grupo 3	172.14	Control + > Grupo 3
Control + - Grupo 2	168.64	Control + > Grupo 2
Control + - Grupo 1	131.54	Control + > Grupo 1
Grupo 1 - Control -	55.8	Grupo 1 > Control -
Grupo 1 - Grupo 6	55.8	Grupo 1 > Grupo 6
Grupo 1 - Grupo 5	50.3	Grupo 1 > Grupo 5
Grupo 1 - Grupo 4	48.5	Grupo 1 > Grupo 4
Grupo 1 - Grupo 3	40.6	No significativo
Grupo 1 - Grupo 2	37.1	n. s.
Grupo 2 - Control -	18.7	n. s.
Grupo 2 - Grupo 6	18.7	n. s.
Grupo 2 - Grupo 5	13.2	n. s.
Grupo 2 - Grupo 4	11.4	n. s.
Grupo 2 - Grupo 3	3.5	n. s.
Grupo 3 - Control -	15.2	n. s.
Grupo 3 - Grupo 6	15.2	n. s.
Grupo 3 - Grupo 5	9.7	n. s.
Grupo 3 - Grupo 4	7.9	n. s.
Grupo 4 - Control -	7.3	n. s.
Grupo 4 - Grupo 6	7.3	n. s.
Grupo 4 - Grupo 5	1.8	n. s.
Grupo 5 - Control -	5.5	n. s.
Grupo 5 - Grupo 6	5.5	n. s.
Grupo 6 - Control -	0	n. s.

**Tabla de comparación entre medias de los diferentes grupos, incluyendo el control (-), el control (+) y los 6 grupos tratados.**

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Allen D.G., Pringle, J.K., Smith, D.A., Handbook of veterinary drugs. 2d. ed, USA, Lippincott Raven Publishers, 1998.
2. Anderson, D.L., Robertson, E.L. Activity of ivermectin against canine intestinal helminths. *Am J Vet Res* 1982; 43(9): 1681 – 3.
3. Angus, M. Dunn, *Helmintología Veterinaria*, 1a. ed. El manual moderno, México D.F. 1983.
4. Aparicio P, Rodríguez E, Garate T, Molina R, Soto A, Alvar J. Terapéutica antiparasitaria). *Enf Infecc Microbiol Clin*, 2003; 21: 579-594.
5. Arasu, P. and Heller, A. Antibody responses in pregnancy-induced transmammary transmission of *Ancylostoma caninum* hookworm larvae. *Veterinary Immunology and immunopathology* 1999; 70, 289-298.
6. Balbuena, B.V.H., León, A.L.E. Comparación de la actividad antihelmíntica de siete productos comerciales contra los nematodos *Toxocara canis* y *Ancylostoma caninum* usando perros con infestación natural por medio de una prueba crítica. Mèx. Tesis de Licenciatura. FES Cuautitlan, UNAM. 2004.
7. Beck, W., Pantchev N., *Zoonosis Parasitarias*, Zaragoza España Editorial Bayer 2010.
8. Bhopale, M.K., Jhori, G.N., Experimental Infection *Ancylostoma caninum* in mice II. Migration and distribution of larvae in tissues after oral infection. *J. Helmintol.* 1975: 49, 179 – 185.
9. Bhopale, M.K., Jhori, G.N., Experimental Infection *Ancylostoma caninum* in mice III. Distribution of larvae after repeat exposures of infection. *J. Helmintol.* 1978. 52, 193 – 198.
10. Bhopale, V.M., Kupprion, E.K., Ashton, F.T., Boston, R. *Ancylostoma caninum*: The Finger Cell Neurons Mediate Thermotactic Behavior by Infective Larvae of the Dog Hookworm. *Exp. Parasitol.* 2001. 97, 70 – 76.
11. Booth N. H. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria Vol. II.* España: Editorial Acribia. 1998.
12. Botero Marcos, D. *Parasitosis Humanas.* 3 ed. Medellín, Colombia: Editorial Rojo; 1998.
13. Brooker, S., Beasley, N.M.R., Ndinaromtan, M., Madjiouroum, E.M., Baboguel, M., Djenguinabe, E., Hay, S.I. and Bundy, D.A.P. Use of remote sensing and a geographical information system in a national helminth control programme in Chad. *Bulletin of the World Health Organization* 2002. 80, 783–789.
14. Campbell, C. W. *Ivermectin and Abamectin.* New York. Ed. Springer-Verlag 1989.
15. Carrada-Bravo, T., *Monografía ilustrada de patología clínica. Uncinariasis: ciclo vital de vida, cuadros clínicos, patofisiología y modelos animales.* Guanajuato Ed. rev. 2007.
16. Carvalho, L., Kane, C., Marshall, F., Krawczyk, C. and Pearce, E., Review Series On Helminths Immune Modulation and the Hygiene Hypothesis: Mechanisms Underlying Helminth Modulation of Dendritic Cell Function, Blackwell Publishing Ltd, *Immunol.* 2008., 126, 28 – 34
17. Caumes, E. Treatment of Cutaneous Larva Migrans. *Clin Infect Dis* 2000.

18. Chandler, A.C. Hookworm disease. Its Distribution, Biology, Epidemiology, Pathology, Diagnosis, Treatment and Control. New York: Macmillan, 1929.
19. Cordero del campillo, M. Parasitología veterinaria. Ed McGraw Hill Interamericana, 1999.
20. De Silva, N.R., Brooker, S., Hotez, P.J., Montresor, A., Engels, D. and Savioli, L. Soil-transmitted helminth infections: updating the global picture. Trends in Parasitology. 2003; 19, 547–551,
21. Del Valle, A.; Jones, B.F., Harrison, L.M., Chadderdon, R.C. and Cappello, M. Isolation and molecular cloning of a secreted hookworm platelet inhibitor from adult *Ancylostoma caninum*. Mol. & Bioch. Parasitol. 2003; 129, 167-177.
22. Dunn, A. M., Helminología Veterinaria 2ª ed., México D.F., Ed. El Manual Moderno S. A. 1983.
23. Fisher, M. y MacGarry, J. Fundamento de Parasitología en Animales de Compañía. 1 ed. Buenos Aires, A. Editorial Inter-Médica 2007; 103.
24. Foreyt, W.J. Veterinary Parasitology Reference Manual. 4a ed. USA. 1997.
25. Fox, E., Kassai, T. *Toxocara canis* infection in the paratecnic host: a study on the chemosusceptibility of the somatic larvae in mice. Vet. Parasitol, 1998; 74, 243-259.
26. Fuentes, M.A. Farmacología Veterinaria. 2ª ed. España. Ed. Interamericana McGraw-Hill. 1994.
27. García R.T. Detección de la infección por *Giardia lamblia* en perros capturados en el Centro de Control Canino de Iztapalapa, D.F. [Tesis Licenciatura Médico Veterinario Zootecnista]. Edo. De Méx. Universidad Nacional Autónoma de México; 2006.
28. Geary TG, Sims SM, Thomas EM, Vanover L, Davis JP, Winterrowd CA, Klein RD, Ho NF, Thompson DP. *Haemonchus contortus*: ivermectin-induced paralysis of the pharynx. Exp Parasitol, 1993; 77, 1: 88-96.
29. Gómez, G.L., La influencia de las mascotas en la vida humana, Rev. Col. de Ciencias Pecuarias, 2007. Vol. 20 N. 3.
30. Gonzales G. T., Distribución anatómica de larvas somáticas de *Toxocara canis* en la musculatura y tejido cerebral de jerbos mongólicos y ratones blancos de la cepa CD – 1, Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. 2006.
31. Goodman y Gilman, L., Brunton, J.S. Lazo, K.L, Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, Undécima edición Ed. Mc Graw Hill, 2006.
32. Guerrero, J. Vollmer, N. Enfermedades Causadas por Helminfos en Perros y Gatos, Buenos Aires, Argentina, ed. Inter-medica, 2009.
33. Harrison, L.M., Nerlinger, A., Bungiro, R.D., Cordova, J.L., Kuzmic, P. and Cappello, M. Molecular characterization of *Ancylostoma* inhibitors of coagulation factor Xa. Hookworm anticoagulant activity *in vitro* predicts parasite bloodfeeding *in vivo*. Journal of Biol. Chemistry 2002. 277, 6223–6229.
34. Hsu WH. Handbook of veterinary pharmacology. EUA: ed. Wiley-Blackwell. 2008.
35. Jutras, P. Important Zoonotic Helminth Infections. Supp. Compendium on cont. Ed. Practicing Vet. 1997.19 (6): 4 – 21.
36. Kassai, T. Veterinary Helminthology. Heimemann. Hungary: Ed. ButterWorth 1999.

37. Katzung, Bertram G. Farmacología Básica y Clínica, 9ª ed. México D.F Ed. El Manual Moderno; 2005.
38. Lee, A.Y. y Vlasuk, G.P. Recombinant nematode anticoagulant protein c2 and other inhibitors targeting blood coagulation factor VIIa/ tissue factor. Jour. of Inter. Med. 2003.
39. Maddison JE, Page SW, Church DB. Small animal clinical pharmacology. 2ª ed. China: ed. Saunders 2008.
40. Mendoza M., Percy R., Ravelo D., Ener S. Eficacia comparativa de una asociación de fipronil + ivermectina versus una ivermectina comercialmente disponible al 1.3% L.A. en el tratamiento y control de *Melophagus ovinus* en Huancayo, (Tesis). Recuperado el día 18 de enero del 2014. [http://www.midadaf.com.pe/TESIS%20PERCY%20OVINOS%20BACK%20CECIL\[1\]copia%20seguridad.pdf](http://www.midadaf.com.pe/TESIS%20PERCY%20OVINOS%20BACK%20CECIL[1]copia%20seguridad.pdf) (2010).
41. Meyer J.L. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. México: Ed. Hispano Americana. 1986.
42. Miró G, Mateo M, Montoya A, Vela E, Calonge R., Survey of intestinal parasites in stray dogs in the Madrid area and comparison of the efficacy of three anthelmintic in naturally infected dogs. Parasitol. Res. 2007; 100(2): 317-320.
43. Neil, A. Croll, Bernard, E. M., Smith J. M., Hookworm Behaviour: larval movement patterns after entering host, Inter. Jour. for Parasitology, 1975.
44. Plumb, D.C. Manual de farmacología veterinaria 5ª edición. Ed. Intermédica; 2006.
45. Prescott JF, Baggot JD, Walker RD. Terapéutica antimicrobiana en medicina veterinaria. 3ª ed. Argentina: ed. Intermédica 2002.
46. Rangel, M. J., Evaluación Comparativa de la Eficacia y Costos del uso de la Ivermectina y el Levamisol contra Nematodos Gastrointestinales en Canideos. Tesis de licenciatura. FES Cuautitlán. Edo de Mèx. Universidad Nacional Autónoma de México. 1991.
47. Schantz PM, Glickman LT. Canine and human toxocariasis: the public health problem and the veterinarian's role in prevention. JAVMA 1979. 175: 12.
48. Sloss, M.W., Kemp, R.L., Zajac, A.M. Veterinary Clinical Parasitology. 6a ed. USA. 1994.
49. Soulsby E.J., Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. México DF: Ed. Interamericana; 1987
50. Sumano L.H.S, Ocampo C.L. Farmacología Veterinaria. México: ed. McGraw Hill; 2006.
51. Uribarren, B., T., [Desinformación y abandono de animales, principales causas de la larva migrans cutánea](#). Boletín UNAM-DGCS-138. Ciudad Universitaria. 11:00 h. 3 de marzo de 2013.
52. Urquhart, G. M., Armour, J. y Duncan, J.L. Parasitología Veterinaria. Zaragoza, España. Ed. Acribia. 2001.
53. Williamson, A.L, Brindley, P.J., Knox, D.P., Hotez, P.J. and Loukas, A. Digestive proteases of blood-feeding nematodes and other parasites. Trends in Parasitology: 2003; 19, 417–423.
54. Yazdanbakhsh, M., van den Biggelaar, A., Maizels, R.M., Th2 responses without atopy: immunoregulation in chronic helminth infections and reduced allergic disease. Trends Immunol. 2001; 22, 372–377.

55. Zhan, B., Liu, Y., Badamchian, M., Williamson, A., Feng, J.J., Loukas, A., Hawdon, J.M. and Hotez, P.J. Molecular characterization of the Ancylostoma-secreted protein (ASP) family from the adult stage of *Ancylostoma caninum*. *International Journal for Parasitology*: 2003; 33, 897–907.