

Ensayos sobre la eficacia del Haloxon (*) contra *Trichinella spiralis*

Por A. Martínez Fernández
M. Cordero del Campillo
B. Aller Gancedo

INTRODUCCION

Los fosforados orgánicos han demostrado ser antihelmínticos de gran eficacia contra *Trichinella spiralis*. El NEGUVON-Bayer (0,0-dimetilhidroxi-2,2,2-triclorofosfonato), según demostraron SCHOOP y LAMINA^{24, 25, 26} por las vías oral, endovenosa e intraperitoneal, protege a los ratones frente a la infestación triquinelosa y destruye los vermes adultos a dosis de 80 mg/kg, compatibles con el normal fisiologismo del hospedador. Los mismos autores comprobaron cierta eficacia contra las larvas emigrantes y las enquistadas y la posibilidad de incrementar las dosis de fármaco, mediante la aplicación simultánea de los antídotos correspondientes.²⁶ SCHABLITZKI²³ ensayó en ratones la dosis máxima tolerada (4 mg/ratón), encontrando que su eficacia es del 100 % frente a los gusanos adultos, pero desciende al 40-50 % ante las larvas enquistadas. DICKEL,¹¹ teniendo en cuenta la toxicidad del NEGUVON, aplicó los antídotos conocidos, PAM (yoduro de N-metil-2-aldoximpiridina) y el sulfato de atropina, antes del tratamiento antihelmíntico o simultánea-

(*) Marca registrada de I. C. I., Manchester, Inglaterra. En España se vende con el nombre de Loxon, por Laboratorios Zeltia, Vigo (Pontevedra).

mente, con lo que consiguió poder aplicar dosis tres veces superiores a la tóxica en condiciones normales y, consecuentemente, incrementó la actividad antihelmíntica contra todas las fases de *Trichinella spiralis*. GELDBACH¹³ demostró que el NEGUVON intoxica reversiblemente las larvas enquistadas, logrando un efecto secundario relativo sobre la generación siguiente, aunque no tan amplio como el demostrado para el THIABENDAZOLE por CAMPBELL y CUCKLER⁹ y MARTINEZ.²¹

GDYNIA¹² ensayó el mismo producto en ratones, aplicando inmediatamente antes del tratamiento un nuevo antídoto (TOXOGONIN: éter dimetilico del dicloruro de bis (4-hidroxiiminometil-piridina). ZIMMERMANN³⁰ lo ensayó en cerdos, aplicado juntamente con atropina, demostrando una eficaz acción profiláctica y curativa, contra las fases entéricas.

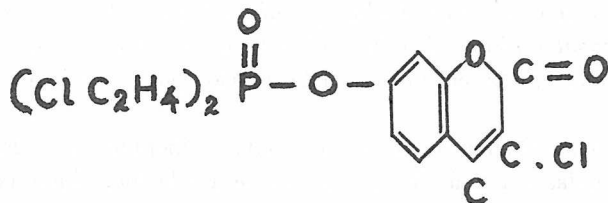
El ASUNTOL-Bayer (0,0-dietil 0-(3-cloro-4-metil-2-oxo-2H-1-benzopiran-7-il)-fosforotioato fue ensayado por BERGMAN,⁴ comprobando su eficacia contra los estadios intestinales.

El RUELENE-Dow Co. (0-4-*tert*-butil-2-clorofenil metil metilfosfoamidato) es relativamente eficaz a dosis altas (150 mg/kg) contra las fases intestinales en el cobayo (JANITSCHKE,¹⁷) y en la rata (500 mg/kg) (ZIMMERMANN, *loc. cit.*). En cambio, en ambos casos tiene escasa actividad contra las larvas en tránsito hacia los músculos y las ya alojadas en éstos. Por lo tanto, tiene cierta eficacia profiláctica cuando se aplica de forma continua, en el pienso.

El DIMETOATO-American Cyanamid Co. (0,0-dimetil S-(N-metilcarbamoilmetil fosforoditioato) tiene cierta eficacia contra los preadultos intestinales (ZIMMERMANN, *loc. cit.*)

El FAMOPHOS-American Cyanamid Co. (0-*p*-(dimetil sulfamoil)fenil 0,0-dimetil fosforotioato), también obra contra los preadultos (WEISSENBURG²⁹) y posee algún valor profiláctico (ZIMMERMANN, *loc. cit.*)

El HALOXON o LOXON (0,0-di-(2-cloroetil)0-/-3-cloro-4-metilcumarin-7-il) fosfato] fue introducido como antihelmíntico por BROWN y col.⁸ Deriva del COROXON, cuya toxicidad se ha disminuido gracias a la sustitución de un átomo de H por otro de Cl, en el grupo etílico (C₂H₄Cl), lo que ha significado un aumento considerable en el margen de seguridad terapéutica, del orden de cinco veces la dosis antihelmíntica. (HARBOUR,¹⁴). Su fórmula es:



La actividad antihelmíntica del HALOXON se ejerce a través de la inhibición irreversible, o lentamente recuperable, de la colinesterasa de algunos nemátodos, frente a la rápida recuperación de la actividad de la colinesterasa de los hospedadores (LEE y HODSEN,¹⁹ y HART y LEE,¹⁶). Según los dos primeros autores citados, la diferencia entre el COROXON y el HALOXON estriba en que el primero se combina en forma estable con la colinesterasa de los vertebrados, haciéndola inactiva a la fosforilización, mientras que el segundo lo hace de modo inestable, escindiéndose pronto y dando colinesterasa activa en el vertebrado, en tanto que inhibe la colinesterasa de los nemátodos. En consecuencia, la base de su empleo antihelmíntico radica en dicha diferencia de comportamiento ante las colinesterasas.

Su toxicidad es muy baja. Algunos animales, como la oveja, resisten de cinco a siete veces la dosis terapéutica, durante 6-7 días seguidos y aún más (MALONE,²⁰). La DLM y la DL₅₀ para la rata, establecidas por HARBOUR (loc. cit.) son: Por vía dérmica, disuelto al 20 % en glicerina-formol, la DLM = 3.000 mg/kg. Por vía oral, la DL₅₀ = 2.040 mg/kg. Por vía intraperitoneal, disuelto en polietilenglicol-200, al 0,2 %, la DL₅₀ = 45 mg/kg.

Diversos autores^{1, 2, 3, 4, 5, 15, 22} han demostrado que resulta activo frente a varias especies de nemátodos parásitos de los animales domésticos.

MATERIALES Y METODOS

Como animales de experimentación se han utilizado ratas blancas (*Rattus norvegicus* var. *Wister*) y cricetos (*Mesocricetus aureatus*) procedentes de la cátedra de Alimentación de la Facultad de Veterinaria de León. Se alojaron en jaulas, en grupos de seis y se alimentaron siguiendo las normas establecidas por el National Research Council de los EE. UU. (1962).

La cepa de *Trichinella spiralis* fue la GM-1, registrada en el *International register of living helminth species and strains*, 1966, de la O.M.S., mantenida en nuestro laboratorio por pases bimensuales en ratas.

La infestación se realizó con larvas liberadas de músculo de ratas infestadas con más de tres meses de antelación, obtenidas mediante digestión en pepsina (0,5 %) y CIH (0,7 %) durante 18 horas a 37° C, sedimentación en copa y recuento posterior en cámara de McMASTER. Las ratas se infestaron con 750 y 1.000 larvas, según los casos, y los cricetos con 500. La administración se realizó con sonda buco-gástrica acoplada a una jeringa. Para arrastrar los posibles residuos se lavaron jeringa y sonda con 0,5 ml de agua, que también se introdujeron en el estómago. Previamente, se anestesiaron los animales con éter.

El HALOXON empleado (LOXON-Zeltia) contenía un 43,5 % de producto activo, presentado comercialmente en forma de polvo mojable. En las dos primeras experiencias se emplearon dosis cuatro veces superiores a la recomendada para el tratamiento antihelmíntico de la oveja (35 mg/kg), es decir, 140 mg/kg. En la tercera, la dosis fue ocho veces superior (280 mg/kg del producto activo).

Para la rutina del tratamiento se confeccionó una tabla de pesos y ml de preparados, partiendo de la base de que a cada 10 g de peso vivo/rata correspondieran 0,1 ml de preparado, conteniendo 3,21 mg de producto en las dos primeras experiencias y 6,42 mg en la tercera. La aplicación se hizo, previa anestesia etérea, con el producto suspendido en agua, mediante sonda gástrica. Finalmente, se administraron 0,5 ml de agua para arrastrar los residuos de fármaco de jeringa y sonda.

La valoración de los resultados se llevó a cabo del modo descrito en otro trabajo (MARTINEZ, loc. cit.), sometiéndolos a pruebas estadísticas siguiendo las normas de SNEDECOR.²⁸

Aunque el trabajo reciente de KHAN¹⁸ somete a revisión algunos hallazgos relativos al desarrollo postembrionario de las larvas de *Trichinella spiralis* aportados por BERTZEN,⁷ aceptamos la nomenclatura de este autor, particularmente teniendo en cuenta sus aportaciones al desarrollo embrionario.

Se llevaron a cabo las siguientes experiencias:

Experiencia 1.ª Veinticuatro ratas de 1,5 meses de edad, distribuidas en cuatro grupos de seis animales: tres experimentales y uno

testigo. Se infestaron con 750 larvas/rata y se sacrificaron a los 35 días de la infestación.

La medicación, a dosis de 140 mg/kg, aplicadas cada 48 horas, pretendía cubrir sucesivamente en cada grupo experimental un plazo que, en conjunto, equivaliera al de evolución de *Trichinella spirales* en la rata. He aquí la marcha:

Grupo A-1. Tratamiento los días 3.º, 5.º y 7.º *p.i.* a fin de comprobar la afinidad frente a los vermes adultos intestinales.

Grupo B-1. Tratamiento los días 9.º, 11.º y 13.º *p.i.* para comprobar los resultados contra los adultos intestinales al final de su vida (hembras, principalmente) y estadios larvarios II y III (larvas emigrantes).

Grupo C-1. Tratamiento los días 15.º, 17.º y 19.º *p.i.* para valorar la acción contra las larvas II, III y IV (en el período de pre-enquistamiento).

Experiencia 2.ª. Se emplearon 18 cricetos de un peso medio de 110 g, que se infestaron con 500 larvas/animal y se sacrificaron a los 35 días de la infestación.

Se distribuyeron en tres grupos experimentales y uno testigo, que se trataron de modo similar al indicado para las ratas de la experiencia 1.ª. Los lotes experimentales se identificaron con las siglas A-c, B-c y C-c.

Experiencia 3.ª. Se llevó a cabo con 24 ratas, de dos meses de edad, infestadas con 1.000 larvas/rata y sacrificadas a los 35 días *p.i.* Se distribuyeron en cuatro lotes de seis individuos, de ellos tres experimentales y uno testigo. El tratamiento fue similar al de la primera experiencia, con dosis de 280 mg/kg. Los lotes experimentales se identificaron con las siglas A-3, B-3 y C-3.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro I y lámina I se resumen los datos relativos a la experiencia 1.ª. Como puede apreciarse, el preparado ha sido sumamente eficaz contra la fase intestinal, ya que el número de larvas halladas en los lotes experimentales a los 35 días de la infestación representaba una reducción del 99,8 %, en comparación con los testigos. Igualmente, se advierte un relativo efecto contra las larvas emigrantes y en fase de pre-enquistamiento (reducción del 45,09 y 50,6 %, respec-

tivamente). La diferencia entre estas dos últimas cantidades no parece suficiente como para destacarla.

Realizado el estudio estadístico mediante el análisis de la varianza de los cuatro lotes en conjunto (cuadro II), se halla un valor $F = 50,5$, altamente significativo ($p < 0,01$). Calculado el intervalo fiducial ($t_{0,05}$, $S\bar{x} = 5,39$) se deduce que las diferencias en el número de larvas son significativas al nivel del 1 %, si exceden de $\pm 10,78$, lo que se cumple para la población del lote A-1 (tratamiento contra adultos) y no para las poblaciones de los lotes B-1 y C-1 (tratamientos contra larvas emigrantes y en fase pre-quística, respectivamente), ni de éstos entre sí, demostrándose, por tanto, que la reducción hallada en el tratamiento contra adultos es estadísticamente significativa y no la encontrada frente a las otras fases del ciclo biológico.

En la segunda experiencia, en la que se utilizaron cricetos en iguales condiciones de tratamiento que las seguidas con las ratas de la experiencia 1.ª, los resultados (cuadro III y lámina II) indican también una reducción manifiesta en el número de larvas, cuando el tratamiento va dirigido contra los adultos intestinales, con 100 % de reducción en el diafragma y 95,0 % en la canal. Ante las larvas emigrantes, la reducción ha sido del 95,0 y 85,4 %, respectivamente, pero nula contra las larvas al final de la migración.

El estudio estadístico (análisis de varianza con los datos de triqueloscopia y de digestión) no es significativo, acaso por el reducido número de animales de experimentación empleados. Sin embargo, es indudable que, como en la experiencia de ratas, se demuestra la existencia de una elevada eficacia contra los vermes adultos en el intestino y que la advertida con el tratamiento realizado en los días 9.º, 11.º y 13.º *p. i.* es superior al encontrado en la experiencia 1.ª, debido, probablemente, a que el ciclo biológico en cricetos sufre un retraso con respecto al que tiene lugar en la rata, por persistir en aquella especie más tiempo los vermes adultos en el intestino.

Los resultados de la experiencia tercera (cuadro IV y lámina III) demuestran los efectos del HALOXON contra los vermes adultos en el intestino de la rata. A la dosis de 280 mg/kg, con la que no se notan efectos tóxicos, se eliminan todos los adultos. Los efectos advertidos contra las larvas emigrantes no son superiores a los hallados con una dosis ocho veces superior. Las reducciones encontradas (30,4 y 54,6 por 100), sin embargo, no son estadísticamente significativas.

En general, pues, el HALOXON, como la mayor parte de los fosforados ensayados en la triquinelosis experimental, tiene un efecto notable contra la infestación en la fase intestinal del verme. Los efectos observados sobre las larvas en emigración y al final de ésta, son prometedores en orden a futuros ensayos, dado que la baja toxicidad del producto, excepcional hasta ahora para los fosforados conocidos, hace que se pueda utilizar en dosis más altas que las empleadas por nosotros, aunque en el presente trabajo no se haya podido demostrar una reducción superior ante los adultos, al duplicar la cuantía de la dosis.

En los cricetos, la gran reducción observada con el tratamiento entre los días 9.º y 13.º después de la infestación, la atribuimos al distinto comportamiento de *Trichinella spiralis* en este hospedador, como ya hicimos notar en otro trabajo (MARTINEZ, *loc. cit.*).

La eficacia demostrada contra los vermes adultos y la baja toxicidad del producto abren un camino cierto a la utilización de este fosforado como profiláctico en el pienso, en cuantas ocasiones sea muy probable la infestación natural. De todos modos, se requieren futuros ensayos para determinar el comportamiento del producto en la infestación triquinelosa del cerdo.

RESUMEN

En tres experiencias realizadas con ratas y cricetos, para determinar la eficacia del HALOXON contra *Trichinella spiralis*, en diversos períodos de infestación, la administración *per os* del productor comercial (polvo humectable con 43,5 % del principio activo) en suspensión acuosa, administrada con sonda buco-gástrica resultó muy eficaz contra los vermes adultos en el intestino, lográndose reducciones superiores al 90 % del número de larvas musculares en ambas especies, con dosis de 140 mg/kg. Dosis de 280 mg/kg, en ratas, suprimieron totalmente los vermes intestinales. El análisis estadístico de los resultados demostró la significación positiva de los mismos, en ambos casos.

Contra las larvas emigrantes y en fase de pre-encapsulamiento (días 9.º al 18.º *p.i.*), se observó una reducción superior siempre al 30 por 100, en comparación con los testigos, pero las cifras no resultaron estadísticamente significativas. El incremento de las dosis no mejoró los resultados.

RESUME

Dans trois expériences effectuées avec des rats et avec des hamsters pour déterminer l'efficacité de l'HALOXON contre le *Trichinella spiralis*, dans des périodes de temps d'infestation différents, l'administration *per os* du produit commercial (poudre humectable avec un 43,5 % de principe actif) en suspension aqueuse, effectués avec une sonde buccale-gastrique, fut très efficace contre les vers intestinaux adultes, obtenant des réductions supérieures au 90 % du nombre de larves musculaires dans les deux espèces avec des doses de 140 mg/kg. Avec des doses de 280 mg/kg dans des rats, les vers intestinaux disparurent totalement. L'analyse statistique des résultats démontra leur signification positive dans les deux cas.

Contre les larves émigrantes et dans la phase de pré-capsulage (du géme. au 18eme. jours, *p.i.*) on observa une réduction toujours supérieure au 30 %, si on la compare avec celle des témoins, mais les chiffres ne furent pas statistiquement significatives. L'augmentation de doses ne donna pas de meilleurs résultats.

SUMMARY

Three experiments have been carried out to determine the effectiveness of Haloxon against *Trichinella spiralis* in artificially infected white rats and hamsters, at various stages in the life cycle of the worm. A commercial product (a wettable powder with 43.5 % of active ingredient) was given as a suspension in water *per os*, by means of a stomach tube.

At a dose rate of 140 mg/kg it was very effective against adult worms, the reduction obtained in the number of muscle larvae in both species being above 90 %. Doses of 280 mg/kg completely eliminated the adult worms in rats, the statistical analyses of the results showing their positive significance.

Against haematic and pre-capsular larvae (9th to 18th days *p.i.*) a reduction of more than 30 % was always found in the experimental host as compared with the untreated controls, but these results were without statistical significance.

Increasing doses did not give any better results.

ZUSAMMENFASSUNG

Wir haben in drei Versüchen die Wirksamkeit des Haloxon gegen *Trichinella spiralis* bei Ratten und Hamstern in verschiedenen Invasionsperioden untersucht. Das Mittel war ein Handelsprodukt (in pulverform mit 43,5 % der aktiven Substanz). Es wurde in wässeriger Suspension verwandt, die mit einer buco-gastrischen Sonde verabreicht wurde. Die Ergebnisse gegen die Darmphase des Wurmes waren sehr positiv. Wir konnten eine mehr als 90 %ige Verminderung der Zahl der Muskellarven in beiden Arten mit einer Dosis von 150 mgr/kg erreichen. Gaben von 280 mg/kg bei Ratten vernichteten alle Darmwürmer. Die statistische Analyse der Ergebnisse zeigte ihre positive Signifikanz.

Gegen die Wanderlarven und die präkapsuläre Phase (9.bis 18.Tag *p.i.J*) beobachteten wir immer eine mehr als 30 %ige Verminderung im Vergleich zu den Kontrollen, aber unsere Ergebnisse waren nicht statistisch signifikant. Eine Erhöhung der Dosis verbesserte die Resultate nicht.

CUADRO I

EXPERIENCIA 1.ª Resultados

Número de larvas /g de canal

RATA número	Testigo	Lote A-1	Lote B-1	Lote C-1
1	6.200,0	8,3	833,3	1.016,6
2	2.333,3	0,0	1.000,0	1.016,6
3	513,3	11,6	1.180,0	733,3
4	716,6	0,0	1.049,9	999,9
5	500,0	0,0	1.766,6	1.263,2
6	—	0,0	933,3	1.046,9
MEDIAS	2.052,6	3,3	1.127,18	1.013,2
% de Reducción		99,84	45,09	50,6

CUADRO II

Análisis de varianza de los resultados de la experiencia 1.^a

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio
TOTALES	5	1.161,8	387,2
INDIVIDUOS	19	1.455,6	76,6
MEDIAS	22		

$$F = 50,5$$

$$P < 0,01$$

CUADRO III

EXPERIENCIA 2.^a. Resultados

Número de larvas/gramo

Criceto número	Testigos		Grupo A-c		Grupo B-c		Grupo C-c	
	Diafragma	Canal	Diafragma	Canal	Diafragma	Canal	Diafragma	Canal
1	1.298,4	516,6	0,0	63,3	53,5	33,3	824,9	383,3
2	1.815,6	300,0	0,0	0,0	47,9	50,0	1.066,5	483,3
3	963,1	233,3	0,0	16,0	433,3	83,3	125,1	350,0
4	1.293,4	416,6	0,0	0	200,0	66,6	1.897,3	383,3
5	125,6	150,0	0,0	0	—	—	—	—
ME-DIAS	1.099,2	323,3	0	15,9	158,6	58,3	978,4	399,0
% DE REDUCCION	—	—	100	95,0	85,4	81,9	10,9	—

CUADRO IV

EXPERIENCIA 3.^a Resultados

Número de larvas / g de canal

RATA número	Testigo	Lote A-3	Lote B-3	Lote C-3
1	33,3	0,0	333,3	150,0
2	466,6	0,0	216,6	100,0
3	600,0	0,0	200,0	216,6
4	300,0	0,0	333,3	150,0
5	466,6	0,0	266,6	166,6
6	266,6	0,0	133,3	183,3
MEDIAS	355,2	0,0	247,1	161,08
% de Reducción	—	100	30,4	54,6

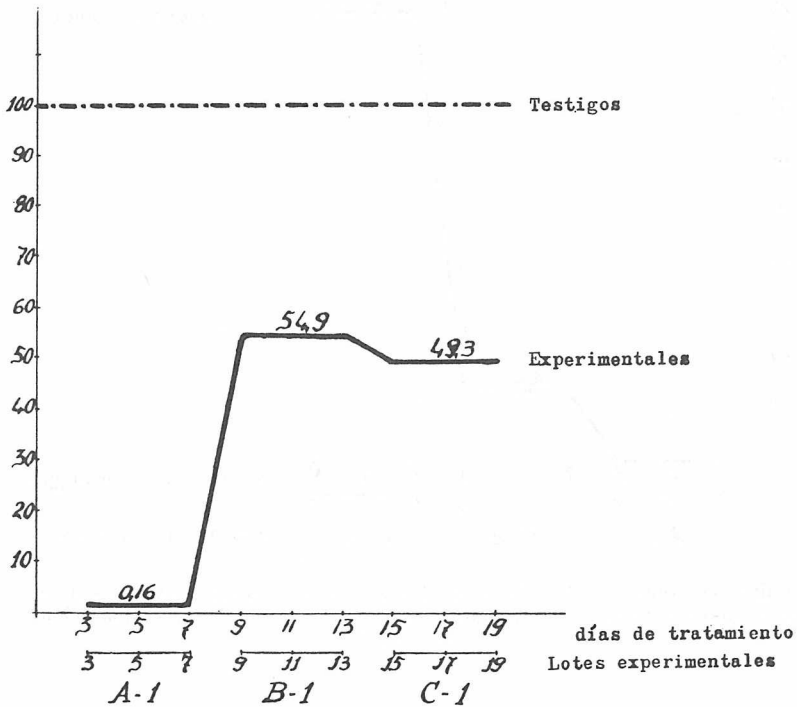


Lámina I. Indices de reducción del número de larvas musculares en los lotes experimentales, en comparación con los testigos.

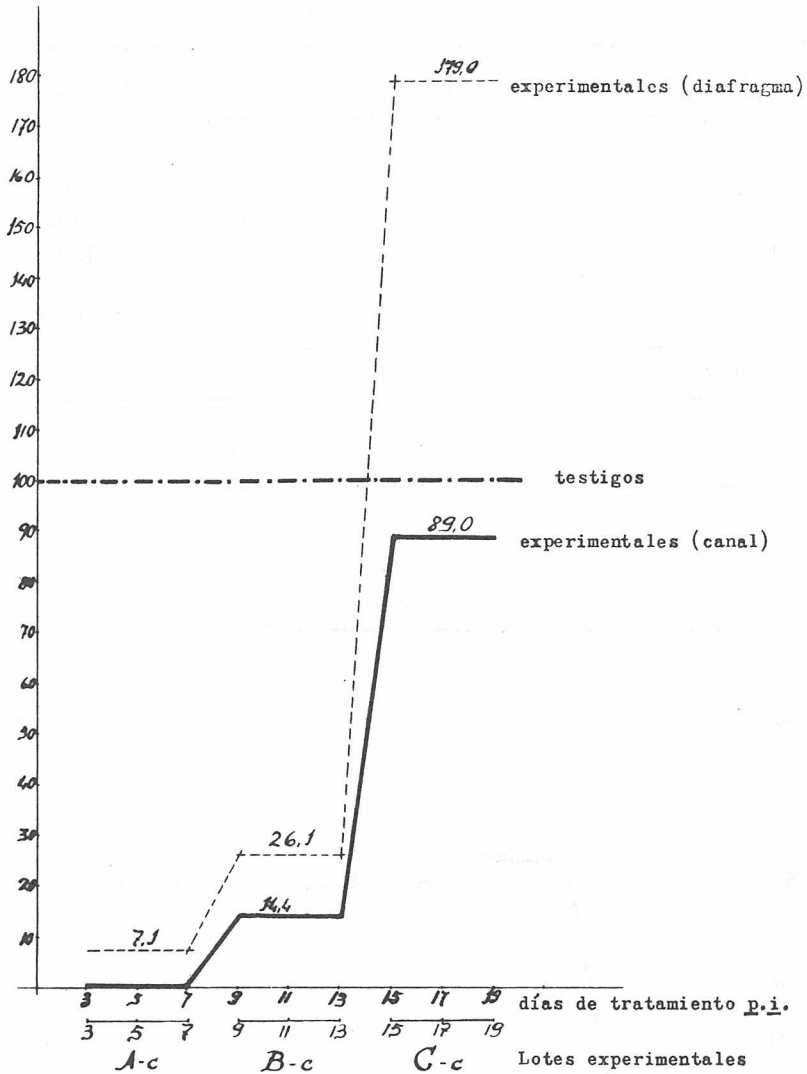


Lámina II. Indices del número de larvas de los animales experimentales en canal (línea continua) y en diafragma (línea de trazos) en comparación con los testigos.

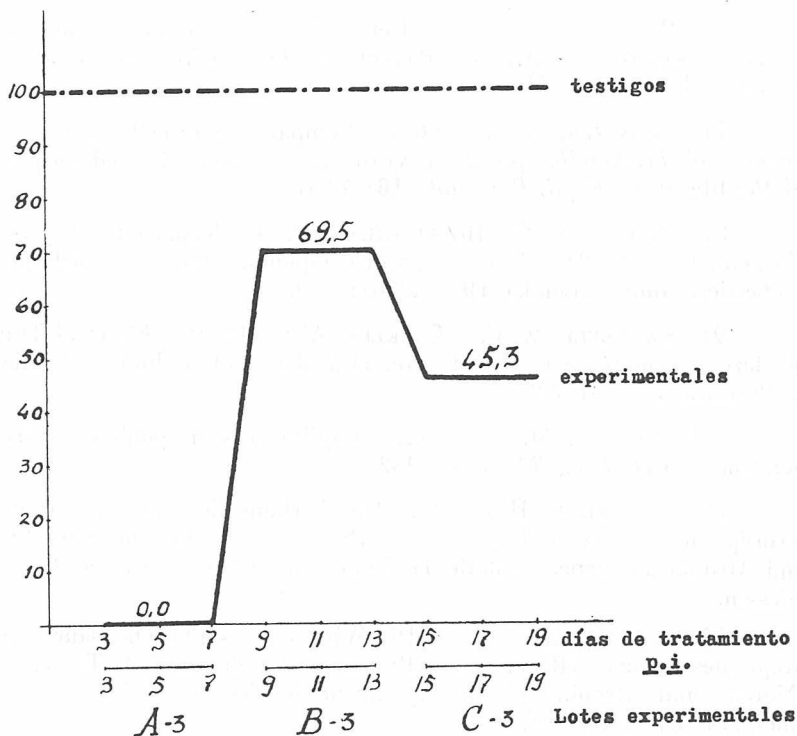


Lámina III. Índices de reducción del número de larvas musculares en los lotes experimentales, en comparación con los testigos.

BIBLIOGRAFIA

- 1) ARMOUR, J. (1964).—A controlled anthelmintic trial with Haloxon against *Ostertagia ostertagi* in calves. *Vet. Rec.*, 76: 1364-1366.
- 2) ———, BROWN, P. R. M. y SLOAN, J. E. N. (1962).—The anthelmintic efficiency of Haloxon against the adult and immature stages of sheep gastro-intestinal nematodes. *Vet. Rec.*, 74: 1454-1457.
- 3) BAKER, N. F. y DOUGLAS, J. R. (1965).—Anthelmintic activity of Haloxon in lambs. *Am. J. Vet. Res.*, 26: 651-653.
- 4) BARNETT, S. F., BERGER, J. y RODRIGUEZ, C. (1964).—A small controlled trial of the anthelmintics Haloxon and Thiabendazole in sheep. *East African Agric. & Forest.*, 29: 195-198.
- 5) BERGER, J. (1964).—A comparative field trial of the anthelmintic Haloxon and Thiabendazole in merino lambs and meaner sheep. *East African Agric. & Forest. J.*, 29: 199-205.

6) BERGMAN, R. (1961).—Ueber die parasitizide Wirkung des Phosphon säureesters Asuntol (Bayer) auf *Trichinella spiralis* bei experimentell infizierten Mäusen. *Inaugural Diss.*, Giessen.

7) BERNTZEN, A. K. (1965).—Comparative growth and development of *Trichinella spiralis* in vitro and in vivo, with redescription of the life cycle. *Exptl. Parasitol.*, 16: 74-106.

8) BROWN, N. C., HOLLINSHEAD, D. T., KINGSBURY, P. A. y MALONE, J. C. (1962).—A new class of compounds showing anthelmintic properties. *Nature (Lond.)*, 194 (4826): 379.

9) CAMPBELL, W. C. y CUCKLER, A. C. (1964).—Effect of Thia-bendazole upon the enteral and parenteral phases of trichinosis in mice. *J. Parasit.*, 50: 481-488.

10) CLARKE, M. L. (1962).—Capillariasis in poultry (Correspondence). *Vet. Rec.*, 74: 1431-1432.

11) DICHEL, G. H. (1961).—Die Wirkung des Phosphonsäureesterpräparates Neguvon (Bayer) unter Prämedication des antidoté PAM und Atropin auf experimentelle Trichinose bei Mäusen, *Inaugural Diss.* Giessen.

12) GDYNIA, R. (1964).—Die Wirkung des Phosphonsäureesterpräparates Neguvon (Bayer) unter Prämedikation des antidoté Toxogonin (Merck) und Atropin auf die experimentelle Trichinose bei Mäusen. *Inaugural Diss.*, Giessen.

13) GELDBACH, G. F. (1962).—Ueber die Zeitpunkt des Schädigung der Trichinen durch den Phosphonsäureester Neguvon (Bayer) bei experimentell infizierten Mäusen. *Inaugural Diss.*, Giessen.

14) HARBOUR, H. E. (1963).—Experience with the organic phosphorous compounds as anthelmintics. *XVII Cong. Int. Vet.*, Hannover. Actas vol. II: 751-756.

15) HART, J. A. (1964).—The anthelmintic efficiency of Haloxon against the adult and immature stages of the gastro-intestinal strongyles of Nigeria cebu cattle. *Vet. Rec.*, 76: 337-340.

16) ———, y LEE, R. M. (1966).—Cholinesterase activities of various nematode parasites and their inhibition by the organophosphate anthelmintic Haloxon. *Exptl. Parasitol.*, 18: 332-337.

17) JANITSCHKE, B. (1962).—Untersuchungen an Meerschweinchen über die Wirkung von Promintic und Ruelene auf Larven von *Trichinella spiralis* und *Toxocara canis*. *Inaugural Diss.*, Berlin Oeste.

18) KHAN, Z. A. (1966).—The postembrionic development of *Trichinella spiralis* with special reference to ecdysis. *J. Parasitol.*, 52: 248-259.

- 19) LEE, R. M. y HODSDEN, M. R. (1963).—Cholinesterase activity in *Haemonchus contortus* and its inhibition by organophosphorous anthelmintics. *Biochem. Pharmacol.*, **12**: 1241-1252.
- 20) MALONE, J. C. (1964).—Toxicity of Haloxon. *Res. vet. Sec. (Lond.)*, **5**: 17-31.
- 21) MARTINEZ, A. (1965).—Investigaciones sobre la eficacia de la Methiridina y del Thiabendazol frente a *Trichinella spiralis* (Owen, 1835) Railliet, 1895. (Tesis doctoral). *An. Fac. Vet. León*. **11**: 127-220.
- 22) ROSS, J. G. (1965).—Anthelmintic field trials on sheep. A comparison of Haloxon and phenothiazine treatment in ewes and lambs. *Rec. agric. Res. Min. Agric. Nth. Ireland*, **14**: 43-47.
- 23) SCHABLITZKI, H. (1962).—Die Wirkung des Phosphonsäureesters Neguvon (Bayer) auf *Trichinella spiralis* in Darm und Wanderstadium bei experimentell infizierten Mäusen. *Inaugural Diss.*, München.
- 24) SCHOOP, G. (1963).—Die Chemotherapie der Trichinose. *XVIII. Cong. Int. Vet.*, Hannover. Actas, vol. I: 737-738.
- 25) ———, y LAMINA, J. (1959).—Ueber die vermizide Wirkung von Neguvon auf *Trichinella spiralis* in experimentell infizierten Mäusen. *Vet. med. Nachrichten*, **4**: 256-260.
- 26) ———, y ———. (1962).—Ueber die Wirkung eines wasserlöslichen Phosphonsäureester auf Trichinellen. I. Einflussbarkeit von Darm- und Wandertrichinellen beim experimentell infizierten Mäusen. *Zbl. Bakt., etc. Abt. I, Orig.*, **186** (4): 562-673.
- 27) ——— y ———. (1962).—Über die Wirkung eines wasserlöslichen Phosphonsäureesters auf Trichinellen. II. Die Auswirkung erhöhter Dosierung unter dem Schutz von Antidotem. *Abl. Bakt., etc. Abt. I, Orig.* **187** (3): 391-406.
- 28) SNEDECOR, G. W. (1948).—*Métodos de Estadística*, Acme. Agency, Soc. Resp. Ltda., Buenos Aires.
- 29) WEISENBURG, H. (1963).—Untersuchungen über die Wirksamkeit von Famophos auf Magendarmwürmer bei Schafen. *Inaugural Diss.*, Berlin Oeste.
- 30) ZIMMERMANN, W. J. (1964).—Efficacy of selected drugs against *Trichinella spiralis*. *J. Parasitol.*, **50**: 415-520.