

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA
VETERINARIA



“Eficacia del aceite ozonizado en el control de *Toxocara canis*, en caninos mestizos (*Canis lupus familiaris*) de la ciudad de Cajamarca, Perú”

TESIS

Para optar el Título Profesional de
MÉDICO VETERINARIO

Presentada por el Bachiller
CRISTHIAN FERNANDO BAZÁN NUREÑA

Asesor:
Dr. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES

Cajamarca – Perú

2023

COPYRIGHT © 2023 por
CRISTHIAN FERNANDO BAZÁN NUREÑA
Todos los derechos reservados



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA
Fundada Por Ley N°14015 Del 13 De Febrero De 1962
UNIVERSIDAD LICENCIADA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
DECANATO
Av. Atahualpa 1050 – Ciudad Universitaria Edificio 2F – 205 Fono 076 365852



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca, siendo las doce horas del día quince de junio del dos mil veintitrés, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias “César Bazán Vásquez” de la Universidad Nacional de Cajamarca, los integrantes del Jurado Calificador, designados por el Consejo de Facultad, con el objeto de evaluar la sustentación de Tesis Titulada: “**EFICACIA DEL ACEITE OZONIZADO EN EL CONTROL DE *Toxocara canis*, EN CANINOS MESTIZOS (*Canis lupus familiaris*) DE LA CIUDAD DE CAJAMARCA, PERÚ**”, presentado por el Bachiller en Medicina Veterinaria: **Cristhian Fernando Bazán Nureña**.

Acto seguido el Presidente del Jurado procedió a dar por iniciada la sustentación, y para los efectos del caso se invitó al sustentante a exponer su trabajo.

Concluida la exposición de la Tesis, los miembros del Jurado Calificador formularon las preguntas que consideraron convenientes, relacionadas con el trabajo presentado; así mismo, el Presidente invitó al público asistente a formular preguntas concernientes al tema.

Después de realizar la calificación de acuerdo a las Pautas de Evaluación señaladas en el Reglamento de Tesis, el Jurado Calificador acordó: **APROBAR** la sustentación de Tesis para optar el Título Profesional de **MÉDICO VETERINARIO**, con el Calificativo Final obtenido de **DIECISIETE (17)**.

Siendo las trece horas del mismo día, el Presidente del Jurado Calificador dió por concluido el proceso de sustentación.


Dr. ABEL MELCHOR GARCÍA BAZÁN
PRESIDENTE


Dr. JUAN DE DIOS ROJAS MONCADA
SECRETARIO


Dr. GIUSEPPE MARTÍN REYNA COTRINA
VOCAL


Dr. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES
ASESOR



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA**
Licenciada el 13 de julio del 2018, Resolución N° 080-
2018-SUNEDU/CD



**FACULTAD DE CIENCIAS
VETERINARIAS UNIDAD DE
INVESTIGACIÓN**

Av. Atahualpa 1050-Ciudad Universitaria Edificio 2F205

CERTIFICADO DE ORIGINALIDAD

**EL QUE SUSCRIBE DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE
CAJAMARCA.**

CERTIFICA:

Que, la tesis titulada **"EFICACIA DEL ACEITE OZONIZADO EN EL CONTROL DE
TOXOCARA CANIS, EN CANINOS MESTIZOS (Canis lupus familiaris) DE LA
CIUDAD DE CAJAMARCA, PERÚ"**, corresponde a la Autoría del Bachiller en
Medicina Veterinaria: **CRISTHIAN FERNANDO BAZÁN NUREÑA** en base al
reporte de **ORIGINALIDAD**, como puede corroborarse en el documento de
información analizado por el **Software Antiplagio-URKUND**, bajo el código
D171162256, el cual arroja 4% de coincidencias, al amparo del numeral 9, inciso
904 de la directiva N° 01-2020-VRI-UNC, aprobado con Resolución de Consejo
Universitario N° 0937-2020-UNC de fecha 25 de junio del 2020.

Cajamarca, 23 de junio del 2023

Atentamente.



Universidad Nacional de Cajamarca
Facultad de Ciencias Veterinarias

Dr. Winder Quispe Urteaga
Director de la Unidad de Investigación

DEDICATORIA

A mis padres Juan y Olga,
por su paciencia y
confianza, gracias por
enseñarme con su ejemplo la
valentía para afrontar las
adversidades.

A mi hermano Miguel por su
cariño y apoyo incondicional,
durante todo este proceso, por
estar conmigo en todo momento.

A mi familia porque con
sus oraciones, consejos y
palabras de aliento
hicieron de mí una mejor
persona y porque me
acompañan en mis
sueños y metas.

Cristhian

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a los docentes de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, en especial a los docentes y exdocentes: Dr. Pedro Ortiz Oblitas, Dr. Rodolfo Gamarra Ramírez, Dr. Jorge López Vergara, Dr. Ceesar Nilton Aguilar Guevara, Dr. Hugo Zambrano Vargas, Dr. Juan de Dios Rojas Moncada, por haberme inculcado en los claustros durante mi educación universitaria, la pasión por la carrera que tanto amo.

Un agradecimiento especial al Dr. Seferino Torrel Pajares, por ser mi asesor, quien con su conocimiento, dirección y enseñanza permitió la culminación del presente trabajo.

A mis amigos en la facultad, Diana Silva, Oscar Chomba, Víctor Torres, por su lealtad y confianza durante todo el tiempo que pasé con ustedes en los claustros universitarios, les deseo los mejores éxitos profesionales.

Un agradecimiento especial y reconocimiento sincero a mi amigo y colega César Murga Moreno, por tu tiempo y enseñanza en el laboratorio, definitivamente admiro tu dedicación y amor por la investigación. Auguro éxitos en tu vida.

El autor

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
ÍNDICE	iii
ÍNDICE DE TABLAS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRAC.....	vii
INTRODUCCIÓN.....	viii
CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes de la investigación.....	1
1.1.1. Internacionales.....	1
1.2. Bases teóricas	4
1.2.1. Generalidades	4
1.2.2. Parasitismo	5
1.2.3. Tipos de hospedador.....	5
1.2.4. Modalidades de parásito	6
1.2.5. Factores que intervienen en la infección parasitaria.....	7
1.2.5.1. Factores ambientales	7
1.2.5.2. Clima	7
1.2.5.3. Factor socioeconómico	8
1.2.5.4. Alimentación	8
1.2.6. <i>Toxocara canis</i>	9
1.2.6.1. Taxonomía.....	9

1.2.6.2. Características morfológicas	10
1.2.6.3. Ciclo evolutivo	11
1.2.6.4. Patogenia	13
1.2.6.5. Larva migrans	14
1.2.6.6. Diagnóstico.....	15
1.2.6.7. Control y Tratamiento	16
1.2.7. Generalidades del Ozono.....	17
1.2.7.1. Características físico - químicas generales.....	17
1.2.7.2. Uso de ozono en medicina.....	18
1.2.7.3. Mecanismo de acción	19
1.2.7.4. Estimulación de los factores de crecimiento	20
1.2.7.5. Acción analgésica y antiinflamatoria	21
1.2.7.6. Efecto bactericida	22
1.2.7.7. Acción antifúngica y antiviral	23
1.2.7.8. Acción en la Glucolisis.....	24
1.2.7.9. Acción en el eritrocito	24
1.2.7.10. Acción en las plaquetas	25
1.2.7.11. Efecto modulador de la respuesta inmune.....	25
1.2.7.12. Efectos adversos	26
1.2.7.13. Vías de administración	26
1.2.7.14. Enfermedades que se pueden tratar	28
1.3. Definición de términos básicos	29
CAPÍTULO II.....	31
Marco Metodológico	31
2.1. Ubicación geográfica.....	31
2.2. Diseño de investigación.....	32

2.3. Métodos de investigación	34
2.3.1. Obtención de huevos larvados.....	34
2.3.2. Infección artificial	36
2.3.3. Presencia de <i>Toxocara canis</i> post infección artificial.....	37
2.3.4. Tratamiento protocolar	38
2.3.4.1. Grupo control:	38
2.3.4.5. Cálculo de la carga parasitaria.....	41
2.4. Población, muestra y unidad de análisis.....	41
2.5. Técnicas e instrumentos de recopilación de datos.....	41
2.5.1. Protocolo de la técnica.....	42
2.5.2. Registro de datos	42
2.5.3. Determinación de la eficacia del aceite ozonizado.....	43
2.5.4. Técnicas para el procesamiento y análisis de información	44
2.5.4.1. Análisis estadístico:	44
2.5.4.2. Organización de la información:	44
2.6. Equipos, materiales e insumos	44
2.6.1. Materiales de campo.....	45
2.6.2. Materiales de laboratorio	45
CAPÍTULO III	47
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
3.1. Presentación de resultados.....	47
3.2. Análisis, interpretación y discusión de resultados.....	50
3.3. Contrastación de la hipótesis	51
CAPÍTULO IV	53
CONCLUSIONES.....	53
CAPÍTULO V	54

SUGERENCIAS	54
REFERENCIAS	55
ANEXOS.....	63
APÉNDICES	70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución y tratamiento para realizar en los canes.....	40
Tabla 2. Eficacia del aceite ozonizado en el control de de <i>Toxocara canis</i> , en caninos mestizos (<i>Canis lupus familiaris</i>) en el grupo 02 (AGO) evaluada mediante la técnica de flotación de Sheather con solución saturada de azúcar en el día 15 post última dosificación.....	47
Tabla 3. Eficacia del aceite ozonizado en el control de de <i>Toxocara canis</i> , en caninos mestizos (<i>Canis lupus familiaris</i>) en el grupo 03 (Pamoato de pirantel) evaluada mediante la técnica de flotación de Sheather con solución saturada de azúcar en el día 15 post última dosificación.....	48
Tabla 4. Eficacia del aceite ozonizado en el control de de <i>Toxocara canis</i> , en caninos mestizos (<i>Canis lupus familiaris</i>) en el grupo 04 (AGO + Pamoato de pirantel) evaluada mediante la técnica de flotación de Sheather con solución saturada de azúcar en el día 15 post última dosificación.....	49
Tabla 5. Carga parasitaria expresada en hpg del grupo control (sin tratamiento) a lo largo del estudio.....	78
Tabla 6. Carga parasitaria expresada en hpg en los canes en estudio del grupo 2 (AGO) a lo largo del estudio.....	78
Tabla 7. Carga parasitaria expresada en hpg en los canes en estudio del grupo 3 (Pamoato de Pirantel) a lo largo del estudio.....	78
Tabla 8. Carga parasitaria expresada en hpg en los canes en estudio del grupo 4 (AGO + Pamoato de Pirantel) a lo largo del estudio.....	79

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Mapa de límite geográfico de la investigación, en rojo podemos apreciar los límites de la provincia de Cajamarca.....32
- Figura 2.** Proceso para obtener huevos infectivos de *Toxocara canis* e infección artificial72
- Figura 3.** Evolución del huevo de *Toxocara canis* al ser incubados a temperatura ambiente en viales cubiertos por aluminio por el tiempo de 30 días en el laboratorio.....73
- Figura 4.** Comparación microscópica 40x de un huevo viable e inviable de *Toxocara canis*.....74
- Figura 5.** Proceso de infección artificial de *Toxocara canis*.....75
- Figura 6.** Observación de huevos de *Toxocara canis* mediante la técnica de flotación de Sheather con solución saturada de azúcar en los grupos de estudio durante el desarrollo de la investigación..... 76

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en la ciudad de Cajamarca; con el objetivo de evaluar la eficacia del aceite ozonizado en el control de *Toxocara canis*, en caninos mestizos (*Canis lupus familiaris*); para tal efecto, se tomó como tamaño muestral a 20 perros menores de 6 meses de edad, los cuales fueron desparasitados 30 días antes del estudio con Pamoato de pirantel en suspensión de 250 mg/ 5 ml siendo la dosis administrada de 4.5 mg/kg e infectados artificialmente con 50 huevos larvados de *Toxocara canis* cada uno, los perros fueron agrupados aleatoriamente en cuatro grupos con cinco perros cada uno siendo el grupo 1 denominado control (sin medicación), al grupo 2 se le administró 20 gotas diarias de Aceite de girasol ozonizado a una concentración de 75 mg/mL de Hidroxihidroperóxido de triglicéridos insaturados como oxígeno activo por 14 días con descanso de 7 días entre semana de administración, al grupo 3 se le administró Pamoato de pirantel a la misma concentración y dosis descritas y finalmente, al grupo 4 se le administró Aceite de girasol ozonizado a la misma concentración y dosis expuesta en el grupo 2 y Pamoato de pirantel a la misma dosis y concentración que la descrita en el grupo 3. Los resultados evidencian que hay diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los grupos con Aceite de girasol ozonizado y Pamoato de pirantel donde se emplearon como fármaco único siendo su rango promedio a la prueba comparativa no paramétrica de Kruskal Wallis de (16.60) para el grupo 2 y (5.50) para el grupo 3, por otra parte, el grupo con más similitud de rango promedio con el grupo control (14.40) fue el grupo 2 (16.60) indicándonos que el hpg del grupo 2 no solo no disminuyó, por el contrario, aumentó, mientras que los grupos 3 (5.50) y 4 (5.50) si se evidenció la disminución de huevos por gramo de heces (HPG). Se concluye, por lo tanto, que; el Aceite de girasol ozonizado a una concentración de 75 mg/mL de Hidroxihidroperóxido de triglicéridos insaturados como oxígeno activo no es eficaz en el control de *Toxocara canis* en caninos (*Canis lupus familiaris*) mestizos en la ciudad de Cajamarca.

Palabras clave: Eficacia, aceite ozonizado, Pirantel, *Toxocara canis*, canes mestizos.

ABSTRAC

The present investigation was carried out in the city of Cajamarca, province and department of Cajamarca; with the objective of evaluating the effectiveness of ozonated oil in the control of *Toxocara canis* in crossbred canines (*Canis lupus familiaris*); For this purpose, 20 dogs under 6 months of age were taken as a sample population, which were dewormed 30 days before the study with pyrantel pamoate in suspension of 250 mg/5ml, the administered dose being 4.5 mg/kg and infected. artificially with 50 larval eggs of *Toxocara canis* each, the dogs were randomly grouped into four groups with five dogs each, group 1 being called control (without medication), group 2 was administered 20 daily drops of ozonated sunflower oil at a concentration of 75 mg/mL of unsaturated triglyceride hydroxyhydroperoxide as active oxygen for 14 days with a 7-day break during the week of administration, group 3 was administered pyrantel pamoate at the same concentration and dose described and finally, group 4 Ozonated sunflower oil was administered at the same concentration and dose as described in group 2 and pyrantel pamoate at the same dose and concentration as described in group 3. The results show that there are statistically significant differences ($p < 0.05$) between the groups with ozonated sunflower oil and pyrantel pamoate where they were used as a single drug, their average range being the non-parametric comparative test of Kruskal Wallis of (16.60) for group 2 and (5.50) for group 3, on the other hand, the group with the most similarity of mean range with the control group (14.40) was group 2 (16.60), indicating that the epg of group 2 not only did not decrease, but rather increased, while groups 3 (5.50) and 4 (5.50) did show a decrease in epg. It is therefore concluded that; Ozonated sunflower oil with a concentration of 75 mg/mL of unsaturated triglyceride hydroxyhydroperoxide as active oxygen is not effective in controlling *Toxocara canis* in mixed-breed canines (*Canis lupus familiaris*) in the city of Cajamarca.

Keywords: Efficacy, ozonated oil, Pyrantel, *Toxocara canis*, mixed breed dogs.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones parasitarias en caninos son múltiples, siendo de las más comunes la Toxocariosis, cuyo agente etiológico es *Toxocara canis*, la cual puede causar distintos problemas en el animal conllevándolo hasta la muerte, sin embargo, es en salud pública que este parásito, adquiere una importancia notable, pues en la especie humana puede desarrollar la forma de larva migrans, la cual puede causar daños en órganos como el hígado, pulmones, ojos, cerebro, corazón y tejido muscular esquelético. Estas larvas pueden ocasionar reacciones inflamatorias locales o sistémicas, y según el órgano afectado, generar cuadros de hemorragias, necrosis, reacción inflamatoria eosinofílica y eventualmente la formación de granulomas, entre otras afecciones (1,2).

El ser humano es un hospedador accidental; en parte a la cercanía con los cachorros por vínculos afectivos o por contacto con áreas de tierra que contienen larvas infectivas, tanto en parques públicos o jardines de hogares donde los animales hayan depositado sus deposiciones contaminadas con el parásito. Siendo este el mecanismo de contagio más importante en niños y adolescentes, que por la actividad lúdica frecuentan estos lugares (1,3).

En Medicina Veterinaria actualmente, hay antiparasitarios para el control de estos organismos en nuestras mascotas, sin embargo, en la clínica diaria, por lo general, se practica una sub-dosificación de estos productos, que al cabo de unos años generará resistencia parasitaria a los mismos. Además, muchos de estos antiparasitarios, presentan contraindicaciones, como en el caso de animales gestantes, en periodo de

lactación o con antecedentes de salud como insuficiencia hepática, lo que significa un riesgo de infección latente.

Esto obliga al Médico Veterinario, como profesional encargado de salvaguardar la salud animal y salud pública, realizar un tratamiento de control eficaz, siendo la investigación en temas relacionados con la medicina alternativa, quien ocupa un sitio privilegiado de elección por su potencial terapéutico, y aunque pese a los estudios que evidencian la utilidad del aceite ozonizado en Medicina Veterinaria para el control de algunos parásitos como *Giardia spp* (4), no se tiene información suficiente acerca de su efecto en otras especies parasíticas intestinales en animales de compañía (5). Hecho por el cual, debemos investigar constantemente para innovar la terapéutica y buscar alternativas tanto eficaces como prácticas para aplicarlos en consultorio profesional.

La presente investigación se desarrolló en la ciudad de Cajamarca, con el objetivo general de determinar la eficacia del Aceite ozonizado en control de *Toxocara canis*, en caninos mestizos (*Cannis lupus familiaris*) de la ciudad de Cajamarca, comparando además la efectividad entre los grupos experimentales con Pamoato de pirantel por sí solo, y en combinación con el Aceite ozonizado, siendo expresado dicha eficacia en valor porcentual. Para lograr una homogeneidad en la población muestral, se decidió infectar artificialmente a los veinte perros en estudio, cumpliendo el protocolo modificado de obtención de huevos larvados para conveniencia del trabajo.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes de la investigación

1.1.1. Internacionales

En el año 2006, el Centro Nacional de Investigaciones Científicas de Cuba, con el objetivo de evaluar el efecto anti*giardiásico* del OLEOZON® oral, fueron empleados gerbils machos de 10 semanas de nacidos, los cuales se dividieron en siete grupos experimentales. 1: control negativo, no infectados; 2: control positivo, infectados con trofozoitos de *Giardia lamblia*; 3: animales infectados y tratados con el vehículo, aceite virgen; 4: animales infectados y tratados con OLEOZON® (0,3 mL/animal); 5: animales sin infectar y tratados con OLEOZON®; 6: infectado, no tratados y sacrificados a los 28 días después de la infección; 7: animales infectados y tratados con metronidazol. Los animales fueron infectados mediante la inoculación de 450 000 células (trofozoitos) de *Giardia lamblia*. A los 10 días de la infección, los animales fueron sacrificados progresivamente después de la tercera, sexta y décima aplicación de los tratamientos, el OLEOZON® indujo una disminución significativa de los trofozoitos en el duodeno (98,5 y 97,2 %) respectivamente. Por otra parte, el tratamiento con OLEOZON® demostró tener un marcado efecto parasiticida sobre los trofozoitos de *Giardia lamblia*, lo cual constituye una importante evidencia para apoyar el tratamiento a pacientes infectados con este parásito (6).

Además, en el campo de la Medicina Humana, en un estudio realizado por el Centro Médico psicopedagógico “América Labadí Arce”, Santiago de Cuba, Cuba, publicado en el 2015, también en el área de parasitología, se realizó una intervención terapéutica en 108 adultos con giardiasis, desde julio del 2013 hasta igual periodo del 2014, con vistas a determinar la efectividad del Oleozon® por vía oral frente al antiparasitario convencional en los afectados. Los resultados fueron del grupo masculino (59,2% en el grupo de estudio y 55,5% en el de control), el grupo etario de 30-39 años (38,9% en el primero y 51,8% en el segundo). La rápida evolución de los pacientes tratados con Oleozon® demostró su efectividad; por tanto, se recomendó su utilización como enfoque terapéutico de elección (7).

También en Cuba, en el Centro Nacional de Investigaciones Científicas, en el 2016, se ha efectuado un estudio en el campo de la Medicina Veterinaria, con el objetivo de evaluar la seguridad y efectividad del aceite de girasol ozonizado (AGO) en la giardiasis en caninos. Los resultados mostraron el 100% de los animales lactantes recuperados con AGO (75 y 100%), mientras que igual porcentaje de recuperación se alcanzó para los animales en desarrollo con concentración de AGO máxima. Los tratamientos con AGO al 100% en animales lactantes y en desarrollo, con giardiasis recidivante, alcanzaron el 95% y 81% de recuperación, respectivamente. Se demostró la tolerancia y efectividad del AGO oral a las concentraciones de 75 y 100% como tratamiento de la giardiasis en perros (4).

Finalmente, en las instalaciones de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad José Eduardo dos Santos de Huambo, destinada a la docencia y la investigación en Argentina, se realizó un estudio que tuvo como objetivo dar solución al problema de prevalencia de la sarna que padecen los animales. Fueron evaluados un total de 150 animales de la especie caprina, raza Saan, categoría adulta. Para determinar la causa de las lesiones, se realizó un raspado de la piel y se envió muestras al laboratorio que confirmó la presencia de parásitos del género ácaro, causante de la sarna (Sarna Demodécica); para el tratamiento se aplicó Oleozón® tópico en las principales lesiones localizadas en las regiones a nivel del parpado y orejas. Los animales fueron separados en tres grupos de diez (A, B, C). Para la evaluación de la eficacia del Oleozón® fueron usadas otras sustancias como el aceite de ricino y el aceite vegetal. Al grupo (A) se le aplicó el Oleozón® 2 veces al día, al grupo (B) el aceite de ricino 2 veces al día y al grupo (C) se aplicó el aceite vegetal 2 veces al día en un período de diez días, todos ellos con principio activo natural. En comparación a los otros dos productos en términos de cicatrización, el Oleozón® presentó una eficacia del 100%. Para la evaluación de los resultados se realizó un análisis de varianza de clasificación doble y la escala de Lister para evaluar la evolución del tratamiento. Los datos fueron procesados utilizando el software estadístico INFOSTAT versión 2.0 del 2013 y la prueba de Tukey para la comparación múltiples de medía para un nivel de significación del 5% (8).

Para finalizar, en Estados Unidos, en el año 1994, en un estudio ejecutado en el Instituto de Biodinámica, de la Universidad estatal de Luisiana, se evidenció que el ozono es eficaz en el control y eliminación de microorganismos, siendo los nemátodos uno de ellos, este estudio explica que el ozono ejerce acción por oxidación directa de la pared celular, o cutícula en nemátodos, por medio de la vía de radicales libres, los cuales se originan en el proceso de peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados y también en el de oxidación de proteínas, aminos y tioles (5).

1.2. Bases teóricas

1.2.1. Generalidades

Los parásitos que afectan a los canes son muchos, y para la infección del hospedador definitivo, en parte, se debe a factores como: Interacción con estados infectivos del parásito, estado de nutrición, madurez del sistema inmune y edad. Siendo la Toxocariasis, enfermedad producida por *Toxocara canis*, una de las enfermedades parasitarias más importantes y comunes que afecta no solamente a su hospedador definitivo, sino que, el humano puede ser un hospedador accidental debido a la interacción cercana con esta especie, catalogándose, por lo tanto, como una enfermedad zoonótica (1).

1.2.2. Parasitismo

Entendemos por parasitismo a la relación de dos elementos biológicos conocidos como: “Parásito y hospedador”, en dicha relación, es el parásito el organismo que vive a expensas del hospedador sin beneficio simbiótico alguno de este último, obteniendo nutrientes directamente del Quimo; cuando el parásito se aloja en el intestino, obtenido del consumo de alimentos por el hospedador, y en otros casos, estos parásitos pueden alimentarse de sangre, al adherirse a la pared intestinal lacerando la mucosa y generando hemorragias. En cualquiera de los casos y dependiendo del grado de infección, esta interacción puede perjudicar la salud del hospedador (9).

1.2.3. Tipos de hospedador

- a) **Intermediario:** Hospedador en cuyo interior se aloja al estadio larval del parásito. Ejemplo: *Cysticercus cellulosae*, y sus hospedadores intermediarios son el hombre o el cerdo.

- b) **Definitivo:** Hospedador en cuyo interior se aloja la etapa adulta del parásito y se reproduce: *Toxocara canis* y su hospedador definitivo es el cánido.

- c) **Paraténico:** Es el hospedador que accidentalmente adquiere el estado larval del parásito sirviendo para garantizar la supervivencia del parásito en el medio ambiente, en cuyo interior no se desarrolla ninguna etapa del parásito. Ejemplo: *Toxocara canis* (L2) y su hospedador paraténico es el Humano (Larva migrans).

- d) **Transporte:** Hospedador que es necesario para la transmisión y continuidad del ciclo biológico del parásito. Ejemplo: *Dirofilaria immitis*, cuyo hospedador de transporte o vector son los mosquitos de la familia Culex (10).

1.2.4. Modalidades de parásito

- a) **Obligatorio:** Aquellos parásitos que solo pueden estar sobre o dentro del hospedador, pudiendo clasificarse a su vez en parásitos externos o internos, estos últimos se clasifican también en: Intracelulares (alojados dentro de la célula diana), extracelulares (alojados en cavidades fuera de las células) y erráticos (localizados en zonas no habituales).

- b) **Facultativo:** Aquellos parásitos que pueden o no desarrollar vida libre.

- c) **No facultativo:** Aquellos parásitos que solo desarrollan vida libre (10)(11).

1.2.5. Factores que intervienen en la infección parasitaria

1.2.5.1. Factores ambientales

La influencia de los factores ambientales sobre los parásitos es más clara cuando tienen fases de vida libre, con independencia de que intervengan hospedadores intermediarios en el ciclo biológico. Puede decirse que la dosis infectante que adquiere un hospedador esté directamente relacionada con las circunstancias del medio; en muchos casos, la consecuencia es la adquisición lenta de una determinada especie patógena y la inmunización consiguiente; y en otros, la aparición de brotes agudos por ingestión de dosis altas en poco tiempo. Además, el desarrollo del ciclo endógeno de algunos parásitos puede verse modificado por esos factores (1).

1.2.5.2. Clima

El clima, sobre todo por la temperatura y la humedad relativa, es un regulador de la distribución y la frecuencia de muchas infecciones parasitarias, tanto desde el punto de vista estacional como geográfico, al favorecer o impedir el desarrollo parasitario. Además, los microclimas tienen relevante importancia, naturales, artificiales, o ambos (10).

1.2.5.3. Factor socioeconómico

En definitiva, los autores coinciden en que las parasitosis son frecuentes en localidades cuya clasificación socioeconómica es baja. Esto se fundamenta claramente en la idea de que si un hogar o comunidad es pobre, no tendrá acceso fácil a la información que pueda darle a conocer y entender la importancia del control parasitario, por otra parte, evidentemente, no tendrá los recursos necesarios para implementar un control de parásitos tanto en sus mascotas, así como también con sus congéneres (9,12–14).

1.2.5.4. Alimentación

La alimentación es otro factor muy importante, pues se sabe que canes con una condición corporal por debajo de la normal, tienen una mayor probabilidad de que las parasitosis sean más severas en ellos que frente a otros canes con un estado de nutrición normal. En términos generales, este agravamiento se debe fundamentalmente a que los nematodos reducen el apetito de los animales infectados, interviniendo en el metabolismo del calcio y del fósforo, disminuyendo la digestibilidad de proteínas y de esta manera el organismo resulta inmuno – incompetente. pues es sabido que las proteínas; específicamente los aminoácidos, con componentes de los anticuerpos, de esta forma el organismo en pacientes inmunocomprometidos, son propensos a sufrir otro tipo de trastornos metabólicos o infecciosos que aparecen a causa del debilitamiento del can (1,9,15,16).

1.2.6. *Toxocara canis*

Parásito perteneciente al orden Nematoda, es el parásito y cuyo órgano diana es el intestino delgado del perro, zorro y lobo y que accidentalmente puede infectar al humano, por lo tanto, se cataloga como enfermedad zoonótica al ser transmitida del animal al hombre, donde produce el cuadro de Toxocariasis específicamente síndrome de larva migrans visceral (1,2).

1.2.6.1. Taxonomía

La clasificación taxonómica de *Toxocara canis* más reconocida en los artículos de revisión y estudios (2,9,16) es la siguiente:

- Reino: Animalia
- Rama: Helmintha
- Subrama: Nemátoda
- Subclase: Adenophorea
- Orden: Ascaridida
- Familia: Ascarididae
- Superfamilia: Ascaridoidea
- Género: *Toxocara*
- Especie: *canis*

1.2.6.2. Características morfológicas

Los ejemplares adultos de *Toxocara canis* tienen un cuerpo redondeado con púas craneales y caudales, cubierto por una cutícula amarillenta, en la parte anterior del cuerpo presenta una boca, con tres labios, en la hembra se presenta la vulva, en la región media se aprecia el intestino y en la posterior las gónadas y la cloaca, la parte posterior de los machos es curvada, con papilas (digitiformes) de 2 y 2,5 mm y ancho 0,2 mm., mientras que la parte posterior de las hembras es recta y terminada en punta en forma de flecha. Los ejemplares adultos machos miden de 9 a 13 cm de largo y de 0,2 a 0,25 cm de ancho, mientras que las hembras entre 10-18 × 0,25 a 0,3 cm. Los huevos tienen forma ovalada o esférica, con una superficie rugosa, y miden de 72 a 85 μm . La mayoría de los autores coinciden en que los huevos son de forma subesférica, midiendo entre 75- 90 micras, tienen una capa gruesa y finalmente granulada, de color café oscuro, no son segmentados y su contenido ocupa más o menos todo su volumen interno y no están embrionados siendo eliminados al exterior con las heces. Por otra parte, las larvas miden aproximadamente 0.4 μm por 0.021 de diámetro en promedio, se caracterizan por su segregación de prótidos en los estadios larvarios, encontrándose en interior de los huevos en el medio ambiente como L2 (16–18).

1.2.6.3. Ciclo evolutivo

Partiendo desde el estado adulto alojado en el intestino del hospedador definitivo, los parásitos tienen un tiempo de vida aproximado de 4 meses en este órgano, lugar donde las hembras, en periodo patente (ovoposición), pueden diariamente producir 200.000 huevos, los cuales son expulsados junto a las heces y depositados en el medio ambiente y dispersarse en la tierra. Si las condiciones climáticas son las adecuadas, temperatura entre 15 y 30 °C, humedad y oxígeno, los huevos maduran hasta aproximadamente 30 días, pasando por etapas de desarrollo, luego de las primeras 24 horas de expuesto al medio ambiente, se realiza la primera división celular, dando así inicio a los estadios tempranos que duran alrededor de 3 a 5 días. Luego de este tiempo, podemos afirmar que comienza los estados de desarrollo donde podemos identificar: Huevo con una, dos, tres y cuatro células, mórula temprana, mórula tardía, blástula, gástrula, renacuajo, pre-larva, primer, segundo y tercer estado larvario. Siendo estos últimos estadios donde la actividad larval es fácilmente observada a la exposición de la luz del microscopio. Por el contrario, los huevos no viables se caracterizan por tener citoplasma turbio o degradado, cubierta exterior es delgada o colapsada dando lugar a las deformaciones. (1,9,17).

Una vez pasado el periodo aproximado de 30 días desde la expulsión del huevo al medio ambiente, encontraremos en el interior el estado L2 infectante listo para ser ingerido por el hospedador definitivo, una vez deglutido, sigue dos vías, las cuales son: Traqueo – digestiva y somática. Una vez en el

estómago, estimulados por acción del pH gástrico, la larva eclosiona del huevo y penetran la mucosa intestinal para tomar vía sanguínea mesentérica, y luego de 24 a 48 horas, llegan a hígado vía portal. Esta etapa es importante, pues en canes mayores de 6 meses, las larvas L2 son incapaces de llegar a pulmón por factores inmunitarios principalmente, y de esta forma se alojan en órganos como Hígado, ojos y cerebro, manteniéndose latentes hasta por dos años esta es la vía Somática. Pero en canes menores de 6 meses, la vía Traqueo – digestiva comienza repitiendo el ciclo anterior hasta llegar al hígado, luego por vena Cava caudal llega hasta la Aurícula derecha, pasa a Ventrículo derecho y Arteria Pulmonar, es aquí que atraviesa alveolos y una vez en parénquima pulmonar evoluciona a L3, para dirigirse por bronquiolos, bronquios y tráquea hasta llegar a la altura de la Glotis, para ser deglutido nuevamente al tomar agua, pasar saliva o alimentos. Una vez en intestino delgado convertida en L4 pasarán cerca de 10 días para convertirse en adultos luego de 4 a 5 semanas, machos y hembras de *Toxocara canis* copularán para que pueda la hembra expulsar huevos y repetir el ciclo (9,17,18).

Es preciso indicar que en canes gestantes, la acción de la hormona progesterona, estimula la migración de los estados larvales no activos (somáticos), alojados en los órganos mencionados en este apartado, estas hembras migrarán a útero afectando a los fetos en desarrollo, pudiendo causar abortos dependiendo el grado de infección; por otra parte, otra vía que pueden tomar las larvas en hembras gestantes es la migración a glándula mamaria para ser transmitida a los fetos por la lactación, esta forma de transmisión también se le conoce como transmisión vertical. Es preciso mencionar que,

los cachorros que hayan sido contagiados durante la lactación, eventualmente alojarán estado adulto, el cual liberará huevos por medio de las heces, los cuales se contaminarán el nido, por tanto, su pelaje estará contaminado con materia fecal y huevos de *Toxocara canis* habiendo la probabilidad potencial de sufrir reinfección tanto para la madre al momento de limpiarlos, como para las crías al lamerse frecuentemente (1,16).

1.2.6.4. Patogenia

Está demostrado que el proceso de desplazamiento de los estados larvales a nivel pulmonar genera, dependiendo del número de larvas, cuadros irritativos e inflamatorio en este órgano, resultando como consecuencia Edema alveolar, que a su vez evita una eficiente Hematosis y en consecuencia, Disnea, Hipoxia e Hipercadmia. Por otra parte, la acción tóxica de estos parásitos se fundamenta en que, al ser organismos vivos, generan productos de desecho, los cuales pueden iniciar reacciones alérgicas que, según sea el grado en la liberación de Histamina, el tipo hipersensibilidad retardada mediada por células Th1, así como por IgE, eosinofilia, e incremento en la expresión de citoquinas (IL3, IL-13, IL-5 e IL-4) características de una respuesta mediada por Th2, podría generar desde alergias leves hasta generalizadas como shock anafiláctico en el peor de los casos. Otra forma de daño que pueden generar su acción mecánica, donde básicamente obstruyen el tránsito normal del alimento, al encontrarse en sectores intestinales los parásitos adultos envueltos unos con otros, esta estructura parasitaria se asemeja a “ovillos” de lana, ocupando espacio en la luz intestinal que dependiendo el grado de

tensión, puede generar cólicos los cuales a su vez inhiben el centro regulador del apetito, disminuyendo la cantidad de alimentos que ingiere en canido (Disorexia) o incluso inhibirla por completo (Anorexia), de esta forma con el pasar de los días, podremos tener un paciente en cuadro de Emaciación y Caquexia comprometiendo aún más la inmuno incompetencia (1,16).

1.2.6.5. Larva migrans

El ciclo biológico de este parásito es más complejo que el de otros nemátodos, pues los cachorros pueden infectarse de múltiples formas, por ejemplo: Migración transplacentaria de larvas infectivas que han permanecido enquistadas en los tejidos de la madre, por ingestión de larvas viables de la leche materna o por consumo de tejidos de hospedadores paraténicos. Se entiende además que, cuando son cachorros, la afinidad sentimental que genera el humano a las crías es muy significativa, convirtiendo al cachorro en una fuente de transmisión parasitaria constante, pues los huevos al ser expulsados con las heces pueden contaminar ambientes y pelaje del cachorro. Esta estrechez de convivencia entre cachorro y humano, puede ocasionar el consumo accidentalmente de huevos con larvas infectivas del parásito (L2), es por ello que se considera una enfermedad zoonótica. Luego de ser consumidos los huevos con larvas infectivas (L2) por el humano, el trayecto de evolución de *Toxocara canis*, es igual al del cánido, con la única diferencia de que en nuestra especie, no se desarrolla el estado adulto parasitario, es decir, atraviesan pared intestinal, llegan al hígado por la circulación portal, siguiendo vena Cava caudal, corazón y pulmones pueden llegar a circulación

sistémica. La sintomatología que presenta el humano depende de la cantidad de larvas que estén en un determinado órgano y la cantidad de huevos ingeridos, siendo los granulomas hepáticos, pulmonares, oculares, cerebrales y ganglionares las lesiones frecuentes ocasionadas por *Toxocara canis* en nuestra especie (1,19,20).

1.2.6.6. Diagnóstico

Para el diagnóstico de *Toxocara canis*, se cuentan con herramientas variadas, desde las más sencillas a las más tecnificadas. La técnica de flotación se emplea no solo para el diagnóstico, sino también para valorar el grado de (2)infección en un paciente, esta técnica se fundamenta en que los huevos de *Toxocara canis* son menos densos que una solución saturada, ya sea de sal o azúcar; para este estudio, se emplea muestras de heces de canes (21).

Otra prueba también útil, aunque requiere de mayor equipamiento e inversión, es Reacción en cadena de la Polimerasa o por sus siglas (PCR), consiste en la extracción de DNA de la muestra, purificarla para evaluar la calidad de DNA por medio de un equipo llamado NANODROP 2000 y posteriormente someterlo a reacción a la cadena de Polimerasa (22).

Otra forma de diagnosticar el agente etiológico es mediante la prueba de ELISA al detectar antígenos excretorios y secretorios de las larvas L2, L3 y L4 y estado adulto, teniendo una especificidad del 90% y una sensibilidad del 80% (18).

1.2.6.7. Control y Tratamiento

El control está orientado a evitar la contaminación del ambiente y diseminación de los huevos larvados, para ello se deberá tener presente tres formas fundamentales de control: 1) Eliminar infección en mascotas, por medio de la desparasitación. 2) Correcta disposición de las deposiciones, siendo completamente segura los primeros días de eliminación de huevos, pues recordemos que deben de pasar aproximadamente 25 días para que estos sean infectivo, y finalmente 3) Concientizar a la población sobre el potencial y control de esta enfermedad (1,19,23).

Una forma de controlar la parasitosis simple es la desparasitación en cachorros a partir de las 2 semanas de edad y luego de 2 semanas repetir el procedimiento, de esta forma podremos eliminar la infección adquirida prenatalmente de los cachorros; además se recomienda que la madre reciba tratamiento junto a los cachorros. En el caso de no tener crías, los adultos también deben ser tratados, y la frecuencia dependerá del ambiente y la epidemiología local, sin embargo, algunos autores también coinciden en la desparasitación mensual independiente a las condiciones indicadas anteriormente (1,19).

Si las posibilidades económicas familiares son buenas, se sugerirá realizar un análisis coproparasitológico, a fin de encontrar el tipo y carga parasitaria que aqueja a la mascota y tratarla de manera certera (16–18).

Los Benzimidazoles son los antiparasitarios antihelmínticos más empleados para el control de *Toxocara canis*, dentro de este grupo destacan Fenbendazol (50 mg/kg), Febantel (25 mg/kg), Albendazol (50 mg/kg/3 días) y Pirantel (5 mg/kg). Otros medicamentos como las lactonas macrocíclicas como Ivermectina (0.2 mg/kg) también se emplea para su control (1,2,9).

1.2.7. Generalidades del Ozono

1.2.7.1. Características físico - químicas generales

Gracias a su pronunciada capacidad de reacción con otros compuestos y moléculas, es un filtro efectivo de la radiación ultravioleta proveniente del sol y por lo mismo, ayuda al balance biológico en la biósfera. Si intentamos describir de manera organoléptica, ozono se presenta con un olor característico al cual se lo ha descrito como “eléctrico-picante” el cual podría ser una especie de “oxígeno súper activo”. Además, se puede percibir durante las tormentas, pues la descarga eléctrica de la luz, entre las nubes y la tierra, cataliza la formación de ozono a partir de oxígeno en la atmósfera. A pesar de ser un compuesto altamente inestable y reactivo, su mecanismo de acción se vincula con la generación de productos secundarios debido a la interacción con los dobles enlaces de compuestos orgánicos. Estas reacciones y lo que se genera en ellas, otorga al ozono diferentes propiedades de interés terapéutico e industrial (24,25).

1.2.7.2. Uso de ozono en medicina

La terapia de ozono se ha utilizado desde hace casi 40 años. El primer informe sobre terapia de ozono fue publicado por Wolf en 1974, la ozonoterapia es la técnica que emplea una mezcla de oxígeno y ozono para tratamiento de diferentes patologías, siendo una molécula definida teniendo un rango de indicaciones claramente determinadas. (24–26)

La capacidad desinfectante y antiséptica del ozono, orientó a que sea usado en medicina por su excelente efecto germicida, es así que las primeras aplicaciones médicas del ozono fueron para el tratamiento de la gangrena postraumática en los soldados alemanes en la primera guerra mundial. El uso del ozono en medicina incrementó de manera progresiva en el último siglo, estimulada principalmente a la falta de antibióticos (24,26).

En concentraciones y dosis adecuadas, la ozonoterapia tiene propiedades inmunomoduladores, antiinflamatorias, analgésicas, bactericidas, fungicidas, antivirales y antioxidantes. Sin embargo, todavía hoy existe reticencia a su empleo en países desarrollados debido, por una parte, al mal uso de que ha sido objeto por médicos poco ortodoxos y también por dudas respecto a su posible toxicidad (27).

Una de las propiedades más resaltantes del ozono, es su acción reparadora, capaz de recuperar la pared interna de los pequeños vasos sanguíneos (Angiogénesis), y una constatación de esta realidad son los excelentes resultados publicados en un ensayo clínico aleatorizado, en el “European Journal Pharmacology” en el año 2005 (25).

1.2.7.3. Mecanismo de acción

El ozono en el ámbito Médico tiene un comportamiento peculiar en los organismos, pues es una molécula inestable que, administrado con la sangre humana, es rápidamente neutralizada por los mecanismos antioxidantes que dispone este tejido (ácido úrico, ácido ascórbico, glutatión) y por compuestos lipídicos presentes en el plasma humano que en conjunto denominamos PUFA (ácidos grasos poliinsaturados). Este mecanismo de acción está estrechamente ligado a la producción de cuatro grupos fundamentales que se obtienen al reaccionar con los fosfolípidos de membrana, estos son: ozónidos, aldehídos, peróxidos y el conocido peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (25,27).

Lo primero que sucede, una vez administrado el ozono dentro del organismo, es la formación de un ozónido primario, extremadamente inestable, conocido como Zwitterion. Este ion es extremadamente importante porque actúa con otras moléculas como Aldehídos, alcoholes,

éteres, aminoácidos libres, grupos sulfhídricos o agua. Luego, este ozónido primario pasa al ozónido secundario, mucho más estable, denominado Molonozónido. Pero lo interesante para nosotros ocurre que, al romperse este ozónido secundario, se generan grupos superficiales oxigenados O_2 y en un átomo O^- , el cual le confiere su específica acción: antiinfecciosa, antiviral, antifúngica, antitóxica, antiparasitaria y activante de la circulación sanguínea, y nuevamente es menester indicar que, en cantidades adecuadas y controladas, estos derivados de la reacción del O_3 ejercen diferentes funciones biológicas y terapéuticas (25,28).

1.2.7.4. Estimulación de los factores de crecimiento

Es el plasma rico en plaquetas que ha sido ampliamente usado en múltiples campos de la Medicina regenerativa, usando como elemento activador al ozono, de todos los factores de crecimiento liberados por las plaquetas, los que se encuentran en mayor concentración y cuya estructura y función ha sido ampliamente estudiada son el PDGF (Factor de crecimiento de origen plaquetario) y el TGF - beta (Factor de crecimiento de transformación - beta). Estos factores son directamente responsables de la regulación de procesos celulares en el paciente como la diferenciación y la quimiotaxis, funciones biológicas clave en los mecanismos de la reparación de tejidos de los organismos. Estos factores de crecimiento ejercen la función de regeneración dependiendo la naturaleza del tejido, pero en líneas generales, los que estrechamente se ven involucrados en el proceso son: 1) Factor de crecimiento de origen plaquetario (PDGF), 2) Factor de crecimiento de

transformación - beta (TGF - beta), 3) Factor de crecimiento fibroblástico (FGF), 4) Factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), 5) Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y 6) Factor de crecimiento epidérmico (27,29).

1.2.7.5. Acción analgésica y antiinflamatoria

El mecanismo del ozono en el metabolismo del paciente para producir un efecto analgésico mediante aplicaciones locales, en primer lugar está relacionada con el estímulo de la interleuquina IL 10, la cual inhibe a la citoquina IL 6 que es la precursora de la producción de prostaglandinas inflamatorias dependientes de la ciclooxigenasa 2 (COX 2), por otro lado, a esto se suma el efecto liberador de cortisol endógeno que potencia el efecto antiinflamatorio (24,29,30), y en segundo lugar el efecto antiinflamatorio del ozono se basa en su capacidad para oxidar compuestos que contienen enlaces dobles, como el ácido araquidónico y las prostaglandinas, esto es importante, pues hay sustancias biológicamente activas que se sintetizan a partir de dicho ácido y que participan en grandes concentraciones en el desarrollo y en el mantenimiento de la inflamación (25).

Como atribución adicional, reporta la reducción en la expresión de IL - 1 y caspasas, las cuales se extienden a lo largo de las neuronas nociceptivas primarias, reduciendo la sensibilidad y el dolor (31).

1.2.7.6. Efecto bactericida

Esta cualidad del ozono, responde a la destrucción de la membrana bacteriana debido a la peroxidación de las lipoproteínas y fosfolípidos que componen la misma, y mediante diferencia de presiones que ejerce un efecto de “explosión” y acción enzimática por parte de las células granulocíticas del sistema inmunitario, las bacterias son destruidas, dentro de las bacterias contra las cuales hay eficacia de acción podemos citar a: *Pseudomona aeruginosa* y la *Escherichia coli* (25,26).

Sin embargo, si bien en un principio se pensaba que fisiológicamente la generación de H_2O_2 era la responsable de eliminar los microorganismos, se han lanzado nuevas hipótesis basadas en que las concentraciones fisiológicas de H_2O_2 son muy bajas para realizar este efecto. Estas hipótesis señalan que el H_2O_2 es solo un intermediario en la formación de agentes con mayor potencia oxidante como el O_3 , además, es interesante destacar que en el 2003 se descubrió que el ozono puede ser generado in vivo en neutrófilos activados. Este descubrimiento es de notable repercusión, ya que demuestra que esta sustancia tiene un papel fisiológico, no solo como agente bactericida, sino que podría formar parte de los mecanismos fisiológicos de amplificación de la inflamación y la activación de genes asociados (25,26).

1.2.7.7. Acción antifúngica y antiviral

Al aplicar la concentración inhibitoria mínima de ozono acompañado con aceite de girasol (0.532 mg/mL) en cultivos de dermatofitos culpables de la onicomycosis: *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mengagrophytes*, *Microsporum spp*, *Candida spp* y por no dermatofitos como *Fusarium spp*, *Aspergillus spp*, *Acremonium spp* y *Escopulariopsis spp*. Se encontró actividad contra todas las especies evaluadas, siendo más susceptibles a la acción del aceite: *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* y *Microsporum canis* (29). Estos resultados sugieren que el tratamiento con ozono puede influir en las actividades de muchas de las enzimas y proteínas producidas por microorganismos micóticos, considerando que la acción del ozono sobre la Invertasa, Pectinasa y Tripsina fue capaz de mostrar un cierto grado de oxidación solo después de una exposición prolongada, resaltando el factor desnaturalizante del mismo sobre las proteínas, es decir, presenta cambios en sus sitios de proteínas sensibles (29,32).

Para finalizar, la acción viricida del ozono fue descubierta gracias a un estudio con el virus de la Polio tipo I, en el que, a pesar de conservar su estructura, se determinó un daño en las cadenas polipéptidas y proteínas de envoltura. Ello conlleva a una pérdida en la fase de adhesión y posteriormente a la replicación viral (26).

1.2.7.8. Acción en la Glucólisis

El incremento en la velocidad de glucólisis del eritrocito se manifiesta tras un ciclo de ozonoterapia, al constatarse un aumento de la presión parcial de oxígeno (PPO₂) en sangre arterial y al mismo tiempo una disminución de la PPO₂ en sangre venosa. Esto sucede a causa de un ligero descenso del pH intracelular o un aumento de las concentraciones de 2,3 - difosfoglicerato (25).

1.2.7.9. Acción en el eritrocito

Sus efectos sobre los eritrocitos son relevantes, podemos mencionar que se produce un incremento neto en el transporte de oxígeno a los tejidos. Lo más probable es que este efecto tenga lugar tras un ciclo de tratamiento con ozono y actúe por un mecanismo no mediado por receptores. Este efecto es similar al que se logra con un entrenamiento físico, por lo tanto, no es apropiado considerarlo una práctica dopante. Además, es preciso mencionar que, el eritrocito reacciona al ozono de manera inmediata; generando peróxidos de cadenas cortas, que penetran al eritrocito e influyen directamente en su metabolismo, derivándose una secuencia funcional de pequeño y controlado estrés oxidativo, que determinará finalmente el aumento de los sistemas antioxidantes de esta manera este estrés no afecta a los eritrocitos (25).

1.2.7.10. Acción en las plaquetas

Sobre las plaquetas, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) produce un efecto de activación en los factores de crecimiento, estos factores como se han mencionado son: PDGF-B (factor de crecimiento derivado de plaquetas), TGF- β 1 (factor de crecimiento transformante β 1), IL-8 (interleucina 8) y EGF (factor de crecimiento epidérmico). Este efecto mediado por las plaquetas es fundamental e importante para la cicatrización de úlceras en miembros isquémicos. Este resultado se ven favorecido por la asociación del tratamiento junto a la Autohemoterapia ozonizada con terapia local (27).

1.2.7.11. Efecto modulador de la respuesta inmune

Distintos estudios de investigación han demostrado que la ozonoterapia tiene una acción inmunomoduladora, a través de la síntesis o liberación de citocinas inmuno estimuladora o inmunosupresoras. Como inmunomodulador, se debe gracias a que estimula la acción mitocondrial de las células de defensa, codificando mejor la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad CMH de los monocitos, especialmente los macrófagos pulmonares y las células de Kupffer, produciendo una neutrofilia moderada por quimiotaxis de neutrófilos por citoquinas. Cabe mencionar que se han reportado resultados satisfactorios al aplicar ozonoterapia, tanto a pacientes con enfermedades auto inmunes, así como a otros con déficit en sus funciones inmunológicas. Ahora, si bien hay una

estimulación de citoquinas, todas ellas se auto regulan entre sí, por lo que la producción de estas no sobrepasará valores más allá de los necesarios, una vez que se activen los elementos contra - reguladores (25).

1.2.7.12. Efectos adversos

Muchos de los estudios no refieren importantes efectos adversos, en términos generales, depende mucho la vía de administración y presentación del producto, lo que aumenta el riesgo; sin embargo, y como se mencionó, son pocos los reportes y los más graves son publicados como reporte de un caso aislado, donde los más destacados fueron, un accidente Cerebro - basilar, una hemorragia aguda bilateral vitreo - retiniana, un caso de irritación meníngea y cinco muertes por embolismo gaseoso, mientras los casos con efectos adversos moderados no sobrepasan la formación de abscesos (27,29,33).

1.2.7.13. Vías de administración

El ozono medicinal se incluye en un flujo de oxígeno puro en una concentración muy pequeña (99,9 partes de oxígeno por 0,05 partes de ozono cuando es para uso interno). Hay una dosis óptima, que es la que consigue la máxima efectividad. Hay diferentes formas de llevar el oxígeno activado al lugar necesario (32).

Las más usuales formas de administración son las siguientes (24,27,30–32):

- a) **Inyección intramuscular:** Pequeña auto hemoterapia: se extrae a la mascota una pequeña cantidad de sangre, normalmente 1 cc por cada 10 kg, de peso, se ozonifica y se vuelve a inyectar inmediatamente vía intramuscular. Así se consigue una especie de autovacuna que proviene de las propias células. Es muy utilizada en los casos de cáncer.

- b) **Auto hemoterapia mayor:** Conocida también como depuración de la sangre. Se extraen de 50 a 150 cm³ de sangre según peso de la mascota, posteriormente se ozoniza, se vuelve a inyectar en vena mediante transfusión. Es la forma de aplicación más común en el caso de enfermedades graves como la artritis, artrosis, cáncer y las enfermedades cardíacas.

- c) **Inyección endovenosa:** Tiene un efecto más potente que la auto hemoterapia mayor, debe ser realizada muy despacio (actualmente no se recomienda por su gran posibilidad de provocar embolia gaseosa).

- d) **Inyección intraarterial:** En casos de obstrucción del flujo sanguíneo a lo largo de la arteria. Es un método de aplicación poco frecuente.

- e) **Inyección intraarticular:** Para tratar paliativamente y en algunos casos terapéuticamente enfermedades degenerativas articulares.
- f) **Aceite de oliva/vegetal ozonificado:** Se aplica sobre la piel, ojos, oídos, por ejemplo, en problemas de dermatitis de cualquier índole, en otitis y conjuntivitis, en gingivitis y fistulas, esta vía tópica está dando buenos resultados.
- g) **Vía oral:** Se usa para tratar trastornos gástricos e intestinales y es la forma más antigua de administración interna, pues empezó a practicarse por los años treinta. La mucosa intestinal absorbe el ozono y gran parte llega directamente al hígado y le ayuda en su función de desintoxicación. Es la vía de administración en el tratamiento de la colitis ulcerosa y otros trastornos intestinales.
- h) **Vía intraperitoneal:** Vía de administración novedosa, se utiliza para la terapia contra el cáncer y está dando muy buenos resultados en humanos.

1.2.7.14. Enfermedades que se pueden tratar

La aplicación de la ozonoterapia está determinada por sus propiedades antiinflamatorias, antisépticas, de modulación del stress oxidativo y de mejora de la circulación periférica y la oxigenación tisular. Esto, claro está, determina el amplio número de patologías en las que resulta de utilidad,

solo o, habitualmente, como tratamiento complementario. Las concentraciones y modo de aplicación varían enormemente en función del problema a tratar, ya que la concentración de ozono determina el tipo de efecto biológico que produce y el modo de aplicación marca su ámbito de acción en el organismo. Así pues, se pueden beneficiar de la ozonoterapia las patologías con origen inflamatorio, infeccioso, isquémico y con alteraciones del stress oxidativo (24,27,30,32,33).

1.3. Definición de términos básicos

- a) **Ozono:** Gas muy oxidante, de color azulado, que se forma en la ozonósfera y que protege la tierra de la acción de los rayos ultravioletas de sol; es un estado alotrópico del oxígeno producido por electricidad (25).

- b) **Ozonoterapia:** Tratamiento médico de algunas enfermedades que se fundamentan en el empleo del ozono (32).

- c) **Aceite ozonizado:** Se denomina así a aquellos productos derivados de la oxidación lipídica, producto de la reacción del ozono con los ácidos grasos y otros sustratos contenidos en los aceites vegetales, tienen múltiples beneficios terapéuticos aplicados a campos médicos como: Dermatología, Hematología; Medicina regenerativa, Parasitología, Oncología (4).

- d) Parásito:** Organismo que vive sobre otra especie o en su interior. Cumple ciclos de vida directo o indirecto, incapaz de generar su propio alimento, el cual substraer de su hospedador sin realizar simbiosis, generando a cambio daños a la salud de mencionado hospedador por las múltiples acciones patológicas que produce como: Acción tóxica, expoliatriz, mecánica y alérgica (21).
- e) Resistencia parasitaria:** Se denomina así a la característica que le otorga un gen al parásito para poder desarrollar múltiples mecanismos para contrarrestar los efectos terapéuticos de antiparasitarios, por lo general este gen se expresa luego de tiempo de exposición a dosis bajas a un determinado antiparasitario (sub-dosificación) o de por sí, a la exposición prolongada. Este gen es una manifestación del principio de supervivencia parasitaria (18).
- f) Pirantel:** Fármaco que está indicado en el tratamiento de infecciones por nematodos en humanos y animales domésticos. Son bloqueadores neuromusculares despolarizantes con acción desparasitante. Induce una fuerte y persistente activación de los receptores nicotínicos, lo que resulta en la parálisis estática del gusano. El Pamoato de pirantel también inhibe la enzima colinesterasa, es eficaz contra las lombrices, nemátodos y los oxiuros (23).

CAPÍTULO II

MARCO METODOLÓGICO

2.1.Ubicación geográfica

La investigación se realizó en la ciudad de Cajamarca, con veinte canes (20) mestizos machos y hembras de hasta seis meses (06) de edad positivos a *Toxocara canis* al ser infectados artificialmente y cuya propietaria autorizó formalmente su participación en la presente investigación, la ciudad en mención tiene las siguientes características meteorológicas*.

• Altitud	2760 m.s.n.m.
• Temperatura máxima promedio	20.8 °C
• Temperatura media anual	14.75 °C
• Temperatura mínima promedio	8.5 °C
• Precipitación pluvial anual	801.8 mm
• Humedad relativa media anual	68.3 %
• Humedad mínima	35.2 %
• Humedad máxima	90.1 %

*Fuente: Servicio Nacional de Meteorológico e Hidrología (SENAMHI) 2022.

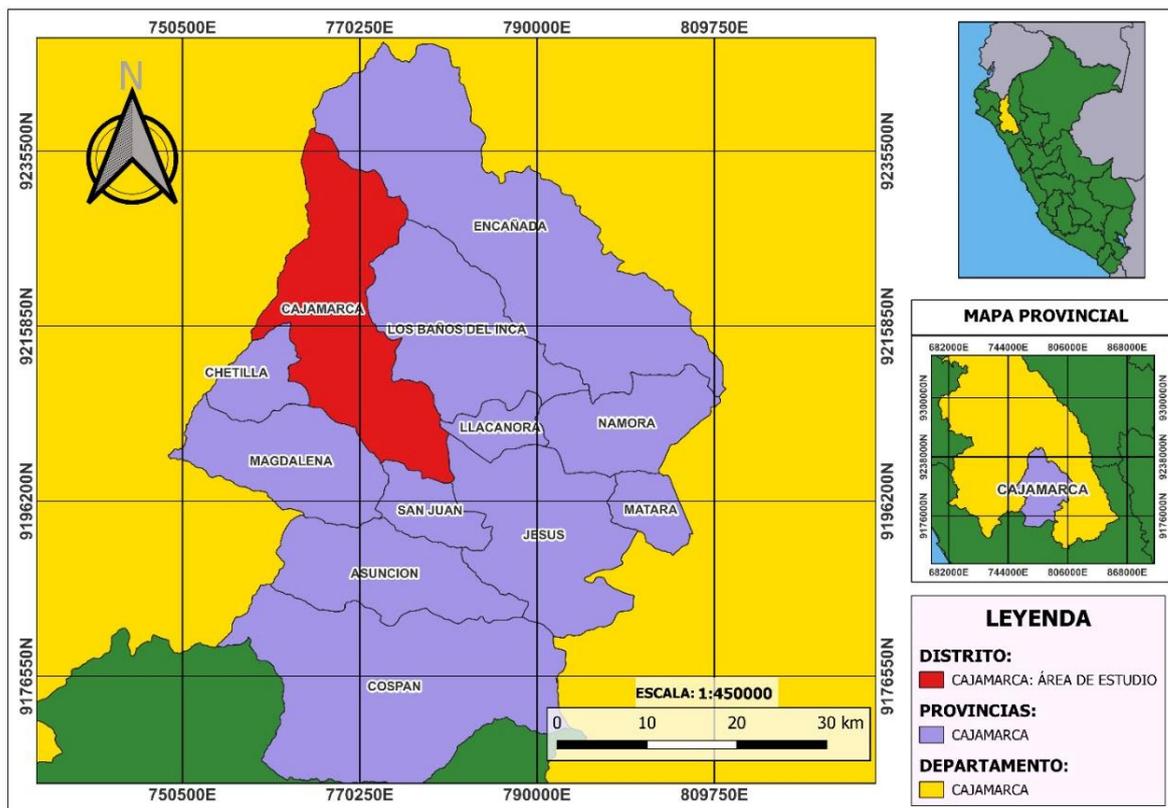


Figura 1. Mapa de límite geográfico de la investigación, en rojo podemos apreciar los límites de la provincia de Cajamarca.

2.2. Diseño de investigación

Se trabajó con veinte canes mestizos menores de 6 meses, los cuales fueron proporcionados por una sola persona, estando al momento de la investigación en condición de rescatados y puestos en ambientes especiales construidos con el objetivo de separarlos por grupos y tener un mejor control de los animales, estos canes fueron desparasitados 15 días antes del estudio con el producto Pamoato de pirantel a una concentración de 250 mg/ 5 mL, para constatar así, ausencia de

huevos de *Toxocara canis* mediante técnica de flotación por solución saturada azucarada de Sheather; se registraron los datos de interés de cada uno de ellos en una ficha elaborada por el investigador (Apéndice 02) obteniendo datos como: Edad, sexo, peso, fecha de última desparasitación y producto empleado, además de incluir fechas de infección con huevos de *Toxocara canis* infectivos (L2), cabe mencionar que la identificación a cada uno de los canes se realizó con collares y placas con el nombre correspondiente. La infección artificial se obtuvo al cumplir un protocolo modificado por el investigador, de obtención e incubación de huevos de *Toxocara canis* para infección artificial. Al cabo de un mes, se constató la presencia de huevos y carga parasitaria en muestras fecales de los animales infectados mediante técnica de flotación por solución saturada de azúcar, para el presente estudio solo fueron necesarios veinte perros positivos a *Toxocara canis* post infección artificial, siendo agrupados de manera aleatoria en cuatro grupos con cinco (05) canes cada uno. A cada grupo, con excepción del Grupo control, se le asignó un protocolo de tratamiento específico, los detalles de cada grupo se menciona a continuación: 1) Grupo control: Es el grupo en el cual a sus integrantes no se le administró ningún fármaco antiparasitario, 2) Grupo 2: Este grupo tuvo asignado tratamiento solo con aceite de girasol ozonizado (AGO), 3) Grupo 3: Se asignó a este grupo tratamiento solo con Pamoato de pirantel y, finalmente el 4) Grupo cuatro, se le asignó un tratamiento combinado tanto del aceite de girasol ozonizado (AGO) como también Pamoato de pirantel. Una vez cumplido los protocolos de tratamiento de cada grupo asignado a medicación, se evaluó nuevamente la presencia y carga parasitaria para determinar la eficacia del aceite ozonizado en el control de *Toxocara canis*, como tratamiento por sí solo o como adyuvante en combinación de Pirantel. Además, es preciso indicar que, al finalizar

la investigación, todos los canes fueron desparasitados con Pamoato de pirantel, cumpliendo los principios de ética de investigación en animales y evitar también la propagación de la enfermedad parasitaria en el medio ambiente.

2.3. Métodos de investigación

Para desarrollar la presente tesis, se cumplió la metodología descrita a continuación:

2.3.1. Obtención de huevos larvados

Para obtener los huevos larvados de *Toxocara canis*, se diseñó un protocolo con base en antecedentes de trabajos relacionados (18,34) y modificado para beneficio del desarrollo de la investigación. Dicho protocolo será descrito a continuación:

- a) Diagnosticar Toxocariosis en las heces de cachorro canino, mediante técnica de Sheather por flotación con solución saturada de azúcar, mediante microscopía simple.
- b) Desparasitar con productos comerciales disponibles en nuestro medio, para el presente estudio se empleó Pamoato de pirantel 250 mg/ 5 mL con una dosis de 4.5 mg/Kg de peso.

- c) Una vez expulsados los estados adultos de *Toxocara canis*, se las mantendrá en un depósito de plástico descartable con solución salina fisiológica al 0.9 % a una temperatura de 38.5 °C hasta que los parásitos mueran, esta temperatura se mantendrá estable mediante baño maría.
- d) Observar con estereoscopio la solución salina, agitada previamente para homogenizar.
- e) Si hay presencia de huevos, con ayuda de un colador de 200 micras, colar el contenido obtenido en un recipiente plástico descartable nuevo.
- f) En viales de 5 mL de capacidad, agregar 1 mL de agua destilada.
- g) Con ayuda de micropipeta calibrada para volumen de 1µL, recolectar los huevos del envase de plástico descartable, los cuales serán depositados en los viales de 5 mL hasta completar un total de 60 huevos por vial.
- h) Rotular cada vial indicando la cantidad de huevos en su interior, fecha de expulsión de parásitos y fecha de envasado. Si es necesario, los huevos pueden ser conservados en refrigeración entre 4 y 6 °C hasta su recolección final en viales de 5 mL.
- i) La tapa de los viales no será cerrada en su totalidad, para garantizar presencia oxígeno circulante. Luego de ello, serán colocados en una caja a temperatura ambiente, no sin antes haber sido envueltos en papel aluminio para garantizar una temperatura estable.
- j) Verificar cada 4 días el estado de viabilidad de huevos, anotando sus cambios, esto con ayuda de micropipeta calibrada a 1µL, homogenizar el vial de 5 mL conteniendo los 60 huevos de *Toxocara canis*. Colocar el volumen obtenido en una laminilla y repetir el proceso 10 veces. Observando en estereoscopio en primer lugar la presencia de huevo, y

llevado a microscopio para observar los detalladamente el estado y viabilidad de cinco huevos por lo menos.

- k) Con ayuda de una pipeta Pasteur, colocar 1 gota de agua destilada en el portaobjetos a fin de homogenizar y rescatar los huevos recientemente observados, este proceso se realizará con la ayuda del estereoscopio. Repetir cada 4 días el proceso hasta reconocer la presencia de huevos larvados infectivos (L2) en cada vial.

2.3.2. Infección artificial

Fueron administrados vía oral un total de 50 huevos larvados (L2) de *Toxocara canis* a cada uno de los 20 canes participantes del estudio, dando un total de 1000 huevos larvados del parásito, este número se consideró basándonos en el estudio publicado con el objetivo de evaluar las lesiones histopatológicas en órganos por la migración larvaria de *Toxocara canis* en animales de laboratorio (34) y al código de ética de la Universidad Nacional de Cajamarca, capítulo IV, artículo 10 sobre el empleo de animales para las investigaciones (35). De esta forma se pudo garantizar homogeneidad en el número de huevos dado a cada can participante del estudio, aminorando las posibles complicaciones en órganos durante el proceso de migración larval descrito en el ciclo biológico del parásito en el hospedador definitivo, teniendo así la probabilidad de que hembras post cópula con macho, lleguen a etapa patente y obtener huevos a la evaluación coproparasitológica necesarios para evidenciar la eficacia del aceite ozonizado en el control de *Toxocara canis*.

Para esto, en primer lugar, los canes fueron desparasitados 15 días antes del estudio con el producto Pamoato de pirantel 250 mg/ 5 mL, a la dosis recomendada por el fabricante (4.5 mL/kg).

El siguiente paso fue administrar los huevos larvados a cada can, para ello, se empleó una jeringa de 3 mL y aguja n.º 23, para homogenizar el contenido del vial se procedió a aspirar y expulsar dicho contenido colectado unas 10 veces en el mismo vial, una vez hecho esto, se aspiró con sumo cuidado el contenido homogenizado, se cubrió la aguja con su casquete y fue apartada un momento, se procedió a abrir la boca del can con sumo cuidado y se expulsó el contenido de la jeringa a la altura de la curvatura caudal de la lengua, una vez evidenciado el reflejo de deglución, se utilizó 2 mL de solución fisiológica salina al 0.9% vertidos en el vial usado para coleccionar posibles huevos adheridos en las paredes o fondo. Repetimos el proceso de aspirado y expulsado con la aguja empleada en primera instancia también unas 10 veces y administramos nuevamente el contenido de la jeringa por última vez al can, desechando definitivamente la aguja y jeringa en un contenedor para material de riesgo biológico.

2.3.3. Presencia de *Toxocara canis* post infección artificial

Para evidenciar la presencia de estado adulto de *Toxocara canis* post infección artificial en los 20 canes del estudio, se realizó una evaluación

coproparasitológica por técnica de Sheather por flotación con solución saturada de azúcar al mes de infección, colectando y evaluando muestras fecales siguiendo el mismo protocolo empleado para el presente estudio y mencionado en puntos anteriores.

2.3.4. Tratamiento protocolar

Para el presente estudio, los 20 canes fueron agrupados en 4 grupos de 5 integrantes cada uno, a su vez, a cada grupo, a excepción del grupo control, tuvo un medicamento asignado en tiempo y dosis, los cuales se detallarán a continuación:

2.3.4.1. Grupo control: Se hicieron cinco visitas (05) en total, realizando en el día uno la identificación, así como el pesaje de los animales y primera dosificación con Pamoato de Pirantel en suspensión de 250 mg/ 5 mL siendo para este estudio la dosis administrada de 4.5 mg/kg., para luego de 15 días (segunda visita), se recolectó muestras fecales frescas para determinar la ausencia de huevos *Toxocara canis* por el método de flotación descrito en el presente trabajo, una vez confirmada su ausencia, se procedió a infectar artificialmente con 50 huevos de *Toxocara canis* a cada can (tercera visita), para luego de 30 días, realizar la colecta de muestra fecal y confirmar la presencia de huevos de *Toxocara canis* en las deposiciones (cuarta visita). Finalmente, se hizo una última visita al término de la investigación para recolectar heces y comparar el hpg con los otros grupos del estudio.

2.3.4.2. Grupo dos: Se consideró para este grupo diecinueve visitas (19) para los ejemplares cuyo tratamiento les fue asignado el Aceite de Girasol Ozonizado (AGO) a una concentración de 75 mg/mL de Hidroxihidroperóxido de triglicéridos insaturados como oxígeno activo, llevándose a cabo en la primera visita la identificación, pesaje de los animales y primera dosificación con Pamoato de Pirantel a la misma dosis y concentración descritas en el grupo control. La segunda visita se procedió 15 días post desparasitación, tomándose muestras fecales para confirmar la ausencia de huevos de *Toxocara canis*. Una vez confirmada la ausencia, se procedió a infectar artificialmente a los canes de este grupo (tercera visita) con 50 huevos de *Toxocara canis* vía oral, para luego de 1 mes, confirmar mediante examen coproparasitológico la presencia de huevos de *Toxocara canis* en las heces (cuarta visita). Una vez confirmada la presencia de huevos del parásito, se comenzará a administrar AGO diariamente por 7 días vía oral con cuarenta gotas equivalentes a 2 mL (150 mg AGO) con ayuda de una jeringa de tres mililitros (3 mL), dejando un lapso de 7 días de descanso, para nuevamente administrar por 7 días más AGO. Luego de 15 días post última administración de AGO, se recolectó nueva muestra fecal, para ser evaluada mediante método de flotación y determinar su hpg final.

2.3.4.3. Grupo tres: En este grupo se consideró un total de seis visitas (06) para pacientes con tratamiento a base de Pamoato de Pirantel en suspensión de 250 mg/ 5 mL siendo para este estudio la dosis administrada de 4.5 mg/kg. La metodología aplicada hasta determinación de huevos de *Toxocara canis* post

infección artificial fue iguala la aplicada en los grupos 1 y 2. Una vez confirmada la presencia de huevos provenientes de *Toxocara canis* post infección artificial a los 30 días, se procede a dosificar con la misma dosis empleada (4.5 mg/kg) vía oral. Finalmente, se tomó una nueva muestra de heces para determinar el hpg 15 días post dosificación.

2.3.4.4. Grupo cuatro: En este grupo, se consideró diecisiete visitas domiciliarias (17), a este grupo se le administró tanto el AGO como el Pamoato de Pirantel en suspensión en frecuencia y dosis iguales a las descritas en el grupo dos (02) y tres (03). Al cabo de quince días post última dosificación, se tomó muestra de heces para ser analizadas en el laboratorio.

Tabla 1. Distribución y tratamiento para realizar en los canes.

Tratamiento	Grupos			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
Número de canes	5	5	5	5
Pamoato de pirantel	NO	NO	SI	SI
AGO	NO	SI	NO	SI

2.3.4.5. Cálculo de la carga parasitaria

Para la determinación del número de huevos por gramo de heces (H.P.G.), se contó el número total de huevos encontrados en toda el área de la cámara Mc Máster, multiplicado por 50.

2.4. Población, muestra y unidad de análisis

2.4.1. Población: Todos Caninos hasta 6 meses de edad, mestizos, sin considerar sexo, clínicamente sanos.

2.4.2. Muestra: Veinte caninos hasta 6 meses de edad, mestizos, sin considerar sexo, clínicamente sanos, desparasitados 1 mes antes de la infección artificial y que al examen coproparasitológico arrojaron resultados negativos a *Toxocara canis*; además, su propietario autorizó de manera expresa su participación en la presente investigación (Apéndice 04).

Debido a que es un estudio experimental, donde se emplean animales, se determinó estimar el tamaño muestral por conveniencia.

2.4.3. Unidad de análisis: En este caso, la unidad de análisis fueron las heces de los 20 canes seleccionados para el estudio.

2.5. Técnicas e instrumentos de recopilación de datos

La técnica empleada para recopilar los datos de interés fue la técnica microscópica cuantitativa de Mc Máster.

2.5.1. Protocolo de la técnica

- a) Pesar 3 g de heces en un vaso.
- b) Agregar 42 ml de agua y homogenizar la muestra.
- c) Colar y transferir a un tubo de 15 ml.
- d) Centrifugar a 1500 rpm por 5 minutos.
- e) Eliminar 2/3 del sobrenadante.
- f) Re - suspender el sedimento con solución saturada de azúcar.
- g) Centrifugar a 1500 rpm por 5 minutos.
- h) Con ayuda de un gotero tomar el volumen suficiente y llenar los 2 compartimentos de la cámara de Mc Máster. Evitar la formación de burbujas.
- i) Dejar reposar en la cámara 3 minutos.
- j) Observar al microscopio con el objetivo 10x.
- k) El conteo de huevos se realizará en todo el contorno de la cámara de Mc Máster para determinar el hpg.

2.5.2. Registro de datos

Todos los datos obtenidos en la investigación fueron registrados en un formato elaborado por el autor (Apéndice 01).

2.5.3. Determinación de la eficacia del aceite ozonizado

La eficacia del aceite ozonizado fue determinada mediante el test de reducción del conteo de huevos (T.R.C.H.). Se emplearon datos obtenidos de H.P.G. pre y pos-dosificación que fueron aplicados en la fórmula que a continuación indica.

$$E = \frac{C}{A} \times 100; \quad (C = A - B)$$

Donde:

- E: Es el porcentaje de eficacia
- C: Es la diferencia de A – B
- A: Es el número de huevos encontrados en el grupo control.
- B: Es el número de huevos encontrado en el grupo tratado al día 15 post dosificación

2.5.4. Técnicas para el procesamiento y análisis de información

2.5.4.1. Análisis estadístico:

Para la contrastación de la hipótesis, se determinó en primer lugar si los datos tenían una distribución normal por medio del software SPSS de la empresa IBM® siguiendo el método Shapiro-Wilk (Anexo 2) para tamaños muestrales de hasta 50 individuos, una vez determinado que no tenía una distribución normal, se procedió a usar el método estadístico no paramétrico de Kruskal-Wallis (Anexo 3) para aceptar o rechazar la hipótesis del estudio.

2.5.4.2. Organización de la información:

Todos los datos recopilados durante la investigación serán organizados mediante programa Excel®, usando tablas para dar una mejor explicación a lo acontecido.

2.6. Equipos, materiales e insumos

Para realizar la presente investigación, se emplearon diversos materiales, los cuales procederemos a mencionar a continuación.

2.6.1. Materiales de campo

- a) Bolsa de polietileno paquete x 100 unidades (1 paquete).
- b) Guantes de látex para examen x 50 pares (3 cajas)
- c) Papel bond de 75 gramos x millar (1paquete)
- d) Cooler pequeño (2 unidades)
- e) Hielo gel x 500 ml (4 unidades)
- f) Alcohol 70 % x 1 litro (2 litros)

2.6.2. Materiales de laboratorio

- a) Matraz x 200 mL (1 unidad)
- b) Papel aluminio x 500 gr (1 unidad)
- c) Pipeta Pasteur x 100 unidades (1 unidad)
- d) Puntilla de 2 μ l x 100 unidades (1 unidad)
- e) Porta objetos x 100 unidades (2 unidades)
- f) Colador de 200 μ m (1 unidad)
- g) Viales de precipitación x 5 mL (20 unidades)
- h) Tubo de precipitación falcón x 20 mL (3 unidades)
- i) Bata (1 unidad)
- j) Caja de mascarilla x 50 unidades (1 caja)

2.6.3. Insumos

- a) Aceite ozonizado 70 mg/ml frasco x 30 mL (10 unidades)
- b) Pamoato de Pirantel en suspensión 250 mg/5 mL (5 unidades)
- c) Solución saturada de azúcar (3 litros)
- d) Agua destilada (10 litros)

2.6.4. Equipos

- a) Cámara fotográfica de 32 mega pixeles (1 unidad)
- b) Cámara Mc máster. (2 unidades)
- c) Estereoscopio (1 unidad)
- d) Microscopio (1 unidad)
- e) Refrigerador (1 unidad)
- f) Micropipeta 10 μ l (1 unidad)

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Presentación de resultados

Tabla 2. Eficacia del aceite ozonizado en el control de *Toxocara canis*, en caninos mestizos (*Canis lupus familiaris*) en el grupo 02 (AGO) evaluada mediante la técnica de flotación de Sheather con solución saturada de azúcar en el día 15 pos última dosificación.

N° animales	Grupo control HPG día 15 Post desparasitación	Grupo 02 tratado con AGO HPG día 15 pos última desparasitación
1	400	550
2	600	400
3	250	450
4	450	500
5	350	500
TOTAL	2000	2400
EFICACIA		- 20 %

Tabla 3. Eficacia del Pamoato de pirantel en el control de *Toxocara canis*, en caninos mestizos (*Canis lupus familiaris*) en el grupo 03 evaluada mediante la técnica de flotación de Sheather con solución saturada de azúcar en el día 15 pos última dosificación.

N° animales	Grupo control HPG día 15 Post desparasitación	Grupo 03 tratado con Pirantel HPG día 15 pos última desparasitación
1	400	0
2	600	0
3	250	0
4	450	0
5	350	0
TOTAL	2000	0
EFICACIA		100 %

Tabla 4. Eficacia del aceite ozonizado y Pamoato de pirantel en el control de *Toxocara canis*, en caninos mestizos (*Canis lupus familiaris*) en el grupo 04 evaluada mediante la técnica de flotación de Sheather con solución saturada de azúcar en el día 15 pos última dosificación.

Nº animales	Grupo control HPG día 15 Post desparasitación	Grupo 04 tratado con Pirantel + AGO HPG día 15 pos última desparasitación
1	400	0
2	600	0
3	250	0
4	450	0
5	350	0
TOTAL	2000	0
EFICACIA		100 %

3.2. Análisis, interpretación y discusión de resultados

Los resultados encontrados en el presente trabajo de investigación demuestran que la eficacia del Aceite ozonizado en el control de *Toxocara canis*, en caninos mestizos (*Canis lupus familiaris*) evaluado mediante la técnica de flotación de Sheather con solución saturada de azúcar es del - 20 % (Tabla 01). Al realizar el análisis a los datos de la presente investigación, se obtuvo un $p = 0.001$ con un grado de confianza al 95 % afirmando que al menos una de las medianas de los grupos de investigación es diferente, esto se demuestra al realizar la prueba comparativa para valores sin distribución normal de Kruskal Wallis, los rangos promedios obtenidos arrojan igualdad en el grupo 3 (5.50) asignado al fármaco Pirantel y grupo 4 (5.50) cuyos fármacos protocolares fueron el AGO y Pirantel; a su vez el rango promedio del grupo 2 (16.60) difiere significativamente al de los grupos 3 y 4 lo que indica que no hay disminución en el hpg y, por tanto, no hay efecto sobre los parásitos adultos. Esta afirmación se refuerza al encontrar mayor similitud, pero no igualdad en el rango de promedios del grupo 2 (16.60) y el grupo control (14.40) indicando que el hpg del primero no disminuye, por el contrario, aumenta.

Si bien encontramos eficacia del 100 % en el grupo 4 (AGO + Pirantel), atribuimos la misma a la acción del Pirantel, pues su eficacia fue óptima al momento de la primera desparasitación antes de la infección artificial, durante el desarrollo y culminación de la investigación.

Con esta evidencia, discrepamos de la idea que el ozono es eficaz en el control, al ejercer una acción por oxidación directa de cutícula en nemátodos, por medio de la vía de radicales libres (Pryor, 1994) (5), al no evidenciar en esta investigación tal efecto, por lo menos a las dosis administradas en los 2 grupos asignados el AGO.

3.3. Contrastación de la hipótesis

Hipótesis general

A partir de los hallazgos evidenciados, rechazamos la hipótesis general que establece que el aceite ozonizado tiene más del 85 % de eficacia en el control de *Toxocara canis*, en caninos mestizos (*Canis lupus familiaris*) de la ciudad de Cajamarca.

Hipótesis específicas

El aceite ozonizado en combinación con el Pamoato de pirantel no tiene mayor eficacia en el control de *Toxocara canis*, en caninos mestizos (*Canis lupus familiaris*) de la ciudad de Cajamarca.

El Pamoato de pirantel tiene eficacia significativa en el control de *Toxocara canis*, en caninos mestizos (*Canis lupus familiaris*) de la ciudad de Cajamarca.

Los huevos larvados de *Toxocara canis*, obtenidos de parásitos adultos post desparasitación en canes infectados, son capaces de culminar su desarrollo en el hospedador definitivo al entrar en periodo patente.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES

Al término de la investigación se puede concluir que:

- a) El aceite ozonizado no es eficaz en el control de *Toxocara canis* en caninos (*Canis lupus familiaris*), siendo su eficacia muy inferior comparado al Pamoato de pirantel, que tuvo un 100% de eficacia en los grupos asignados a este antiparasitario (grupo 3 como único antiparasitario y grupo 4 en asociación al AGO), y aunque en el grupo 4 hubo una eficacia del 100%, podemos atribuirle este éxito a la sola acción del Pirantel, pues su efectividad fue del 100 % antes de la infección artificial y posteriormente en los grupos donde fue asignado como tratamiento.

CAPÍTULO V

SUGERENCIAS

- a)** Continuar con la búsqueda de nuevas alternativas antiparasitarias para los diferentes parásitos que afectan a los animales domésticos y por qué no, fauna silvestre, sobre todo en aquellos de importancia zoonótica.

- b)** Evitar prolongar el tiempo entre desparasitaciones a los canes menores de 6 meses y a las hembras adultas dosificar 15 días antes del servicio si se desea obtener camadas para evitar la transmisión vertical a las crías durante la gestación y lactación.

- c)** Dosificar a nuestras mascotas según el peso y post análisis coproparasitológico, para evitar el mal uso de antiparasitarios al desconocer la carga y tipo de parásitos contra los cuales actuar.

REFERENCIAS

1. Naupay A, Castro J, Tello M. Prevalencia de parásitos intestinales con riesgo zoonótico en *Canis lupus familiaris* de la localidad de Retes, Lima, Perú. Rev Investig Vet del Peru [Internet]. 2019;30(1):320–9. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v30n1/a32v30n1.pdf>
2. Quintero P, Gutiérrez A, Ríos D. Toxocariosis. Acta Neurológica Colomb [Internet]. 2021;37(1 supl. 1):169–73. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/anco/v37n1s1/2422-4022-anco-37-01-s1-169.pdf>
3. Diaz M, Olarte M. Companion Animals, Human Personality and the Benefits Perceived by the Guardians. Psiencia-Revista Latinoam Cienc Psicol [Internet]. 2016;8(2):1–21. Available from: <http://www.psiencia.org/ojs/index.php/psiencia/article/view/201>
4. Zamora Z, Sosa Teste I, Gómez D, Ledea O. Efectividad y eficacia del aceite de girasol ozonizado (AGO) de uso oral como tratamiento de la giardiasis en perros beagles. Rev Electron Vet [Internet]. 2016;17(12). Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63649052010>
5. Pryor W. Mechanisms of radical formation from reactions of ozone with target molecules in the lung. Free Radic Biol Med [Internet]. 1994;17(5):451–65. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0891584994901724?via%3Dihub>

6. Rodríguez Z, Idavoy T, Suárez B, Rosales H, Rodríguez Z, Idavoy D, et al. OLEOZON® oral, tratamiento efectivo en la giardiasis experimental. 2006; Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181220542008.pdf>
7. Gonzales S. Efectividad del Oleozon® por vía oral en pacientes con giardiasis. 2015;19(8):958–64. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/san/v19n8/san04198.pdf>
8. De Oliveira M, Campos A, Jiloi A, Milanes I. Aplicación tópica del Oleozón como alternativa de tratamiento en la sarna localizada en caprino. 2016;4(1):1–4. Available from: www.produccion-animal.com.ar
9. Sarmiento L, Delgado L, Ruiz J, Sarmiento M, Becerra J. Parásitos intestinales en perros y gatos con dueño de la ciudad de Barranquilla, Colombia. Rev Investig Vet del Perú [Internet]. 2018;29(4):1403. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v29n4/a36v29n4.pdf>
10. Montoya M, Gómez V, Agudelo S. Atlas de parasitología [Internet]. Primera ed. Gonzales L, Rendón N, editors. Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas; 2011. Available from: https://www.academia.edu/42932646/Atlas_de_Parasitologia_M_Montoya_V_Gomez_y_S_Agudelo

11. Figueroa L, Flores J, Rodríguez S. Método de cultivo de larvas de moscas *Lucilia sericata* para terapia larval. *Parasitol Latinoam* [Internet]. 2007;62(1–2):79–82. Available from: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/parasitol/v62n1-2/art14.pdf>
12. Hilario J. Parasitosis intestinal y su incidencia en la desnutrición crónica en niños de uno a diez años de edad en la comunidad de Mayumbamba del distrito de Paruro en el primer semestre en el año 2017. 2018; Available from: http://repositorio.uancv.edu.pe/bitstream/handle/UANCV/2279/T036_40985581.pdf?sequence=3&isAllowed=y
13. Farromeque R, Edith B, Manrique L, Roberto C, Rojas P, Alberto L, et al. Estado Nutricional Y Parasitosis Por *Enterobius Vermicularis* En Niños Menores De 5 Años. *Big Bang Faustiniiano* [Internet]. 2017;6:24–9. Available from: http://www.lareferencia.info/vufind/Record/PE_c6eebe819698cd6324097f64b16dd5c8
14. Navone GT, Zonta ML, Cociancic P, Garraza M, Gamboa MI, Giambelluca LA, et al. Estudio transversal de las parasitosis intestinales en poblaciones infantiles de Argentina. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Heal* [Internet]. 2017;41(2):1–9. Available from: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/77414/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

15. Iza M. Evaluación De La Frecuencia De Enteroparásitos De Caninos En Tres Refugios Del Distrito Metropolitano De Quito [Internet]. XXIV Congresso Brasileiro de Parasitologia e XXIII Congresso Latinoamericano de Parasitologia. Universidad Central del Ecuador; 2015. Available from: https://www.researchgate.net/publication/284178057_evaluacion_de_la_frecuencia_de_enteroparasitos_de_caninos_en_tres_refugios_de_la_ciudad_quito_-_ecuador
16. Gonza D. Prevalencia de huevos de *Toxocara canis*, mediante examen geoparasitológico en parques del Centro Poblado Andrés Araujo Morán - Tumbes, 2019 [Internet]. Universidad Nacional de Tumbes; 2021. Available from: <https://repositorio.untumbes.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12874/2281/tesisgonzacordova.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
17. Abou I. Developmental stages and viability of *Toxocara canis* eggs outside the host. *Biomédica* [Internet]. 2018;189–97. Available from: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/3684/3951>
18. Treviño V. Evaluación in vitro de la motilidad de huevos larvados de *Toxocara canis* luego de la exposición a compuestos metálicos de transición, ligandos derivados de azoles y Soluvet® [Internet]. Universidad Autónoma de Nuevo León; 2017. Available from: <http://eprints.uanl.mx/14122/1/1080225422.pdf>

19. De la fé P, Duménigo B, Brito E, Aguilar J. *Toxocara canis* y Síndrome Larva Migrans Visceralis. Rev Electrónica Vet [Internet]. 2006; Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63617138002.pdf>
20. Pulcha M, Figueroa V. Frecuencia de infección por *Toxocara canis* a través de la prueba ELISA-IGG en una población de niños escolares de Iquitos, Perú durante el 2018 y sus factores relacionados. [Internet]. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2020. Available from: https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/7757/Frecuencia_PulchaUgarte_Maria.pdf?sequence=1&isAllowed=y
21. Blagburn B, Dryden M. Atlas Pfizer de Parasitología Clínica Veterinaria [Internet]. Tercera. Wright L, editor. Mexico: Pfizer inc.; 2000. 51 p. Available from: https://www.academia.edu/32603733/Atlas_Pfizer_de_Parasitología_clínica_veterinaria
22. Quirino EMB, Pinho CM, Silva MAS, Dourado Caro, Lima MCL de, Andrade MS. Perfil epidemiológico y clínico de casos de microcefalia. Enfermería Glob [Internet]. 2019;19(1):167–208. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/rme/v42n1/1684-1824-rme-42-01-1642.pdf>
23. Collantes P. Prevalencia de Toxocariasis (*Toxocara canis*) en caninos (*Canis familiaris*) utilizando el método de lotación, en el distrito de Tarapoto. [Internet]. Universidad Nacional de San Martín; 2017. Available from: https://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/3183/tesispedrosalvador_collantes_sandoval.pdf?sequence=1&isAllowed=y

24. Viebahn R. El uso del ozono en medicina. 2007;Cuarta edi:156. Available from: <http://es.slideshare.net/andreagalletakora/el-uso-del-ozono-en-medicina>

25. Schwartz A, Martínez G. La ozonoterapia y su fundamentación científica. Rev Española Ozonoterapia [Internet]. 2012;2(1):163–98. Available from: <http://revistaespaolad-eozonoterapia.es/index.php/reo/article/view/23>

26. Pabón M, Suasti P. Evaluación de la terapia de Ozono en pacientes caninos con enfermedad articular en rodilla [Internet]. UDLA; 2016. Available from: <http://dsp-ace.udla.edu.ec/bitstream/33000/5580/8/udla-ec-tmvz-2016-06.pdf>

27. Sagarduy G. Utilidad del ozono para terapia en cirugía ortopédica. Monogr Actual la Soc Española Med y Cirugía del Pie y Tobillo [Internet]. 2017;9(1):68–74. Available from: <https://www.fondoscienze.com/sites/default/files/articles/pdf/mact.0901.fs17050-10-utilidad-del-ozono-para-terapia-en-cirugia-ortopedica.pdf>

28. Laschewsky A. Structures and synthesis of zwitterionic polymers. Polymers (Basel) [Internet]. 2014;6(5):1544–601. Available from: https://www.researchgate.net/publication/276042081_Structures_and_Synthesis_of_Zwitterionic_Polymers/link/57becf3708ae2f5eb32e2b7f/download

29. Salazar N. Bondades del Ozono como terapia Complementaria en la Medicina Veterinaria [Internet]. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales; 2017. Available from: [https://repository.udca.edu.com/bitstream/11158/671/1/monografia final.pdf](https://repository.udca.edu.com/bitstream/11158/671/1/monografia%20final.pdf)

30. Martínez G, Perez G, Horwat R. Las aplicaciones médicas de los aceites ozonizados, actualización. Rev Española Ozonoterapia [Internet]. 2012;2(1):121–39. Available from: <http://revistaespaoladeozonoterapia.es/index.php/reo/article/view/18/50>
31. García-chamizo JM, Alcañiz-lucas S, Ferrández- FJ, Joaquín J, Maciá P, Madrid DS, et al. Revisión de las Aplicaciones del Ozono y su Generación para el Uso en Mascarillas contra Patógenos . RUA Repos Inst la Univ Alicant [Internet]. 2020;1–14. Available from: [https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/104988/1/Ozono contra patogenos-version preliminar.pdf](https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/104988/1/Ozono%20contra%20patogenos-version%20preliminar.pdf)
32. Baeza J, Cabo J, Gómez M, Menéndez S. Revisión WFOT sobre Ozonoterapia Basada en Evidencias. World Fed Ozone Ther [Internet]. 2015;1–117. Available from: <https://www.wfoot.org/wp-content/uploads/2016/01/WFOT-OZONE-2015-ESP.pdf>
33. Colin A. Manual del uso de la ozonoterapia en perros [Internet]. Universidad Autónoma del estado de México; 2017. Available from: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/49814/tesinaancg0516.pdf?sequence=1>
34. Klockiewicz M, Sobczak-Filipiak M, Jakubowski T, Długosz E. Histopathological lesions caused by experimental *Toxocara canis* and *Toxascaris leonina* infections in farm mink (Neovison vison). J Vet Res [Internet]. 2019;63(2):205–14. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6598190/pdf/jvetres-63-205.pdf>

35. Cajamarca UN de. Código de ética para la investigación científica en la Universidad Nacional de Cajamarca [Internet]. Vicerrectorado de investigación y responsabilidad social Cajamarca: 124-2016-VRI-UNC; 2016 p. 174. Available from: <https://repositorio.unc.edu.pe/handle/UNC/493>

ANEXOS

Anexo 1: Resumen del procesamiento de datos con software SPSS en los grupos AGO, Pirantel y AGO + Pirantel

Resumen de procesamiento de casos

	Válido		Casos Perdidos		Total	
	N	Porcentaj	N	Porcentaj	N	Porcentaj
		e		e		e
Hpg Post 30 días infección artificial	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%

a. FARMACO = aceite ozonizado

Descriptivos

			Estadístic o	Error estándar
Hpg Post 30 días infección artificial	Media		360.00	33.166
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	267.92	
		Límite superior	452.08	
	Media recortada al 5%		361.11	
	Mediana		350.00	
	Varianza		5500.000	
	Desv. estándar		74.162	
	Mínimo		250	
	Máximo		450	
	Rango		200	
	Rango intercuartil		125	
	Asimetría		-.552	.913
	Curtosis		.868	2.000

a. FARMACO = aceite ozonizado

Resumen de procesamiento de casos

	Válido		Casos Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
		e		e		e
Hpg Post 30 días infección artificial	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%

a. FARMACO = pirantel

Descriptivos

		Estadístico	Error estándar	
Hpg Post 30 días infección artificial	Media	380.00	46.368	
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	251.26	
		Límite superior	508.74	
	Media recortada al 5%	375.00		
	Mediana	350.00		
	Varianza	10750.00		
		0		
	Desv. estándar	103.682		
	Mínimo	300		
	Máximo	550		
	Rango	250		
	Rango intercuartil	175		
	Asimetría	1.447	.913	
	Curtosis	1.931	2.000	

a. FARMACO = pirantel

Resumen de procesamiento de casos

	Válido		Casos Perdidos		Total	
	N	Porcentaj e	N	Porcentaj e	N	Porcentaj e
	Hpg Post 30 días infección artificial	5	100.0%	0	0.0%	5

a. FARMACO = aceite ozonizado + pirantel

Descriptivos

		Estadístic o	Error estándar	
Hpg Post 30 días infección artificial	Media	330.00	51.478	
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	187.07	
		Límite superior	472.93	
	Media recortada al 5%	327.78		
	Mediana	350.00		
	Varianza	13250.000		
	Desv. estándar	115.109		
	Mínimo	200		
	Máximo	500		
	Rango	300		
	Rango intercuartil	200		
	Asimetría	.606	.913	
	Curtosis	.274	2.000	

a. FARMACO = aceite ozonizado + pirantel

Anexo 2. Análisis estadístico de hpg al día 30 post infección artificial y al día 15 post última dosificación mediante software SPSS

a) Análisis 30 días post infección artificial

Ho: El hpg de huevos de *Toxocara canis* no es diferente en los grupos experimentales antes de iniciar el estudio

Ha: El hpg de huevos de *Toxocara canis* es diferente en los grupos experimentales antes de iniciar el estudio

	Pruebas de normalidad					
	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
	Estadístic			Estadístic		
	o	gl	Sig.	o	gl	Sig.
Hpg Post 30 días infección artificial	.263	5	.200*	.951	5	.747

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. GRUPO = control

b. Corrección de significación de Lilliefors

	Pruebas de normalidad					
	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
	Estadístic			Estadístic		
	o	gl	Sig.	o	gl	Sig.
Hpg Post 30 días infección artificial	.246	5	.200*	.956	5	.777

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. GRUPO = Aceite ozonizado (AGO)

b. Corrección de significación de Lilliefors

	Pruebas de normalidad					
	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
	Estadístic			Estadístic		
	o	gl	Sig.	o	gl	Sig.
Hpg Post 30 días infección artificial	.224	5	.200*	.842	5	.171

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

- a. GRUPO = Pamoato de pirantel
 b. Corrección de significación de Lilliefors

	Pruebas de normalidad					
	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Hpg Post 30 días infección artificial	.231	5	.200*	.943	5	.685

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

- a. GRUPO = Aceite ozonizado (AGO) + Pamoato de pirantel
 b. Corrección de significación de Lilliefors

Resumen de procesamiento de casos de los 4 grupos

	Casos					
	Válido		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Hpg Post 30 días infección artificial	20	95.2%	1	4.8%	21	100.0%

	Pruebas de normalidad					
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Hpg Post 30 días infección artificial	.210	20	.021	.943	20	.268

- a. Corrección de significación de Lilliefors

Como el tamaño de muestra es menor o igual a 50, decidimos emplear la prueba Shapiro – wilk, para determinar la normalidad, además, por los resultados obtenidos, podemos afirmar que el valor de “p” en todos los grupos es $p > 0.05$ por lo tanto; aceptamos la hipótesis nula y rechazamos la hipótesis alternativa.

a) Análisis 15 días post última dosificación (4 grupos)

Ho: El hpg de huevos de *Toxocara canis* no es diferente en los grupos 15 días post última dosificación

Ha: El hpg de huevos de *Toxocara canis* es diferente en los grupos experimentales 15 días post última dosificación

Resumen de procesamiento de casos

	Válido		Casos Perdidos		Total	
	N	Porcentaj	N	Porcentaj	N	Porcentaj
		e		e		e
Hpg 15 días post última dosificación	20	95.2%	1	4.8%	21	100.0%

Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístic	gl	Sig.	Estadístic	gl	Sig.
Hpg 15 días post última dosificación	.324	20	<.001	.776	20	<.001

a. Corrección de significación de Lilliefors

Por los resultados obtenidos al finalizar el estudio, podemos afirmar que el valor de “p” en todos los grupos es $p < 0.05$ por lo tanto; rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alternativa.

Anexo 3: Aplicación de prueba estadística comparativa no paramétrica para valores sin distribución normal con software SPSS

Prueba de Kruskal-Wallis

Ho: Las k medianas de hpg en los 4 grupos con 5 canes cada uno son todas iguales.

Ha: Al menos una de las k medianas de hpg en los 4 grupos con 5 canes cada uno son diferentes

Rangos			
	TRATAMIENTO	N	Rango promedio
Hpg 15 días	control	5	14.40
Post última dosificación	AGO	5	16.60
	Pirantel	5	5.50
	AGO + Pirantel	5	5.50
	Total	20	

Estadísticos de prueba^{a,b}

	Hpg 15 días Post última dosificación
H de Kruskal-Wallis	16.747
gl	3
Sig. asin.	<.001

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: TRATAMIENTO

Conclusión: Como $p = 0.001$ es menor que 0.05, aceptamos la hipótesis alternativa, además de afirmar que: por los rangos de promedio en los 4 grupos, el grupo 3 y 4 (5.50), se obtiene una diferencia significativa en comparación al grupo control (14.40), no así en grupo 2 (16.60) y por lo tanto; la acción del Pamoato de pirantel en el control de *Toxocara canis* es aún eficaz, no teniendo la misma acción el aceite ozonizado.

APÉNDICES

Apéndice 01: Formato de consentimiento informado para el propietario.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

“Eficacia del aceite ozonizado en el control de *Toxocara canis*, en caninos mestizos (*Canis lupus familiaris*) de la ciudad de Cajamarca, Perú”

Este documento se dirige a propietarios de los canes que cumplen con los requisitos para ser incluidos en la presente investigación, autorizando de forma expresa su participación, teniendo que cumplir con las recomendaciones detalladas en la presente, resultando en consecuencia este documento, poseer carácter de declaración jurada.

Yo, _____ identificado con DNI No. _____, con domicilio legal en _____, con número de celular _____ y en calidad de propietario responsable del canino de nombre _____, raza _____, edad _____, sexo _____ y con señales _____ físicas características _____,

DECLARO QUE:

He sido invitado para que mi mascota participe en la presente investigación, habiendo sido informado de forma detallada sobre los efectos terapéuticos, riesgos, protocolos a realizar tanto en el tratamiento, extracción de muestra y bioseguridad por parte del investigador, así como también las obligaciones que debo cumplir para garantizar el buen desarrollo de esta. Además, se me ha proporcionado los datos del investigador necesarios para mantener constante comunicación durante el desarrollo del estudio, y estando conforme **AUTORIZO** voluntariamente, a que mi mascota participe en la misma.

Firmo la presente en constancia a lo mencionado líneas arriba.

Propietario

N.º DNI:

Cristhian F. Bazán Nureña

Investigador

Apéndice 02: Ficha de registro de datos e incidencias

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

LICENCIADA CON RESOLUCIÓN DE CONSEJO DIRECTIVO N° 080-2018-SUNEDU/CD

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria

Eficacia del aceite ozonizado en el control de *Toxocara canis*, en caninos mestizos (*Canis lupus familiaris*) de la ciudad de Cajamarca, Perú

1. Registro de canes participantes

Fecha de admisión:

Número de ficha:

Nombre:

Edad:

Características físicas:

2. Datos del propietario

Nombres y apellidos:

DNI:

Dirección:

Celular:

3. Antecedentes del can

Fecha de última desparasitación:

Cada que tiempo lo realiza:

Nombre del producto:

4. Manejo del ambiente donde vive el can

Sirve su comida en un depósito limpio:

Viven con otros canes:

5. Constantes fisiológicas

Frecuencia cardiaca

✓ Inicio del estudio:

✓ Fin del estudio:

Frecuencia cardiaca

✓ Inicio del estudio:

✓ Fin del estudio:

Temperatura

✓ Inicio del estudio:

✓ Fin del estudio:

6. Aspectos clínicos generales

Condición corporal

✓ Inicio del estudio:

✓ Fin del estudio:

Apetito

✓ Inicio del estudio:

✓ Fin del estudio:

Ánimo

✓ Inicio del estudio:

✓ Fin del estudio:

7. Registro carga parasitaria

Grupo asignado	
hpg T. canis 15 días post primera desparasitación	
hpg de T. canis post 30 días post infección artificial	
hpg de T. canis post 15 días de última desparasitación	
Desparasitación final al estudio	

Apéndice 04: Proceso para obtener huevos infectivos de *Toxocara canis* e infección artificial.



Figura 2. Desparasitación de canes con edad máxima de 6 meses (A), Obtención de estados adultos de *Toxocara canis* (B), Colecta de muestras de heces rotuladas y conservadas a temperatura entre 4 y 6 °C (C, D y E), Colecta de huevos en viales (F, G y H), Rotulamiento y preparación de muestras para incubar a temperatura ambiente (I), Infección con huevos larvados infectivos de *Toxocara canis*.

Apéndice 03: Evolución de huevo *Toxocara canis* en el laboratorio.

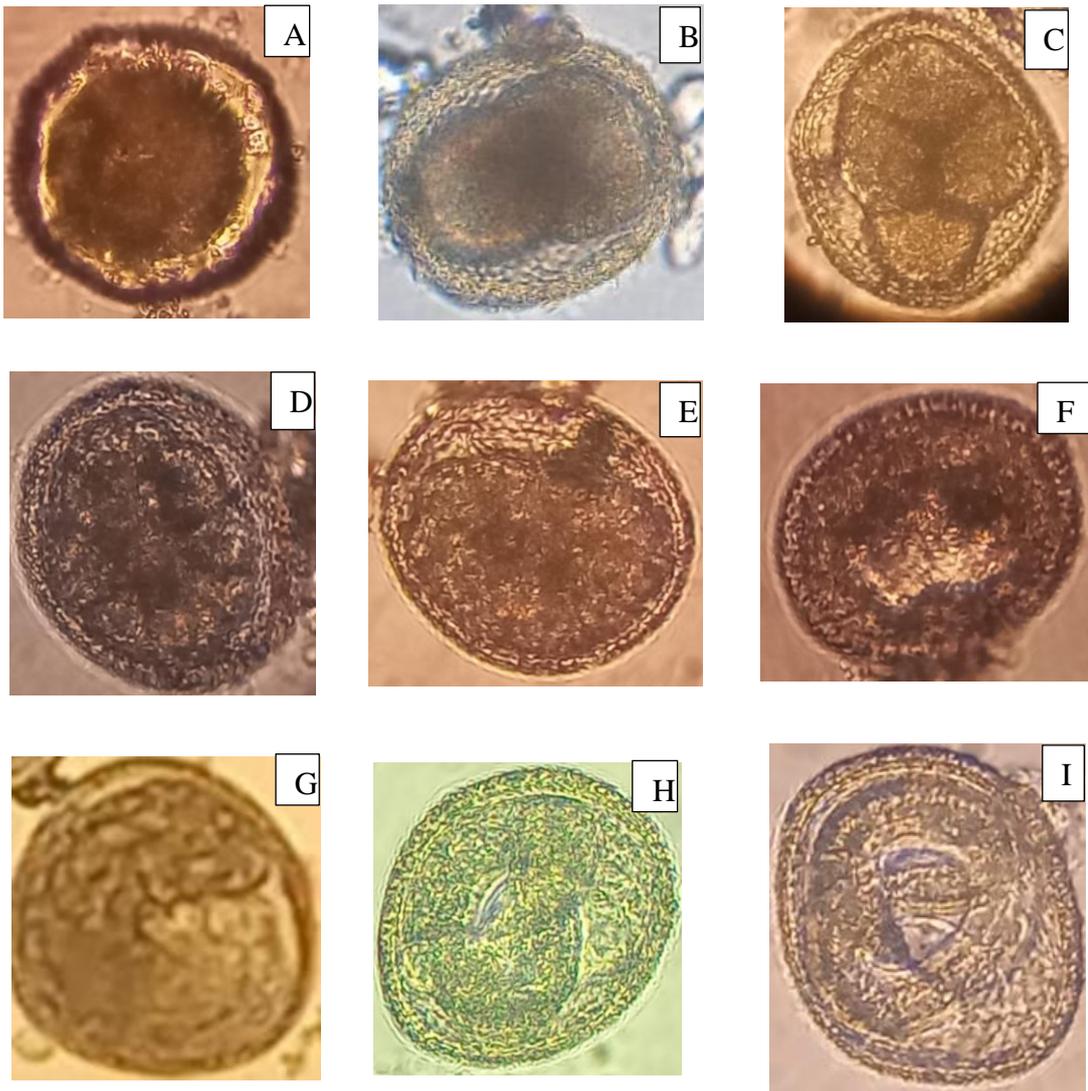


Figura 3. Evolución del huevo de *Toxocara canis* al ser incubados a temperatura ambiente en viales cubiertos por aluminio por el tiempo de 30 días en el laboratorio (A), Huevo con una célula (B), Huevo con dos células (C), Huevo con cuatro células (D), Mórula tardía (E), Blástula (F), Gástrula (G), Pre larva (H), Segundo estadio larvario (I), L2 infectivo

Apéndice 04: Comparación microscópica de huevo viable y no viable.



Figura 4. Comparación microscópica 40x de un huevo viable e inviable de *Toxocara canis* A y B ambas con un tiempo de incubación de 10 días (A), Huevo cursando estado de transición Mórula - Blástula (B), Huevo inviable nótese la deformación en su pared, además de la escasa diferenciación en sus estructuras intracelulares (C), Huevo con oscurecimiento intracelular quedandose en este estado a pesar de los días en observación, la estapa en este momento corresponde a la transición entre Blástula - Gástrula.

Apéndice 05: Proceso de infección artificial de *Toxocara canis*.

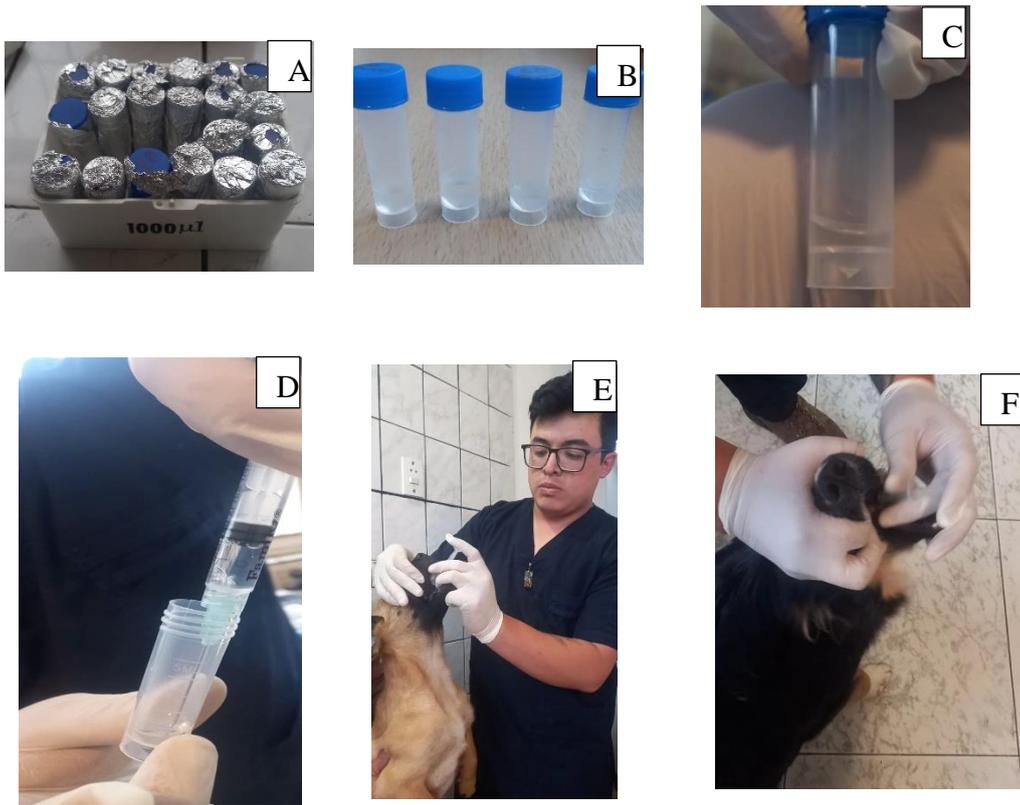


Figura 5. Proceso de infección artificial de *Toxocara canis* (A - C), Viales conteniendo 50 huevos embrionados L2 de *Toxocara canis* (D), Homogenización del preparado (E y F), Administración vía oral en canes hasta 6 meses.

Apéndice 06: Observación de huevos de *Toxocara canis* mediante la técnica de flotación de Sheather con solución saturada de azúcar en los grupos de estudio durante el desarrollo de la investigación

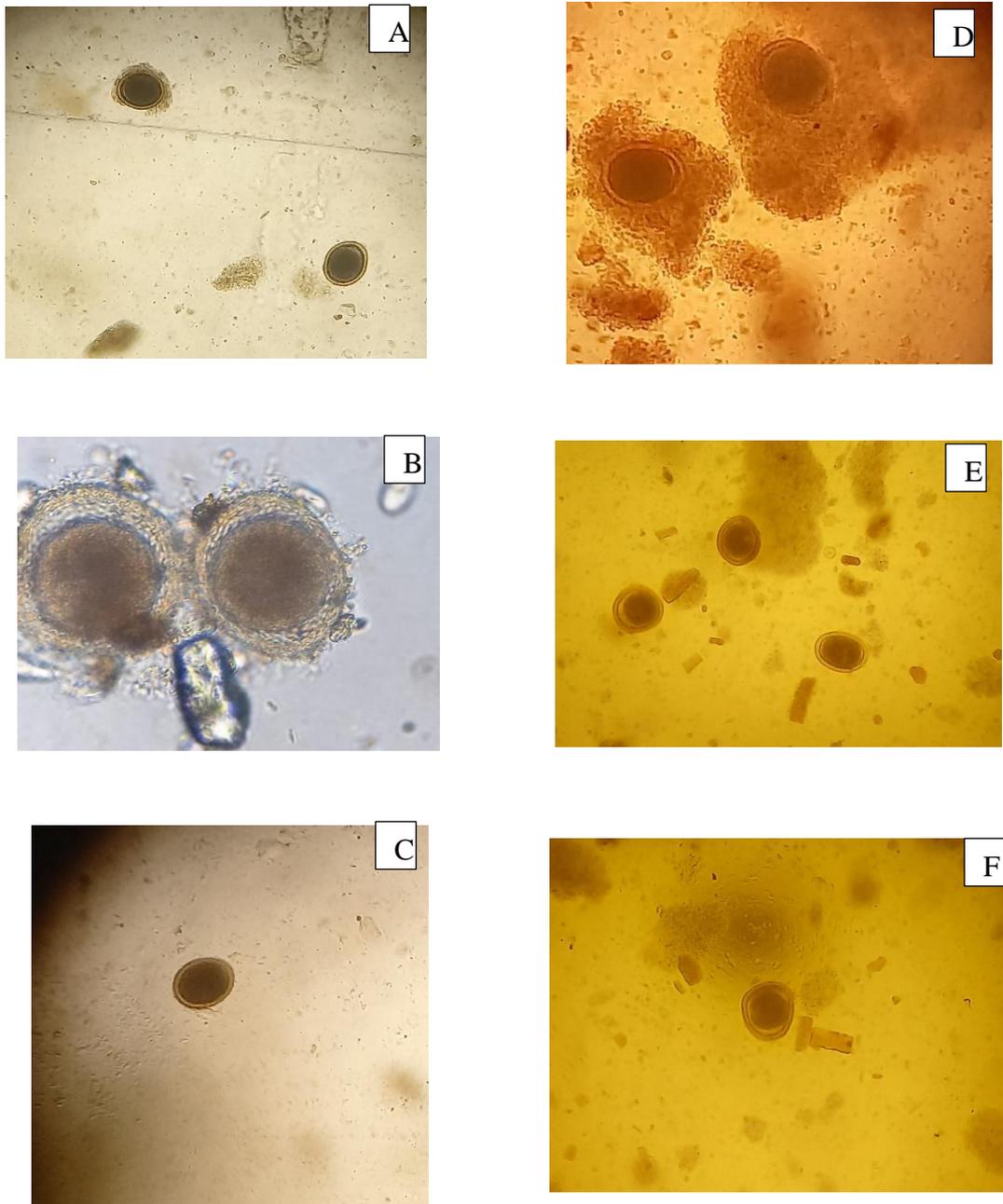


Figura 6. Observación de huevos de *Toxocara canis* mediante la técnica de flotación de Sheather con solución saturada de azúcar: Huevos presentes 30 días post infección artificial (A – C), Huevos presentes en los grupos 2 y control 15 días post última dosificación (D – F).

Apéndice 07: Dosis de Pirantel administrado a cada perro antes de la infección artificial

N.º	Identificación	Hpg 15 días Post primera desparasitación	Edad (meses)	Peso (kg)	Dosis Pirantel mL
1	SOL	0	5	8	0.7
2	NATY	0	4	6	0.54
3	CHIQUI	0	4	6	0.54
4	TITA	0	4	5	0.45
5	GORDITA	0	4	5	0.45
6	BELLOTA	0	4	6	0.54
7	BURBUJA	0	3	2	0.2
8	NEGRITA	0	5	6	0.54
9	PEQUEÑA	0	4	4	0.36
10	TIKI	0	4	4	0.36
11	ACLLA	0	5	6	0.54
12	BELLOTA	0	5	5	0.45
13	BROWNI	0	5	6	0.54
14	PULGA	0	3	2	0.2
15	CELESTE	0	3	2	0.2
16	CLEO	0	3	3	0.27
17	CHIMI	0	5	5	0.45
18	LUNA	0	4	4	0.36
19	ABBY	0	4	3	0.27
20	LILO	0	3	2	0.2
n = 20	Total de hpg:	0			

Apéndice 08: Carga parasitaria en los 4 grupos post infección artificial y al finalizar el estudio

Tabla 5. Carga parasitaria expresada en hpg del grupo control (sin tratamiento) a lo largo del estudio.

Identificación	Hpg Post 30 días infección artificial	Hpg al término del estudio
CHIQUI	350	400
TIKI	500	600
CLEO	200	250
CHIMI	350	450
LILO	300	350
Total de hpg:	1700	2000

Tabla 6. Carga parasitaria expresada en hpg en los canes en estudio del grupo 2 (AGO) a lo largo del estudio.

Identificación	Hpg Post 30 días infección artificial	Dosis AGO mL	Hpg 15 días post última dosis AGO
SOL	450	2	550
BURBUJA	250	2	400
PEQUEÑA	350	2	450
BELLOTA	400	2	500
BROWNI	350	2	500
Total de hpg:	1800		2400

Tabla 7. Carga parasitaria expresada en hpg en los canes en estudio del grupo 3 (Pamoato de Pirantel) a lo largo del estudio.

Identificación	Hpg Post 30 días infección artificial	Dosis Pirantel mL	Hpg 15 días post última dosis con Pirantel
NATY	350	0.54	0
TITA	550	0.45	0
GORDITA	300	0.45	0
PULGA	300	0.2	0
CELESTE	400	0.2	0
Total de hpg:	1900		0

Tabla 8. Carga parasitaria expresada en hpg en los canes en estudio del grupo 4 (AGO + Pamoato de Pirantel) a lo largo del estudio.

Identificación	Hpg Post 30 días infección artificial	Dosis AGO mL/día	Dosis Pirantel mL	Hpg 15 días post última dosis con Pirantel
BELLOTA	200	2	0.54	0
NEGRITA	350	2	0.54	0
ACLLA	500	2	0.54	0
LUNA	350	2	0.36	0
ABBY	250	2	0.27	0
Total de hpg:	1650			0