

10



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

288382

**“ EVALUACIÓN DE LAS LESIONES HISTOPATOLOGICAS PRODUCIDAS
POR LARVAS *Toxocara canis*, EN JERBOS (*Meriones unguiculatus*) DESPUÉS
DEL TRATAMIENTO CON MOXIDECTINA”.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
JAVIER ALEJANDRO BUENDÍA JIMÉNEZ

DIRECTOR: DR. FERNANDO ALBA HURTADO
ASESORES: DRA. MA. GUADALUPE ORTEGA PIERRES
DR. JORGE LUIS TÓRTORA PÉREZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

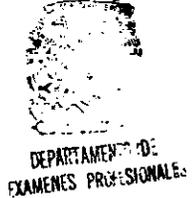
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES-CUAUTITLAN



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

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

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

" Evaluación de las lesiones histopatológicas producidas por larvas
de Toxocara canis, en jerbos (Meriones unguiculatus) después del
tratamiento con moxidectina "

que presenta el pasante: Javier Alejandro Buendía Jiménez
con número de cuenta: 8912775-1 para obtener el título de :
Médico Veterinario Zootecnista

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 6 de Septiembre de 2000.

PRESIDENTE	<u>M.V.Z. Juan Pablo Martínez Labat</u>	
VOCAL	<u>Dr. Jorge Tórtora Pérez</u>	
SECRETARIO	<u>M.C. Juan Carlos del Río García</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>M.V.Z. Rocio Silva Mendoza</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>M. en C. Francisco Morales Álvarez</u>	

INDICE

INDICE.....	I
ABREVIATURAS.....	III
FIGURAS, CUADROS, GRÁFICAS Y FOTOGRAFÍAS.....	IV
RESUMEN.....	VI
INTRODUCCIÓN.....	1
Morfología.....	1
Ciclo Biológico.....	3
Patogenia.....	7
Lesiones.....	10
Cuadro clínico en perros.....	14
Toxocariasis humana.....	14
Diagnóstico de <i>Larva Migrans</i>	20
Modelos experimentales.....	21
Utilización de fármacos en la toxocariasis.....	22
Moxidectina.....	23
Farmacocinética.....	24
Absorción, excreción, usos y dosis.....	25
JUSTIFICACIÓN.....	27
OBJETIVOS.....	30
MATERIAL Y METODOS.....	31
Lugar de realización.....	31
Animales experimentales.....	31
Obtención y embrionación de huevos de <i>T. canis</i>	31
Medicamentos.....	32
Protocolo experimental.....	33

Análisis estadístico.....	35
RESULTADOS.....	36
Cinética de migración de larvas de <i>T. canis</i> en jerbos tratados en diferentes periodos de tiempo.....	36
Evaluación de la moxidectina.....	39
Lesiones macroscópicas presentes en hígado, pulmón, riñón y cerebro de los jerbos.....	46
Lesiones microscópicas presentes en los pulmones de los jerbos.....	48
Lesiones microscópicas presentes en los hígados de jerbos.....	49
Lesiones microscópicas presentes en los riñones de jerbos.....	49
Lesiones microscópicas presentes en los cerebros de jerbos....	50
DISCUSIÓN.....	59
CONCLUSIONES.....	65
REFERENCIAS.....	66

ABREVIATURAS

Acido clorhídrico.....	HCl
Acido gamaaminobutirico.....	GABA
Centímetros.....	cm
Colaboradores.....	Cols.
Dietilcarbamacina.....	DEC
Grados centígrados.....	°C
Gramos.....	gr
Hematoxilina-Eosina.....	H-E
Huevos larvados de <i>T. canis</i>	Hltc
Inmunoglobulina E.....	IgE
<i>Larva migrans ocular</i>	LMO
<i>Larva migrans visceral</i>	LMV
Microgramos por kilogramos de peso vivo.....	µg/kg p.v
Microlitros.....	µl
Miligramos por kilogramos de peso vivo.....	ml/kg p.v
Mililitros.....	ml
Post-inoculación.....	p.i.
Postratamiento.....	p.t.
Por ciento.....	%
Solución Amortiguadora de Fosfatos.....	PBS
x g.....	por gravedades

FIGURAS, CUADROS, GRÁFICAS Y FOTOGRAFÍAS

Figura 1.- Microscopia electrónica de <i>Toxocara canis</i> , vista dorsal de la cabeza mostrando sus tres labios, los cuales algunas veces presentan protuberancias dentígeras, no hay interlabios, y se observan las aletas cervicales.....	2
Figura 2.- Huevos de <i>Toxocara canis</i> : A. se observa un huevo no embrionado en el cual se pueden apreciar las tres capas de que esta compuesta su cubierta: 1, capa albúminosa; 2, capa quitinosa triple; 3, capa lipóide. B. microscopia electrónica de un huevo de <i>T. canis</i> donde se observan las fosetas características de la membrana externa de la cascara.....	2
Figura 3.- Ciclo Biológico de <i>Toxocara canis</i>	6
Figura 4.- Fórmula estructural de la moxidectina.....	24
Cuadro 1.- Manejo al que fueron sometidos los jerbos para el desarrollo del experimento.....	33
Cuadro 2.- Número de larvas recuperadas en diferentes órganos de jerbos infectados experimentalmente con 1000 huevos larvados de <i>T. canis</i> (hltc), tratados a los 2, 15 y 60 días p.i.....	37
Cuadro 3.- Número de larvas de <i>T. canis</i> recuperadas en diferentes órganos de jerbos inoculados con 1000 hltc , y tratados con 300 µg/kg pv de moxidectina, en el que se observan los grupos que mostraron diferencias estadísticamente significativas.....	41
Cuadro 4.- Porcentaje de eficacia de la moxidectina a dosis de 300 µg/kg pv en jerbos inoculados con 1000 hltc.....	42
Cuadro 5.- Lesiones macroscópicas encontradas a la necropsia en jerbos inoculados con 1000 hltc y tratados con 300 µg/kg pv de moxidectina.....	47
Cuadro 6.- Principales lesiones microscópicas observadas en diferentes órganos de jerbos inoculados con 1000 hltc y tratados con 300 µg/kg pv de moxidectina, aplicada a los 2, 15 y 60 días post-inoculación y sacrificados a los 10 y 25 días p.t.....	52
Gráfica 1.- Cinética de migración de larvas de <i>T. canis</i> en jerbos infectados experimentalmente con 1000 hltc, tratados a los 2, 15 y 60 días p.i.....	38
Gráfica 2.- Número de larvas recuperadas en diferentes órganos de jerbos infectados experimentalmente con 1000 hltc, tratados a los 2 días p.i. con 300 µg de moxidectina por kg de peso y sacrificados a los 12 días p.i. (grupo 1C y 2E) y a los 27 días p.i. (grupo 3C y	

4E).....	43
Gráfica 3.- Número de larvas recuperadas en diferentes órganos de jerbos infectados experimentalmente con 1000 hlrc tratados a los 15 días p.i. con 300 µg de moxidectina por kg de peso y sacrificados a los 25 días p.i. (grupos 5C y 6E) y a los 40 días p.i. (grupos 7C y 8E).....	44
Gráfica 4.- Número de larvas recuperadas en diferentes órganos de jerbos infectados experimentalmente con 1000 hlrc tratados a los 60 días p.i. con 300 µg de moxidectina por kg de peso y sacrificados a los 70 días p.i. (grupos 9C y 10E) y a los 85 días p.i. (grupos 11C y 10E).....	45
Fotografía 1.- Neumonía exudativa con cortes de larvas, en la parte Central.....	53
Fotografía 2.- Granuloma en pulmón con una larva atrapada.....	53
Fotografía 3.- Larva en la luz de un bronquiolo rodeada por infiltrado inflamatorio.....	53
Fotografía 4.- Abundante infiltrado inflamatorio en hígado rodeando una larva.....	53
Fotografía 5.- Múltiples nódulos de reparación en hígado.....	55
Fotografía 6.- Granuloma en riñón con una larva atrapada.....	55
Fotografía 7.- En riñón, larva rodeada por infiltrado inflamatorio.....	55
Fotografía 8.- Granuloma en grasa perirrenal conteniendo una larva rodeada por células inflamatorias.....	55
Fotografía 9.- Larva sin ningún tipo de respuesta en cerebro.....	57
Fotografía 10.- Foco de proliferación glial en la capa granular del cerebelo conteniendo un corte larvario en degeneración.....	57
Fotografía 11.- En cerebro fragmentos larvarios en una zona con degeneración y vacuolización.....	57
Fotografía 12.- En cerebro, corte larvario en el interior de un vaso sanguíneo sin respuesta inflamatoria.....	57

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la eficacia de la moxidectina a una dosis de 300 µg/kg de peso vivo, sobre la L2 de *T. canis* realizando conteos larvarios de digestiones artificiales de diferentes tejidos (pulmón, hígado, riñón, cerebro y ojo), y también se estudio la evolución de las lesiones histopatológicas en los mismos tejidos, posterior a su aplicación.

Se utilizaron 14 grupos de 5 jerbos que fueron inoculados con 1000 huevos larvados de *T. canis* (htc) a excepción de los grupo 13 y 14. Doce de los grupos se dividieron en 3 conjuntos con 4 grupos de animales, el primero de ellos (grupos 1C al 4E) fue tratado a los 2 días post-inoculación (p.i.), el segundo conjunto (grupo 5C al 8E) a los 15 días pi., y el tercer conjunto (grupo 9C al 12E) a los 60 días p.i. Los animales de los dos primeros grupos de cada conjunto fueron sacrificados a los 10 días p.i. y los animales de los dos grupos restantes fueron sacrificados a los 25 días p.i., recibiendo moxidectina los animales experimentales y placebo los animales control. Los grupos 13 y 14 no fueron inoculados, pero si fueron tratados con moxidectina y se sacrificaron a los 10 y 25 días p.t. respectivamente.

Los animales fueron sacrificados y de estos se colectaron riñones, hígado, pulmón, cerebro y ojos; la mitad de cada órgano impar y uno de los órganos pares, se destinaron para digestiones artificiales individuales en una solución de pepsina-HCl al 1%. La mitad restante fue fijada en formol al 10% y cada una de las muestras fue procesada para realizar cortes histológicos que se tiñeron con hematoxilina-eosina.

Los grupos experimentales mostraron una disminución en el número de larvas recobradas a partir de los cinco órganos utilizados para el trabajo, en comparación con el número de larvas recobradas de los órganos de los grupos testigo. Sin embargo, estas diferencias solo fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en los grupos sacrificados a los 25 y 70 días p.i.

Los resultados de la evaluación microscópica de las lesiones que son producidas por las larvas de *T. canis*, mostraron que no existen diferencias concretas entre los grupos tratados y no tratados. Las diferencias que se presentaron entre los grupos de diferentes periodos de tiempo de tratamiento y sacrificio, son atribuibles a la cinética del padecimiento, lo que ocasionó desaparición de algunas lesiones como neumonía exudativa, necrosis focal en hígado, disminución en el número de granulomas y abscesos en algunos órganos, y en contraste la aparición de algunas lesiones como las zonas de degeneración en cerebro. Además no hay evidencias que permitan determinar que la moxidectina contribuye a destruir las larvas y que además permita modificar las lesiones causadas por dichas larvas después de aplicar tratamiento en cualquiera de los tres periodos utilizados. Sin embargo, los resultados de las digestiones artificiales nos indican que no es recomendable su uso, al menos en una sola aplicación, en el tratamiento para la toxocariasis.

INTRODUCCIÓN

La toxocariasis es una de las enfermedades parasitarias más importantes de perros y otros cánidos en el mundo. Es debida a la presencia y acción de varias especies de nemátodos de los géneros *Toxocara* y *Toxascaris*, siendo *Toxocara canis*, el parásito más común en los perros. Su alta frecuencia y los problemas de tipo digestivo, respiratorio e incluso la muerte de cachorros, marcan dicha importancia; así como los problemas que ocasiona a nivel de salud pública por tratarse de una enfermedad zoonótica (Quiroz, 1984; Soulsby, 1988).

MORFOLOGÍA DE *Toxocara canis*

Toxocara canis es un nemátodo perteneciente a la familia ascarididae, de color blanco lechoso; los machos miden, de 4 a 10 cm de largo por 2 a 2.5 mm de diámetro y las hembras hasta 18 cm de largo por 2.5 a 3 mm de diámetro. En la parte anterior presenta tres labios bien desarrollados, uno dorsal y dos subventrales provistos de dos papilas. La superficie interna de cada labio puede llevar un borde dentífero o pequeños dientes. Las especies del genero *Toxocara* tienen aletas cervicales a lo largo de los márgenes laterales que se extienden a alguna distancia desde el extremo anterior (figura 1). En el extremo posterior el macho termina curvado hacia su parte ventral, presenta dos pequeñas espículas iguales y un estrechamiento terminal en forma de apéndice. En las hembras la vulva se abre en la región media del cuerpo; estas son ovíparas y producen una gran cantidad de huevos (Faust y col.,1981; Quiroz, 1984; Soulsby, 1988).

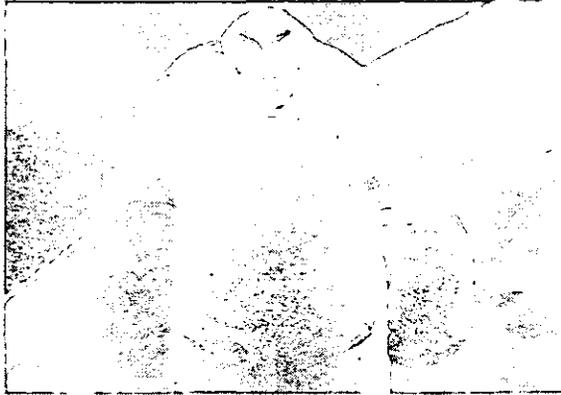
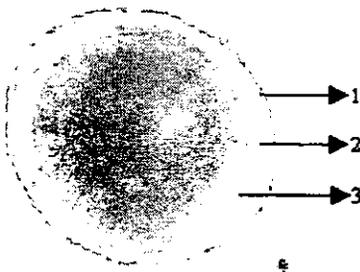
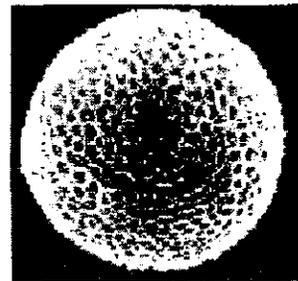


Figura 1.- Microscopia electrónica de *Toxocara canis*, vista dorsal de la cabeza mostrando sus tres labios, los cuales algunas veces presentan protuberancias dentigeras, no hay interlabios, y se observan las aletas cervicales (Faust y col.,1981; Quiroz, 1984; Soulsby, 1988).

Los huevos son subsféricos, la estructura de su cubierta consta de 3 capas (figura 2A), la interna constituida por lípidos llamada capa lipóide, la media llamada capa quitinosa triple y la más externa llamada capa albuminosa la cual presenta depresiones sobre la superficie llamadas fosetas (figura 2B); los huevos miden 75 por 90 micrometros, son de color café oscuro o café grisáceo y no están embrionados cuando se depositan (Faust y col.,1981; Quiroz, 1984; Soulsby, 1988).



A



B

Figura 2.- Huevos de *Toxocara canis*. A, se observa un huevo no embrionado en el cual se pueden apreciar las tres capas de que esta compuesta su cubierta: 1, capa albuminosa; 2, capa quitinosa triple; 3, capa lipóide. B, microscopia electrónica de un huevo de *T. canis* en donde se observa con detalle las fosetas características de la membrana externa de la cascara (Faust y col.,1981; Quiroz, 1984).

CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico de este parásito inicia con la eliminación de los huevos en la materia fecal de los perros parasitados, principalmente de los cachorros y con la dispersión de los mismos, estos huevos son resistentes y permanecen viables en el ambiente. Sin embargo, la exposición a la luz y a una temperatura de 55 °C los destruye. El desarrollo de la larva infectante (L2 pasiva), requiere de 9 a 11 días a una temperatura de 24 °C y de 3 a 5 días a 30 °C en presencia de oxígeno y una humedad relativa del 75% (Beaver, 1986).

Se ha determinado que *T. canis* presenta un ciclo de vida complejo, el cual varía dependiendo del tipo de hospedero, del estado fisiológico y de la edad en que se adquiera la infestación, observándose de este modo cuatro condiciones (Glickman & Shofer, 1987; Soulsby 1988):

- a) En la migración traqueal, los huevos embrionados son ingeridos por el hospedero final (cachorros menores de tres meses de edad), las larvas pasan por vía linfática o sanguínea, a ganglios linfáticos o al hígado, continúan al corazón y de aquí a pulmón, donde la mayoría de las larvas pasan por bronquios, traquea y faringe hasta ser redegutidas; la muda para el tercer estado larvario puede ocurrir en pulmón, traquea y esófago. En el intestino se realiza la siguiente muda al cuarto estado larvario. La muda final se produce entre la tercera y cuarta semana después de la ingestión y de 4 a 5 semanas después los adultos expulsan huevos que salen en las heces. A medida que los cachorros crecen, se produce un descenso en el tipo de desarrollo traqueal, que es sustituido por la migración somática larvaria. En perros

adultos la mayoría de las larvas no llegan a intestino, sino que pasan a la circulación general y permanecen en estado de latencia en diferentes tejidos (Beaver, 1969; Quiroz, 1984; Soulsby, 1988; Georgi & Georgi, 1990).

- b) La migración somática, ocurre cuando los huevos larvados de *T. canis* son ingeridos por una perra adulta. Ocho días después de la infestación, el segundo estado larvario se encuentra ya en diversos tejidos del cuerpo, y así permanece sin experimentar ningún tipo de desarrollo. Estas larvas permanecen en los tejidos del perro adulto. Los procesos que con posterioridad sufren estas larvas no están muy claros, sin embargo, se sabe que durante la gestación se movilizan hacia la placenta y migran hacia el feto, dando lugar a una infestación prenatal. Douglas y Baker (citados por Soulsby en 1988) señalan que esta movilización no se produce antes del día 42 de gestación, y que las larvas debieron ser adquiridas por lo menos 14 días antes de ello; si no, la infestación no tiene lugar. Por otra parte, si la perra no estaba infectada y esto ocurre durante la gestación, algunas larvas pasan al feto, pero otras llegan al intestino de la perra para alcanzar su madurez sexual. Los cachorros infestados por vía transplacentaria después de 2 a 3 semanas del nacimiento eliminan huevos del parásito en las heces (Beaver, 1969; Quiroz, 1984; Soulsby, 1988; Georgi & Georgi, 1990).
- c) Transmisión lactogénica, es aquella en la que ocurren infestaciones neonatales de los cachorros desde la madre, a través de la ruta transmamaria, las larvas pasan a los cachorros lactantes en el calostro y se desarrollan directamente en intestino hasta

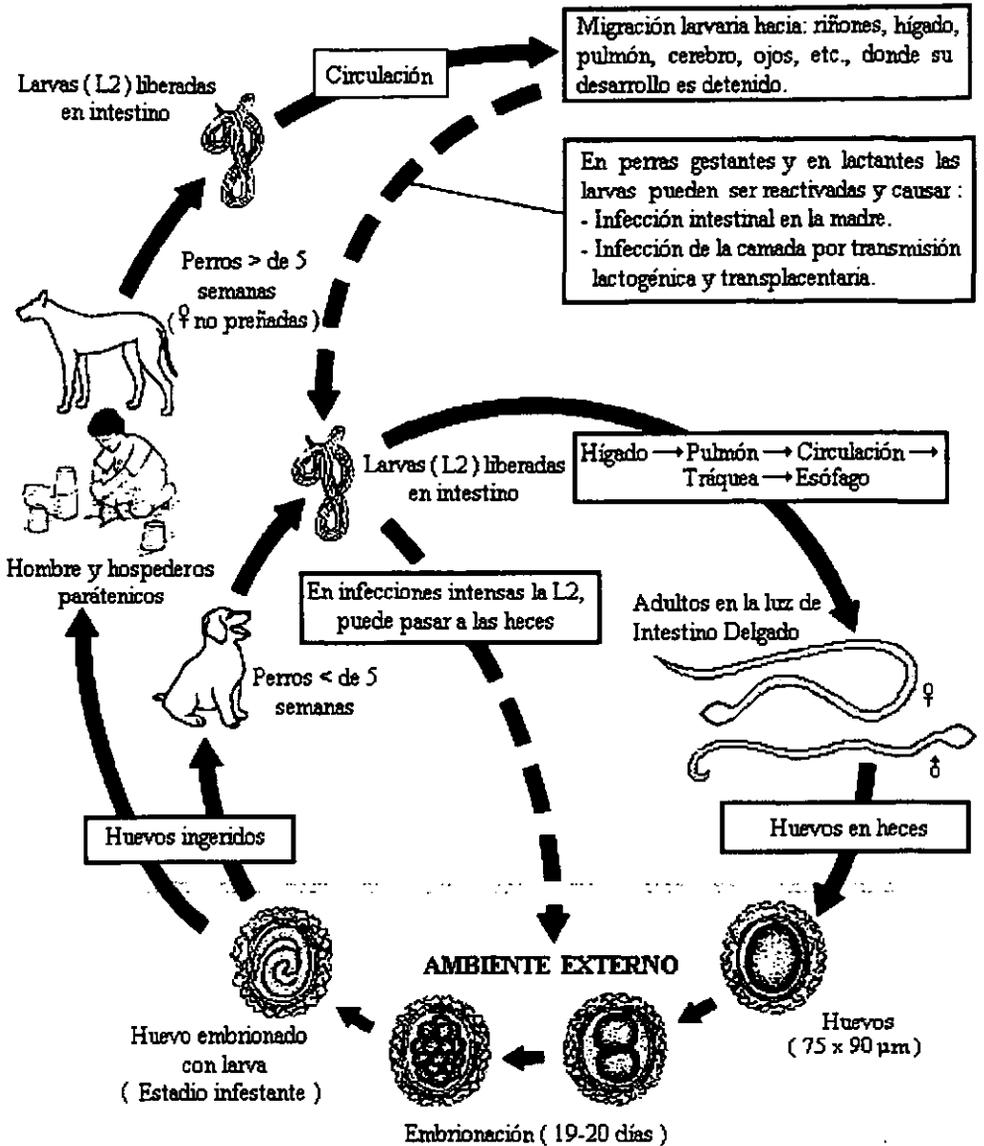
alcanzar su estado adulto (Beaver, 1969; Lloyd et al., 1983; Glickman & Shofer, 1987; Soulsby, 1988).

- d) En otros casos los huevos embrionados son ingeridos por pequeños mamíferos que actúan como hospederos paraténicos, en los cuales la L2 se enquistó en diferentes tejidos y órganos, cuando el hospedero paraténico es ingerido, las larvas prosiguen su desarrollo hasta gusanos adultos en el intestino de perros sin migración (Beaver, 1969; Quiroz, 1984; Soulsby, 1988; Georgi & Georgi, 1990).

En resumen, la infección del perro con *T. canis* puede ocurrir por cuatro formas:

1. Por la ingestión de huevos infestantes.
2. Por la ingestión de larvas presentes en los tejidos de hospederos paraténicos que se infestaron del suelo, por canibalismo o depredación.
3. Por el paso de larvas de la madre al feto o cachorro, a través de la placenta, leche o ambas.
4. Por la ingestión de larvas eliminadas en las heces de cachorros lactantes (Beaver, 1969; Quiroz, 1984; Beaver et al., 1986; Glickman & Shofer, 1987; Soulsby, 1988; Georgi & Georgi, 1990).

CICLO BIOLÓGICO DE *Toxocara canis*



Modificado de Magnaval 1999

Figura 3

PATOGENIA

El daño generado por este parásito depende, tanto de la cantidad de huevos ingeridos y del estado de madurez del parásito.

En hospederos tanto definitivos como paraténicos, la presencia de las larvas se asocia en los tejidos con su destrucción en forma directa o indirecta, la generación de hemorragias y la inducción de respuestas granulomatosas aún sin quedar estas atrapadas, así mismo, debe considerarse la participación de los mecanismos de inmunoevasión por parte de los parásitos; lo que en conjunto juega un papel muy importante dentro de la patogenia de la enfermedad.

Los estados larvarios de *T. canis* cuentan con un factor que les permite bloquear los mecanismos defensivos y modular sus efectos en tanto se mantiene viable, este esta formado por un conjunto de substancia conocidas como antígenos de secreción-excreción (TES), estos son compuestos glucoproteicos que se producen permanentemente por las larvas; hasta el momento se han caracterizado 21 tipos diferentes. Al parecer estos componentes sufren modificaciones durante su proceso de síntesis, deposito y desprendimiento final; lo cual ocurre asociado a la fijación de anticuerpos o células potencialmente citotóxicas. Se ha encontrado que estos compuestos son mitogénicos para los linfocitos, especialmente los B y no así para los T, por lo que su presencia induce la producción policlonal de anticuerpos (principalmente IgG e IgE) que tienen los efectos para activar la fijación del complemento para lograr la destrucción de los gusanos, pero que se inactivan por efecto de los TES. Las IgE se asocian a la hipersensibilidad tipo I induciendo la degranulación de las células cebadas y los basófilos liberando entre otras

sustancias histamina y serotonina que se caracterizan por generar una respuesta inflamatoria inmediata. Además el desprendimiento de cantidades importantes de antígenos en los tejidos permite la formación de complejos inmunes que son potenciales inductores de hipersensibilidad tipo IV (agravamiento de lesiones granulomatosas) y también de hipersensibilidad tipo II si el fenómeno ocurre a nivel vascular o tipo III si los antígenos se depositan en las paredes.

También hay efectos sobre los eosinófilos, quienes juegan un papel importante en la hipersensibilidad tipo I como células citotóxicas y moduladoras de los factores inflamatorios producidos por las células cebadas y basófilos. En los eosinófilos alveolares de los roedores se ha detectado la ausencia del receptor IgE; por lo que esas propiedades pueden ser limitadas, esto puede ser especialmente importante como elemento de control en la reacción de hipersensibilidad a nivel respiratorio que puede ser muy violenta.

Por otro lado se ha demostrado que las larvas infestantes de *T. canis in vitro* secretan enzimas proteolíticas capaces de degradar la matriz extracelular de tejido conectivo. Esto parece ser un factor importante que facilita la migración larvaria a través de los tejidos, tanto del hospedero definitivo como de los hospederos paraténicos, ejerciendo una acción traumática durante su recorrido por los tejidos. Estas enzimas han mostrado estar involucradas en funciones de alimentación ejerciendo una acción expoliatriz, histófaga de líquidos tisulares (Quiroz, 1984; Robertson *et al.*, 1989).

La eliminación de mudas, líquido de mudas, secreciones y excreciones, ejercen acción antigénica que puede por una parte, causar una respuesta inmune positiva y por otra, ocasionar efectos anafilácticos y alérgicos (Quiroz, 1984).

Por otro lado, la fase adulta ejerce una acción mecánica por obstrucción a nivel pulmonar, intestinal y hepático, en ocasiones llegan a invadir colédoco y canales biliares; estas obstrucciones a nivel digestivo, aunadas a la irritación producida, interfieren notablemente, ya sea con el paso de los alimentos o provocando estasis biliar. Los nemátodos en su localización intestinal se alimentan principalmente de su contenido, sin embargo, esta acción expoliatriz es selectiva, utilizando por ejemplo grandes cantidades de vitamina C y otros nutrimentos de naturaleza proteica, lípidos y carbohidratos. Esta acción representa una competencia por los elementos nutritivos del hospedero, que se traduce en alteraciones de la digestión y de la absorción (Quiroz, 1984).

LESIONES

Las lesiones provocadas por este parásito, se pueden estudiar al analizar primero las producidas por las larvas y después las que ocasionan los adultos (Quiroz, 1984).

En perros adultos la migración larvaria da lugar a lesiones hemorrágicas en hígado, riñones, pulmón, tejido muscular y cerebro; dependiendo del número de las larvas ingeridas, las lesiones serán más o menos evidentes. Los cachorros con infestación prenatal o antes de tres meses pueden mostrar focos inflamatorios a nivel pulmonar.

Las formas juveniles y los adultos causan en el intestino una enteritis catarral, algunas veces perforación intestinal y peritonitis en cachorros. (Quiroz, 1984).

Las lesiones macroscópicas observadas en los hospederos paraténicos incluyendo al hombre, consisten principalmente en dos tipos: la primera, es la presentación de algunas hemorragias de tipo petequiral y la segunda es la formación de nódulos blanco amarillentos los cuales llegan a medir hasta 3 mm de diámetro, ambos tipos de lesiones están distribuidas en forma difusa sobre toda la superficie de los diferentes órganos, afectándose principalmente hígado, riñones, pulmón, cerebro y ojos; pero presentándose también en otros tejidos como en diafragma, músculo esquelético, corazón y médula espinal (Faust y col., 1981; Quiroz, 1984; Glickman & Shofer, 1987; Alba Hurtado y col., 2000).

A nivel microscópico el parásito se caracteriza por desarrollar granulomas eosinofílicos en diferentes órganos y tejidos, siendo los más frecuentemente afectados: riñones, hígado, pulmón, cerebro y ojos.

En un estudio realizado por Hamilton *et al.* en 1982, se describieron las lesiones microscópicas causadas por larvas de *Toxocara cati* en el riñón de gatos inoculados

experimentalmente. En este trabajo las principales lesiones encontradas fueron: fibrosis periglomerular, marcada condensación de la cápsula de Bowman, ocasionalmente hipertrofia e hiperplasia de las células epiteliales parietales, algunos animales presentaron adherencias entre el epitelio parietal y el visceral de la cápsula de Bowman. También se observó contracción del ovillo capilar. En este estado se observó una variación en el tamaño del glomérulo, hasta un 50% más pequeños de lo normal. En la fase crónica; la fibrosis periglomerular se hizo más severa con un excesivo engrosamiento de la cápsula de Bowman, las adherencias entre el epitelio parietal y el visceral de la cápsula de Bowman se notaron ocasionalmente y en algunos glomérulos la contracción del ovillo fue tan marcada que se presentaron glomérulos de hasta un tercio del tamaño normal; inclusive algunos ovillos desaparecían completamente dejando el espacio glomerular vacío, que ocasionalmente contenía glóbulos rojos y detritus celulares.

Parson *et al.* en 1986 realizaron un estudio con ratones BALB/c BYJ inoculados con 5000 huevos larvados de *T. canis* (hltc) para producir una infección aguda y con 500 hltc para producir una infección crónica, en el cual las lesiones histopatológicas observadas en hígado fueron: múltiples áreas focales de necrosis hepatocelular que en ocasiones tienden a unirse con infiltrados de neutrófilos que predominan en el área subcapsular, hipertrofia generalizada de las células de Kupffer, frecuente vacuolización de hepatocitos, focos de polimorfonucleares con predominio eosinofílico, que se observaban adyacentes a las larvas o rodeándolas completamente y larvas dentro del parenquima hepático libres de respuesta inflamatoria. En la fase crónica el hígado presentó múltiples focos granulomatosos bien organizados; muchos granulomas compuestos por una densa cápsula de colágena y un núcleo que contiene células epiteloides, células gigantes multinucleadas y macrófagos, así

como larvas o remanentes de ellas. La cápsula de colágena del granuloma que contiene una larva, se mezcla con un infiltrado de células plasmáticas y eosinófilos, algunos de estos junto con neutrófilos pueden estar esparcidos dentro del granuloma. Los granulomas sin larvas se diferenciaron de los que las tenían, por que su núcleo era de células necróticas, más que de macrófagos, células epitelioides, y eosinófilos, presentándose ocasionalmente células gigantes (Parsons *et al.*, 1986).

En estudios realizados en ratones por Zingier & Brockbank en 1974, por Kayes *et al.* en 1998 y en monos por Glickman & Summers en 1983 (citado por Glickman & Shofer en 1987) se ha podido determinar que la infección de *T. canis* a nivel pulmonar presenta de manera general una inflamación intersticial difusa con presencia de un infiltrado eosinofílico y mononuclear, que ocasiona un engrosamiento de las paredes alveolares; también se ha reportado de manera constante en los cortes histológicos la presencia de múltiples focos granulomatosos con eosinófilos e histiocitos y en la periferia la presencia de estos últimos de mayor tamaño. Más allá de esta zona de células epitelioides hay un infiltrado de leucocitos mejor preservados. Ocasionalmente los nódulos contienen cierto tipo de células gigantes atípicas y están rodeados por una capa concéntrica de fibras de colágeno. En los granulomas iniciales puede encontrarse una larva del segundo estadio, que se puede liberar de la pared que la rodea, esta capacidad que tiene la larva de escapar de la formación de un granuloma y migrar a otra parte e iniciar la formación de otro granuloma ocasiona la formación de grandes parches con infiltrado a base de macrófagos, eosinófilos, neutrófilos y linfocitos (Zingier & Brockbank, 1974; Glickman & Shofer, 1987; Faust y col., 1981; Kayes *et al.*, 1998).

Beaver en 1952 realizó los primeros reportes de la L2 de *T. canis* en humanos y su asociación con la enfermedad. La migración larvaria a cerebro de ratones y primates no humanos ha sido demostrada experimentalmente; Burren reportó que la larva no fue encapsulada en el cerebro de ratones, pero que la migración de la larva en el cerebro ocasionaba una marcada infiltración linfocítica (citado por Soulsby en 1987). Glickman & Summer (citado por Glickman & Shofer en 1987 y por Soulsby en el mismo año) reportaron granulomas histiocíticos debido al daño mecánico del tejido cerebral y granulomas compuestos por células gigantes, macrófagos, células mononucleares, y eosinófilos alrededor de larvas. Así mismo se observa un infiltrado perivascular y perimeningeal aparente en el cerebro y médula espinal, así como una mielopatía degenerativa en la médula espinal (Beaver, 1969; Glickman & Shofer, 1987; Soulsby, 1987).

En un estudio realizado por Alba y col. en el 2000, empleando jerbos como modelo experimental de toxocariasis ocular y sistémica; se reportó que las lesiones observadas en los ojos de los jerbos fueron parecidas a las lesiones reportadas en humanos con L.M.O. Entre las lesiones reportadas en humanos se encuentran: formación de granulomas eosinofílicos con células epitelioides, ocasionalmente tejido de granulación, linfocitos y células plasmáticas. Estos granulomas se localizaron en retina y en procesos ciliares, en algunos casos el tejido de granulación es reemplazado por material fibrinoso. La presencia de la larva y la formación de granulomas puede ocasionar desprendimiento de retina, edema retinal, congestión y hemorragias (Glickman & Shofer, 1973 ; Alba y col. 2000).

CUADRO CLÍNICO EN PERROS.

Los signos clínicos se presentan principalmente en cachorros y animales menores de tres meses, las primeras manifestaciones son tos y descargas nasales, las cuales pueden ser mortales o llegar a desaparecer espontáneamente después de tres semanas. Otros signos incluyen anorexia, distensión abdominal, en algunos casos puede ocurrir vómito acompañado de parásitos; otras veces hay diarrea de tipo mucoide o estreñimiento, debilidad, reducción en la tasa de crecimiento y prurito. Así mismo se pueden presentar ataques epileptiformes y en algunos casos presentar neumonía por inhalación del vómito, llegando a presentarse en ambos casos la muerte del animal (Quiroz, 1984; Soulsby, 1988)

El cuadro crónico de cachorros mayores de tres meses y el de perros adultos es de un cuadro de desnutrición, algunas veces pueden presentar diarrea intermitente y pueden llegar a presentar manifestaciones nerviosas (Lapage 1981; Quiroz, 1984).

TOXOCARIASIS HUMANA

La *larva migrans* es un síndrome clínico causado por la migración o presencia de estadios larvarios, principalmente de *Toxocara canis* y ocasionalmente por otros estadios larvarios de parásitos como *Ascaris lumbricoides*, *Capillaria hepatica*, *Dirofilaria sp.*, *Gnathostoma sp.*, *Toxocara cati* y *Strongiloides stercoraris*; los cuales son especies de parásitos no bien adaptados al hospedero humano. Por lo tanto en humanos y en hospederos no naturales (paraténicos), esas larvas permanecen inmaduras y no completan su ciclo de

vida (Beaver, 1969; Faust y col., 1981; Glickman & Shofer, 1987; Schantz & Sther-Green, 1988).

Desde que se hizo la primera descripción de la enfermedad por Beaver, se han identificado dos síndromes en humanos: El síndrome de *larva migrans visceral* (L.M.V.) y el síndrome de *larva migrans ocular* (L.M.O.)

El término de *Larva migrans visceral* (L.M.V.) fue introducido y difundido en el año de 1952, cuando fue establecido e identificado el estado larvario infectante de *T. canis* (L2) por Beaver, quien propuso la designación de L.M.V. para el síndrome que ocasionaba.

El síndrome de L.M.V. se presenta con mayor frecuencia en niños menores de seis años de edad que juegan en áreas contaminadas como jardines y parques públicos, por el riesgo que representa la ingestión accidental de huevos de *T. canis*. La infección de los niños con grandes cantidades de huevos, generalmente es el resultado del hábito de ingerir tierra. La costumbre de proporcionar a los niños cachorros como mascotas, aumenta este riesgo, ya que son los cachorros quienes están preferentemente parasitados (Glickman & Shofer, 1987; Schantz & Sther-Green, 1988 Magnaval *et al.*, 1992).

En las infestaciones por *T. canis* el número de lesiones granulomatosas producidas esta directamente relacionado con el número de huevos ingeridos en estadio infectante y el de larvas liberadas que logran llegar a las vísceras extraintestinales. Por lo tanto, las lesiones pueden ser escasas o miliars. Al analizar el cuadro clínico y patológico deberá tomarse en consideración el sitio donde se desarrollan las lesiones, así como el grado de sensibilidad del hospedero (Faust y col., 1981; Quiroz, 1984).

El cuadro clínico varía desde el estado asintomático, con excepción de la presencia de eosinofilia persistente, hasta el que se presenta con algunos signos de inflamación pulmonar crónica, bronquiolitis, asma, y fiebre. La reacción alérgica en los pulmones puede ser tan grave como para llegar a producir considerables dificultades respiratorias. También se llega a presentar hepatomegalia, nefrosis, disfunción cardíaca e incluso casos fatales de toxocariasis han sido el resultado de lesión extensa del miocardio. Las características clínicas incluyen una eosinofilia constante y sostenida. Smith y Beaver observaron en un estudio que bastan 200 larvas de *T. canis* para producir en un niño de 2-3 años una eosinofilia periférica del 20 al 40% durante más de un año, sin signos concomitantes apreciables. Los casos en los que la eosinofilia excede el 50% pueden ser sintomáticos. En los casos sintomáticos, los niveles pueden alcanzar el 90% de 100.000 leucocitos/mm³. Otros hallazgos de laboratorio son hiperglobulinemia, incremento de isohemaglutininas, principalmente de Anti-A y Anti-B, además de un incremento de IgE (Quiroz, 1984; Schantz & Sther-Green, 1988; Soulsby, 1988).

El segundo síndrome, el de L.M.O., afecta principalmente niños mayores de seis años o jóvenes, generalmente es un cuadro ocular unilateral, resultado de la invasión hematógena del ojo por una o varias larvas. Sin embargo, ocasionalmente llega a ocurrir bilateralmente e incluso llega a presentarse en adultos. En muchos pacientes con L.M.O., no se presenta una historia de L.M.V. y los hallazgos de laboratorio se encuentran dentro de los límites normales. Los niños que presentan L.M.O. presentan

una historia semejante a la de aquellos que presentan L.M.V. con relación al contacto con cachorros de perro en la casa (Glickman & Shofer, 1987; Magnaval, 1995).

El involucramiento ocular puede asumir alguno de varios patrones clínicos, ninguno de los cuales son patognomónicos. Los signos clínicos más frecuentes de este síndrome son: disminución progresiva de la visión, estrabismo, leucocoria, fijación pupilar, u ojo rojo. Siendo algunos de ellos notados durante un examen rutinario de ojo.

La localización y el número de larvas dentro del ojo determinan la naturaleza y extensión de la enfermedad. Esta puede presentarse como una retinocoroiditis posterior que aparece clínicamente como una nébula mal definida, en la forma de respuesta inflamatoria aguda, también puede ocurrir una lesión blanca con células inflamatorias en el humor vítreo, la cual, cuando pasa a la cronicidad, es visible por el aumento de la masa blanquecina. También puede presentarse como una retinocoroiditis periférica aguda, que aparece como una nébula blanquecina en la periferia del fondo ocular y asemeja una uveoretinitis periférica ideopática. También se pueden encontrar granulomas intraretinales los cuales pueden desprender o deformar la retina (Glickman & Shofer, 1987; Soulsby, 1988).

La L.M.O. en ocasiones puede representar una forma más severa de respuesta inflamatoria, es usual que en el humor vítreo ocurra una acumulación densa de células inflamatorias, que pueden dificultar la observación del fondo. A través de esta lesión puede verse una masa tisular en crecimiento, que se asemeja fuertemente a un retinoblastoma, el cual puede requerir una terapia de radiación o la enucleación del ojo,

por lo que la diferenciación de este tumor con la T.M.O. es crítica (Glickman & Shofer, 1987).

Resultados de estudios recientes, sugieren que la L.M.V. frecuentemente asume las características de un síndrome que comprende debilidad crónica, dolor abdominal, varios signos de alergia y una suave eosinofilia. Además la toxocariasis ha sido propuesta como posible etiología en varios síndromes neurológicos (Magnaval, 1995; Soulsby 1997).

La patología del Sistema Nervioso Central asociada con *T. canis* en humanos, es a menudo un hallazgo accidental en la necropsia. En años recientes han sido reportados por lo menos nueve casos fatales en niños con signos neurológicos agudos, en los que a la necropsia fueron encontradas larvas de *T. canis* en encéfalo (Glickman & Shofer, 1987).

En un estudio sobre L.M.V. en monos realizado por Tomimura *et al.* en 1976, observaron que de 3 animales, uno inoculado con 200,000 y los restantes con 400,000 larvas, presentaron signos nerviosos tales como incoordinación e incapacidad para mantener el equilibrio, uno de los animales que fue infectado con 400,000 huevos tendía a dar vueltas en el sentido de las manecillas del reloj, y finalmente entre los días 17 y 23 mostraron parálisis del tren posterior.

Las larvas que se encuentran migrando en el cerebro de los niños probablemente puedan producir patología y efectos adversos, sin embargo, estos pueden ser sutiles y difíciles de medir clínicamente. En un estudio epidemiológico se asoció la infección de *T. canis* al déficit neuropsicológico o en el desarrollo motor. La reducida capacidad para

leer, una marcada distracción y una baja inteligencia se han asociado con la infestación por *T. canis*. Sin embargo, confundieron variables tales como la educación familiar y la raza tomadas dentro del estudio, pues la asociación entre la seropositividad y los pobres resultados, no fueron estadísticamente significativas (Worley *et al.*, 1982). En otro estudio en la ciudad de Nueva York se estableció que la infección de *T. canis* es común en niños desde los 12 meses de edad hasta los 14 años, con un rango de 1 al 14% de la población y que los niños infectados cuando son comparados con niños no infectados demuestran peores pruebas neuropsicológicas, de función motora y de conocimiento (Worley *et al.*, 1982; Glickman & Shofer, 1987).

DIAGNÓSTICO DE *LARVA MIGRANS*

El diagnóstico presuntivo de L.M.V. puede ser basado en los signos clínicos y en los hallazgos de laboratorio. Además una historia de geofagia y reciente exposición a cachorros, reforzaría ese diagnóstico. La confirmación directa del diagnóstico es problemática porque los huevos no son eliminados en heces y la observación de las larvas de *T. canis* en las biopsias de tejidos resulta difícil de hacer, lo que hace impracticable esa técnica de diagnóstico. Así se han hecho estudios con la finalidad de tener otros métodos de diagnóstico tales como los serológicos (Faust y col., 1981; Alba, 1991).

Las primeras pruebas inmunológicas que se utilizaron para el diagnóstico de *larva migrans* se realizaron con antígenos completos de los parásitos adultos o larvas. Sin embargo, los antígenos somáticos, cruzan inmunológicamente con los antígenos somáticos de otros nemátodos. En la actualidad, debido a su especificidad, los antígenos que se utilizan para el serodiagnóstico son los de secreciones y excreciones (Maizels *et al.*, 1984, Alba, 1991).

Para la detección del síndrome de *larva migrans* se han utilizado varias técnicas, entre las que se encuentran la doble difusión en gel de agar, hemaglutinación indirecta, inmunofluorescencia y fijación de complemento. Más recientemente se han utilizado la prueba de ELISA y el Western-blot para el diagnóstico específico de la toxocariasis (Magnaval *et al.*, 1992; Magnaval, 1995).

En el caso de L.M.O. la demostración de anticuerpos contra *T. canis* en el humor acuoso es considerada como evidencia de que ocurre la infestación, porque las formas sistémicas no dan como resultado la presencia de anticuerpos intraoculares. La citología del humor acuoso y vítreo, así como la medición de enzimas, son usadas para distinguir la L.M.O. del retinoblastoma (Glickman & Shofer, 1987).

MODELOS EXPERIMENTALES

En el estudio de esta enfermedad se han utilizado como modelos experimentales varias especies animales, entre ellas: ratones (Abo-Shehada & Herbert, 1984; Ohima, 1961), ratas (Olson & Rose, 1966; Tongson & Dayrit, 1973), monos (Tomimura *et al.*, 1976), conejos (Glickman & Shofer, 1987), pollos (Agnihotri *et al.* 1987), codornices (Nakamura *et al.*, 1991), hamster (Agnihotrf *et al.* 1987), cobayos (Buijs *et al.*, 1995), cerdos (Stevenson & Jacobs, 1977) y jerbos (Alatorre Hernández 1993; Alba Hurtado, 1999 y 2000). El modelo más utilizado es el ratón, ya que tiene grandes ventajas, como la de contar con cepas singénicas, haber sido ampliamente estudiado, su bajo costo y son fáciles de mantener y reproducir. La toxocariasis tisular es fácil de inducir en los ratones, sin embargo en ellos la toxocariasis ocular no ocurre frecuentemente. Otros modelos han evaluado algunos aspectos de la patología o la respuesta inmune (Church *et al.*, 1975; Stevenson & Jacobs, 1977; Glickman & Shofer, 1987; Smith *et al.*, 1983).

A nivel ocular existe poca información, el reporte más relevante de esta relación fue hecho por Watzke y cols. en 1984, quienes inocularon larvas de *T. canis* en humor vítreo, humor acuoso y coroides de macacos. La inoculación de las larvas produjo hemorragias retinales, perivasculitis en nódulos retinales, en algunos casos se observó una reacción inflamatoria inducida por las larvas mientras que en otros no se indujo tal efecto. Debido a que en estos estudios se requiere de cirugía especializada y por el alto costo de los animales, este modelo no se ha usado para evaluar la patología o el tratamiento de la toxocariasis ocular. Por otro lado Alatorre Hernández en 1993 y Alba Hurtado en 1999 y en el 2000 reportaron la infección experimental en jerbos, en los cuales se presenta la toxocariasis ocular de manera frecuente.

UTILIZACIÓN DE FÁRMACOS EN LA TOXOCARIASIS

Entre los fármacos potencialmente eficientes para el tratamiento de la toxocariasis humana, han sido valorados en estudios controlados el tetramisol, los benzimidazoles (mebendazol, oxfendazol, albendazol y febendazol), además de la piperazina y dietilcarbamacina (DEC), ivermectina y el nitroscanate (Tongson & Dayrit, 1973; Holt *et al.*, 1981; González 1983; Carrillo 1985; Alvarez 1987; Magnaval, 1995,). En estos estudios, Tongson & Dayrit en 1973 probaron la efectividad del tetramisol sobre las larvas somáticas de *T. canis* en ratas blancas, encontrando resultados estadísticamente significativos al utilizar una dosis de 10 mg/kg de peso; Holt *et al.* en 1981 probaron varios benzimidazoles (mebendazol, oxfendazol, albendazol y febendazol) además de piperazina y DEC, contra la infección de *T. canis* en ratones; no encontrando resultados significativos con ninguno de los fármacos mencionados; González en 1983 probó la eficacia del nitroscanate a una dosis de 25 mg/kg de peso en ratones albinos no encontrando resultados estadísticamente significativos; Carrillo en 1985 evaluó la eficacia de la DEC a dosis de 50 mg/kg de peso durante 10 días, obteniendo resultados significativos. Alvarez en 1987 evaluó la eficacia de la ivermectina utilizando una dosis de 200 mcg/kg de peso obteniendo resultados significativos. Por otro lado Magnaval en 1995 comparó la eficacia de la DEC y del mebendazol para el tratamiento de la toxocariasis humana, observando que el mebendazol es más eficaz que la DEC por disminuir la presentación de los signos clínicos presentes en la toxocariasis, así como la cinética de los conteos eosinofílicos y de las concentraciones de la IgE específica.

Ninguno de los tratamientos específicos hasta ahora probados, ha demostrado ser efectivo de manera concluyente; por lo que se sigue recomendando la utilización de este tipo de antihelmínticos en combinación con antihistamínicos, corticosteroides y broncodilatadores. Se recomienda la destrucción de la larva por fotocoagulación cuando es visible en el ojo y está ubicada en un lugar favorable.

MOXIDECTINA

Este producto fue sintetizado en 1990 en Japón. Es un derivado semisintético de la nemadectina, que es un anillo lactona macrocíclico producido por la fermentación de *Streptomyces cyanogriseus*. El grupo de las lactonas macrocíclicas presenta características químicas parecidas a los antibióticos, pero son muy activas contra nemátodos y artrópodos a dosis muy bajas. Las formas comerciales de la moxidectina se producen para su aplicación por vía oral, intramuscular, subcutánea y tópica. Su estructura química se relaciona con la milbemicina y avermectinas (figura 4), con las que comparte no solo la similitud en su molécula sino además su farmacocinética y tipo de absorción (Gardner & Besier, 1997; Sumano & Ocampo, 1997).

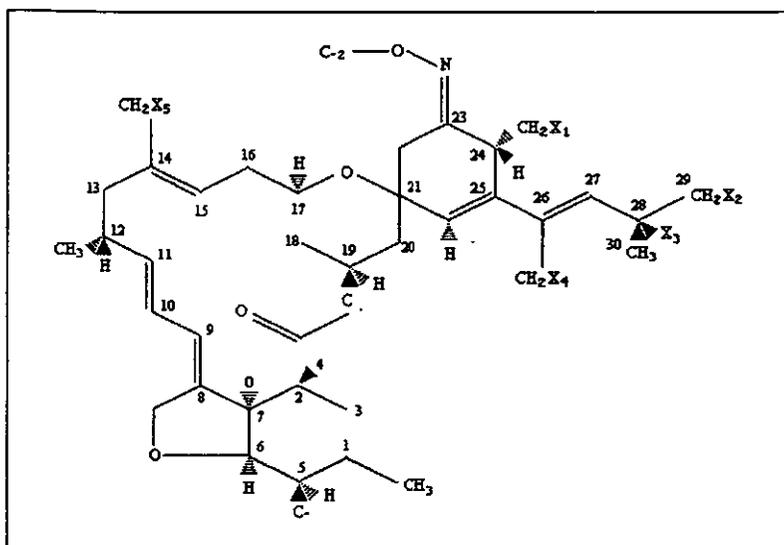


Figura 4.- Fórmula estructural de la moxidectina (Sumano & Ocampo, 1997).

FARMACOCINÉTICA

Es muy similar para todo el grupo de lactonas macrocíclicas, estimula la liberación del ácido gamaminobutírico (GABA) del parásito, que tiene efectos de neurotransmisor inhibitorio de los estímulos nerviosos en la placa neuromuscular. Esta inhibición, ocasiona parálisis e incluso la muerte del parásito y puede afectar la producción de huevos de éste; como estos químicos no son usados para la transmisión nerviosa por los vertebrados, las lactonas macrocíclicas tienen poca toxicidad para ellos (Sumano & Ocampo, 1997).

ABSORCIÓN

El fármaco es liposoluble y se absorbe por todas las vías, se distribuye ampliamente en los tejidos, acumulándose sobre todo en la luz intestinal por eliminación biliar, en grasa y piel, lo que permite su uso como acaricida con excelentes resultados. La vida media en bovinos es de 9 a 11 días en promedio, con un efecto residual de tres semanas (Sumano & Ocampo, 1997).

EXCRECIÓN

Independientemente de la vía de administración, el medicamento se elimina por bilis, por lo que se detectan grandes cantidades en heces, aunque también se excreta por orina y leche.

USOS Y DOSIS

Las dosis recomendadas para bovinos y ovinos es de 200 a 300 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. por vía subcutánea, pero las vías de administración pueden ser muy variadas Tiene efecto contra parásitos adultos y estados inmaduros de muchos nemátodos entre los que se incluyen (Gardner & Besier, 1997; Sumano & Ocampo, 1997):

- *Ostertagia ostertagi* – Adultos y L4
- *Haemonchus placei* – Adultos
- *Haemonchus contortus* – Adultos y L4
- *Trichostrongylus axei*– Adultos

- *Trichostrongylus colubriformis* – Adultos
- *Cooperia oncophora* – Adultos
- *Cooperia punctata* – Adultos
- *Bunostomum phlebotomum* – Adultos
- *Oesophagostomum radiatum* – Adultos
- *Nematodirus helvetianus* – Adultos
- *Dictyocaulus viviparus* – Adultos y L4
- *Strongylus vulgaris* – Adultos y L4/L5
- *Strongylus vulgaris* – Adultos
- *Strongylus edentatus* – Adultos
- *Triodontophorus serratus* – Adultos
- *Cyathostomum* spp – Adultos
- *Cylicostephanus* spp – Adultos
- *Gyalocephalus capitatus* – Adultos
- *Parascaris equorum* – Adultos y L4
- *Oxyuris equi* – Adultos y L4
- *Trichostrongylus axei* – Adultos
- *Habronema muscae* – Adultos
- *Gasterophilus intestinalis* – Adultos

JUSTIFICACIÓN

La toxocariasis es una zoonosis parasitaria causada por la infestación con larvas de *Toxocara canis*, el parásito más común de los perros. Además de los dos síndromes bien identificados que son *larva migrans visceral* (LMV) y *larva migrans ocular* (LMO), estudios recientes (Glickman *et al.*, 1987; Taylor *et al.*, 1988; Magnaval, 1993 citados por Magnaval, 1994), sugieren que la enfermedad frecuentemente asume las características de un síndrome que comprende debilidad crónica, dolor abdominal, varios signos de alergia y eosinofilia. Además la toxocariasis ha sido propuesta como posible etiología de varios síndromes neurológicos (Glickman & Shofer, 1987).

Debido a la imposibilidad de poder realizar estudios experimentales en humanos, se ha tenido la necesidad de realizarlos en modelos animales, que desarrollen un patrón de infestación similar al que ocurre en los seres humanos con la finalidad de poder traspolar los resultados obtenidos de esos estudios, con lo que ocurre en el hombre.

El tratamiento de esta enfermedad es un aspecto que poco se ha podido evaluar en seres humanos, debido a la dificultad que implica el encontrar grandes grupos de pacientes que muestren signos clínicos que sugieran la enfermedad, y porque aún cuando se cuente con estos, los protocolos experimentales se limitan únicamente a evaluar la signología (Magnaval, 1995). Se han utilizado modelos experimentales para poder evaluar fármacos que tengan efecto sobre las larvas de *T. canis*, sin embargo, en esos modelos no se han podido reproducir los dos síndromes que producen las larvas de

T. canis . En este contexto los jerbos han sido utilizados como modelo experimental en los que se reproduce la toxocariasis ocular y sistémica (Alba.1999, 2000).

Entre los fármacos que se han evaluado contra este parásito se encuentran: el tetramisol, los benzimidazoles (mebendazol, oxfendazol, albendazol y febendazol), además de la piperazina y dietilcarbamacina (DEC), ivermectina y el nitroscanate (Tongson & Dayrit, 1973; Holt *et al.*, 1981; González 1983; Carrillo 1985;Alvarez 1987; Magnaval, 1995,)

La moxidectina, fármaco perteneciente al grupo de las lactonas macrocíclicas ha mostrado tener una eficacia de más del 90% para parásitos adultos de la familia ascaridae y de un 75 a 89% contra las larvas y huevos de ascarideos en rumiantes, de más del 90% contra las larvas y huevos de ascaris de equinos, perros y gatos y de un 75 a 89% contra las larvas y huevos de ascaris en suinos. Debido a estos porcentajes de eficacia se decidió evaluar este producto como tratamiento experimental para la toxocariasis a dosis de 300µg/kg de pv. (Sumano & Ocampo, 1997).

Por otro lado, no existen estudios en los cuales, además de evaluar al fármaco mediante la recuperación de larvas de animales infectados experimentalmente o de la evaluación a partir de la eliminación de los signos clínicos se evalúen también la evolución de las lesiones histopatológicas causadas por la migración larvaria. Esto nos permitirá, conocer la condición evolutiva de las lesiones histopatológicas en los órganos afectados una vez que se ha aplicado un tratamiento, así mismo permitirá establecer si el tratamiento modifica la evolución de dichas lesiones, haciendo que éstas se eliminen mediante un proceso de regeneración o reparación más rápida, o si no ocurren efectos y

las lesiones se mantienen en los órganos. Por lo anterior en este trabajo se realizó la evaluación de las lesiones causadas por las larvas de *T. canis* en jerbos (*Meriones unguiculatus*) infectados experimentalmente después de aplicar un tratamiento a base de moxidectina, además de evaluarlo mediante la recuperación de larvas a partir de la digestiones artificiales de diferentes órganos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- Contribuir al estudio sobre la patología de la infección causada por larvas de *Toxocara canis* y utilizar a al jерbo (*Meriones unguiculatus*) como modelo experimental, para evaluar la eficacia de la moxidectina como tratamiento de la toxocariasis.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- a) Estudiar las lesiones histopatológicas de los tejidos afectados por larvas de *Toxocara canis*, en jerbos sin tratamiento.
- b) Estudiar las lesiones histopatológicas de los tejidos afectados por larvas de *Toxocara canis*, en jerbos con tratamiento.
- c) Realizar una comparación de las lesiones observadas en los diferentes tejidos afectados por larvas de *Toxocara canis*, en jerbos con y sin tratamiento de moxidectina.

MATERIAL Y METODOS

Lugar de Realización

- Laboratorio de Parasitología de la Sección de Ciencias de la Salud Animal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.
- Laboratorio No. 2 del Departamento de Genética y Biología Molecular del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

Animales experimentales

Para este estudio se utilizaron jerbos (*Meriones unguiculatus*) machos de entre 60 y 90 días de edad, los cuales fueron donados por el Departamento de Genética y Biología Molecular del Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del I.P.N. Los animales fueron mantenidos bajo las condiciones del bioterio de dicha institución, con una alimentación, a partir de alimento comercial equilibrado para roedores y agua purificada *ad libitum*, procurando una temperatura ambiente de 30 °C y una relación de luz-obscuridad de 50:50.

Obtención y embrionación de huevos de *T. canis*

Se recolectaron parásitos adultos de *T. canis* a partir del intestino delgado de cachorros infestados de entre uno y tres meses de edad, los cuales fueron sacrificados en el

Centro Antirrábico de Cuautitlán, Edo. de México. Las hembras de *T. canis* fueron aisladas de los machos y colocadas en cajas de Petri con solución amortiguadora de fosfato (PBS), para realizar la disección del útero y obtener el mayor número de huevos posible, mediante el empleo de un colador fino se eliminaron los restos del parásito. Los huevos se sometieron a varios lavados con PBS mediante centrifugación a una velocidad de 600 x g durante 5 minutos para eliminar el exceso de contaminantes mediante decantación, el botón de huevos sedimentados fue resuspendido en formol al 2% en PBS y colocados en cajas de Petri estériles para ser incubados en una estufa bacteriológica, a una temperatura de entre 20 y 22 °C durante 28 días. Pasado este tiempo se realizó una observación con microscopio compuesto, con la finalidad de verificar su viabilidad. Para la estimación de huevos en el inculo, la suspensión de huevos obtenida fue agitada vigorosamente, e inmediatamente se tomo una muestra de 50 µl con una micropipeta. Dicha muestra fue colocada en un portaobjetos y se observó al microscopio para contar el número de huevos larvados de *T. canis* (hltc). Los muestreos fueron repetidos tres veces más para poder obtener un promedio. Justo antes de la inoculación, la suspensión se lavo para dejarla libre de PBS formolado y resuspendierla en PBS. El inculo se concentró a 2500 huevos por ml, aplicando 0.4 ml de la suspensión (1000 hltc), por vía oral a cada uno de los jerbos.

Medicamentos.

- Cydectin (Moxidectina) a una dosis de 300 µg/kg de peso vivo (pv).
- Flagyl (Metronidazol) suspensión a una dosis de 50 mg/kg de peso durante 3 días.

Protocolo experimental:

Se utilizaron 70 jerbos, los cuales fueron desparasitados con 50 mg/kg pv. de metronidazol, durante tres días por vía intragástrica con una sonda de 3 mm de diámetro, con la finalidad de eliminar posibles protozoarios comensales como *Entamoeba muris*, dejándolos descansar durante 15 días antes de ser utilizados. Posteriormente, los 70 jerbos fueron divididos en 14 grupos de 5 animales cada uno, a excepción de los grupos 8 y 12, en los cuales se trabajó con cuatro animales debido a la muerte de un jervo en cada grupo. El manejo de los grupos para el experimento se observa en el cuadro número 1.

Cuadro 1.- Manejo al que fueron sometidos los jerbos para el desarrollo del experimento

No. de Grupo	Cantidad de Inoculo	Día de Tratamiento	Tipo de Tratamiento	Día de Sacrificio
GRUPO 1C	1000 hltc	2 días p.i.	Placebo	12 días p.i.
GRUPO 2E	1000 hltc	2 días p.i.	Moxidectina	12 días p.i.
GRUPO 3C	1000 hltc	2 días p.i.	Placebo	27 días p.i.
GRUPO 4E	1000 hltc	2 días p.i.	Moxidectina	27 días p.i.
GRUPO 5C	1000 hltc	15 días p.i.	Placebo	25 días p.i.
GRUPO 6E	1000 hltc	15 días p.i.	Moxidectina	25 días p.i.
GRUPO 7C	1000 hltc	15 días p.i.	Placebo	40 días p.i.
GRUPO 8E	1000 hltc	15 días p.i.	Moxidectina	40 días p.i.
GRUPO 9C	1000 hltc	60 días p.i.	Placebo	70 días p.i.
GRUPO 10E	1000 hltc	60 días p.i.	Moxidectina	70 días p.i.
GRUPO 11C	1000 hltc	60 días p.i.	Placebo	85 días p.i.
GRUPO 12E	1000 hltc	60 días p.i.	Moxidectina	85 días p.i.
GRUPO 13	1000 hltc	60 días p.i.	Moxidectina	10 días p.i.
GRUPO 14	1000 hltc	60 días p.i.	Moxidectina	25 días p.i.

Durante el sacrificio se colectaron de cada uno de los jerbos los riñones, hígado, pulmón, cerebro y ojos; la mitad de cada uno de los órganos impares y uno de los órganos pares se destinó para digestión artificial, utilizando pepsina-HCl al 1%. Cada uno de los órganos fue macerado y transferidos a tubos de ensayo conteniendo 12 ml de una solución de pepsina-HCl al 1% dejándolos incubar a 37 °C durante 18 hrs. Una vez transcurrido este tiempo el tubo conteniendo el tejido digerido se agitó vigorosamente y después los tubos se centrifugaron a una velocidad de 600 x g durante 3 minutos para eliminar la solución de pepsina-HCl al 1%. Los órganos digeridos fueron resuspendidos con agua destilada para realizar un lavado, volviendo a centrifugar la suspensión eliminando el sobrenadante y adicionando de 4-5 ml de PBS formolado al 10% como conservador. La cuantificación del número total de larvas de cada uno de los órganos digeridos fue realizada mediante la estimación del número de larvas contenidas en 100 o 200 µl de la suspensión del digerido, colocando éstos en un portaobjetos y observándolos al microscopio.

La mitad restante de cada órgano impar y el otro órgano par fueron fijados en formol al 10%, cada una de las muestras sufrió un proceso de deshidratación con alcoholes de menor a mayor concentración, aclaramiento mediante el uso de xilol y una infiltración con parafina; posteriormente las muestras de cada uno de los jerbos previamente identificadas fueron incluidas en parafina, se cortaron en micrótopo, a un grosor de 4-5 micras; obteniendo 10 cortes seriados de cada uno y se tñieron hematoxilina-eosina.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con el objetivo de comparar los valores obtenidos en cuanto al número total de larvas recuperadas entre los grupos, el número de larvas recuperadas en cada órgano en cada grupo y hacer una comparación del número de larvas recuperadas en los diferentes órganos se utilizaron una prueba de análisis de varianza (ANOVA) y una prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales utilizando un nivel de confianza de $p < 0.05$, la cual realiza una prueba de t de Student (Wayne, 1982), utilizando el programa de Microsoft Excel.

Así mismo, para evaluar la eficacia de la moxidectina se utilizó la siguiente fórmula (Soulsby, 1988):

$$\frac{a - b}{a} \times 100 = \% \text{ eficacia}$$

Donde a = No. de parásitos del lote testigo.

b = No. de parásitos del lote tratado.

RESULTADOS

CINÉTICA DE MIGRACIÓN DE LARVAS DE *T. CANIS* EN JERBOS TRATADOS EN DIFERENTES PERIODOS DE TIEMPO.

La cinética de migración se evaluó contando el número total de larvas recuperadas después de una digestión artificial en los tres grupos inoculados y tratados a los 2, 15 y 60 días p.i., los resultados se presentan en el cuadro 2 y gráfica 1.

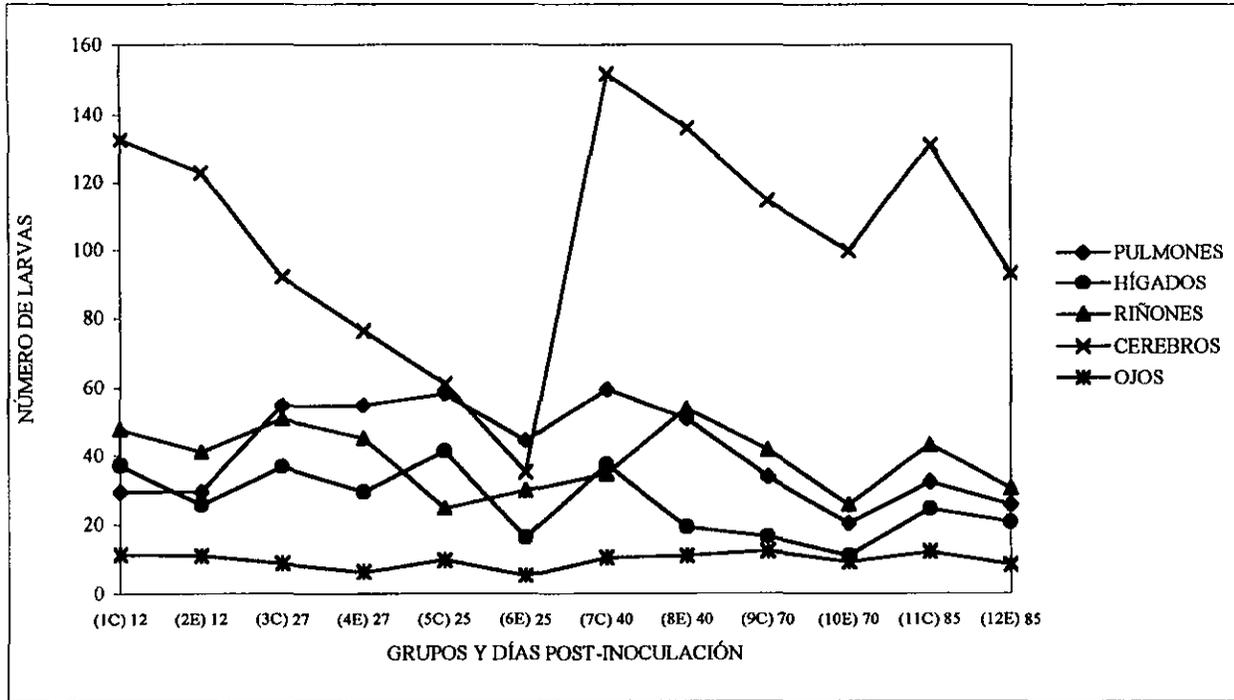
Los resultados obtenidos mostraron que, la cinética de migración en los diferentes órganos guardó mucha similitud a lo largo de todo el experimento, tanto para los grupos experimentales como para los testigo.

El órgano en donde se recuperó el mayor número de larvas fue el cerebro, el cual mostró dos picos en la recuperación de larvas a los días 40 y 85 p.i., grupos 7C y 11C respectivamente; con dos descensos muy marcados en los días 25 y 70, grupos 6E y 10E. El orden de los órganos en que se recuperaron la mayor cantidad de larvas después del cerebro correspondió a pulmones, riñones, hígados y ojos; mostrando los mismos picos y periodos de descenso en el número de larvas recuperadas, a los 25 días p.i. y a los 70 días p.i., en los grupos 6E y 10E respectivamente (cuadro 2 y gráfica 1).

Cuadro 2.- Número de larvas recuperadas en diferentes órganos de jerbos infectados experimentalmente con 1000 huevos larvados de *T. canis*, tratados a los 2, 15 y 60 días p.i.

N.T.= No tratado (grupo testigo)

NÚMERO DE GRUPO	TRATAMIENTO (DÍAS p.i.)	SACRIFICIO (DÍAS p.i.)	PULMONES	HÍGADOS	RIÑONES	CEREBROS	OJOS	TOTAL
GRUPO 1C	N.T.	12 días p.i.	29.6	37.2	47.6	132.6	11.4	258.4
GRUPO 2E	2 días p.i.	12 días p.i.	29.6	26	41	122.6	11	230.29
GRUPO 3C	N.T.	27 días p.i.	54.6	36.6	50.6	92	8.8	242.6
GRUPO 4E	2 días p.i.	27 días p.i.	54.8	29.6	45	76.4	6.4	212.2
GRUPO 5C	N.T.	25 días p.i.	58.2	41.2	24.8	64	9.8	195
GRUPO 6E	15 días p.i.	25 días p.i.	44.4	16.4	30	35.2	5.4	131.4
GRUPO 7C	N.T.	40 días p.i.	59.4	37.4	34.8	151.8	10.4	293.8
GRUPO 8E	15 días p.i.	40 días p.i.	50.75	19.25	53.75	136	11	270.75
GRUPO 9C	N.T.	70 días p.i.	33.8	16.6	41.6	114.2	12.4	218.6
GRUPO 10E	60 días p.i.	70 días p.i.	20.4	11	26	99.6	9.2	166.2
GRUPO 11C	N.T.	85 días p.i.	32.4	24.6	43	131	12.2	243.2
GRUPO 12E	60 días p.i.	85 días p.i.	26	20.75	30.5	93	8.5	178.75



Gráfica 1.- Cinética de migración de larvas de *T. canis* en jerbos infectados experimentalmente con 1000 huevos larvados de *T. canis*, tratados a los 2, 15 y 60 días p.i.

EVALUACIÓN DE LA MOXIDECTINA

Para determinar si existían diferencias entre el número de larvas recuperadas en los grupos inoculados con hltc y no tratados, contra grupos inoculados y tratados con moxidectina, se compararon dichas cantidades sometiendo los resultados obtenidos de los conteos larvarios a un análisis de varianza y una prueba T..

Los resultados obtenidos a partir de las digestiones artificiales indicaron que en los grupos experimentales se observó de manera general una disminución en el número de larvas recobradas a partir de los cinco órganos utilizados para el trabajo (pulmón, hígado, riñones, cerebro y ojos), en comparación con el número de larvas recobradas de los órganos de los grupos testigo (cuadro 3). No se recobraron larvas en ninguno de los órganos de los animales de los grupos a los que solo se les administró tratamiento con moxidectina (13 y 14).

En los grupos 1C y 2E, se observó que la cantidad de larvas totales recobradas de los animales tratados fue menor que el número observado en los jerbos testigo; sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$). La distribución promedio de larvas en los órganos, resultó ser prácticamente igual tanto en los pulmones como en ojos de ambos grupos de animales (cuadro 3 y gráfica 2). En los grupos 3C y 4E se observó la misma tendencia que en los grupos anteriores (cuadro 3 y gráfica 2); sin embargo, tampoco se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

En los grupos 5C y 6E se observó que la cantidad total de larvas recobradas de los jerbos tratados fue menor que la cantidad recobrada de los jerbos testigo (cuadro 3 y gráfica 3), dicha diferencia fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Así mismo, al

realizar el análisis estadístico para el número promedio de larvas de cada uno de los órganos solo en los hígados y cerebros se mostraron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$). Dentro de los grupos 7C y 8E, se observó una disminución en el promedio de larvas totales recobradas de los jerbos tratados, comparándolo con el promedio obtenido de los animales testigo, sin embargo, esta diferencia no fue significativa para el número de larvas totales ($p > 0.05$), y para cada uno de los órganos solo se observó diferencia estadística en los hígados (cuadro 3 y gráfica 3). El número de larvas en los riñones de los animales de los grupos 6E y 8E fue mayor en comparación con los grupos 5C y 7C, siendo estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

En el cuadro 3 y gráfica 4 se compara el número de larvas recobradas a partir de los grupos 9C y 10E, observándose la misma tendencia de disminución en la cantidad de larvas recobradas en el grupo tratado en comparación con el grupo testigo, esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$) tanto para el conteo total de larvas, como para pulmones, riñones y ojos.

En los grupos 11C y 12E, se siguió observando que el promedio de larvas totales recobradas de los jerbos tratados comparando con el promedio obtenido de los animales control fue menor, sin embargo, la disminución no resultó ser significativa para el número de larvas totales ($p < 0.05$), pero si para la cantidad de larvas recobrada a partir de los ojos (cuadro 3 y gráfica 4).

Cuadro 3.- Número de larvas de *T. canis* recuperadas en diferentes órganos de jerbos inoculados con 1000 huevos larvados de *T. canis* y tratados con 300 µg/kg pv de moxidectina, en el que se observan los grupos que mostraron diferencias estadísticamente significativas.
 N.T.= No tratado (grupo testigo)

a = no presentan diferencia (ANOVA y Prueba T)

b = presentan diferencia (ANOVA y Prueba T)

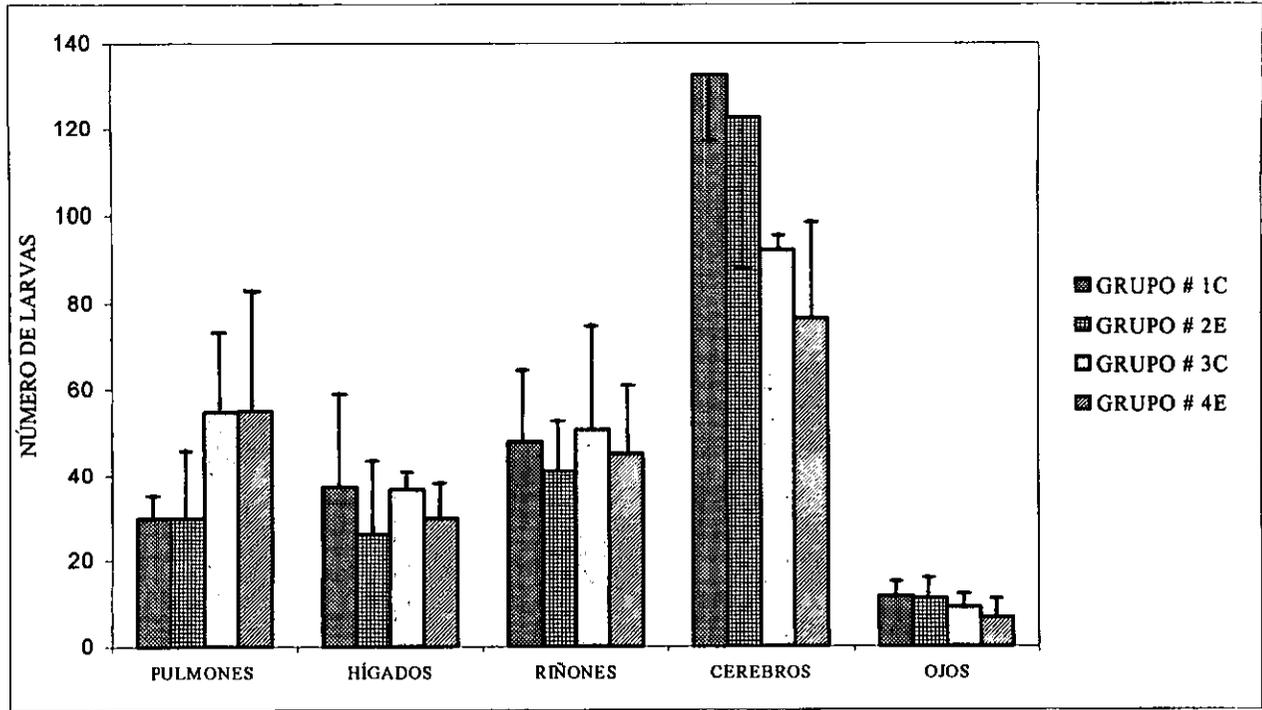
NÚMERO DE GRUPO	DÍA DE TRATAMIENTO Días p.i.	DÍA DE SACRIFICIO Días p.i.	LARVAS RECOBRADAS					TOTAL DE LARVAS POR JERBO
			PULMONES	HIGADOS	RIÑONES	CEREBROS	OJOS	
GRUPO 1C	N.T.	12 días p.i.	29.6+/-5.9 ^a	37.2+/-21.5 ^a	47.6+/-17.3 ^a	132.6+/-15.3 ^a	11.4+/-3.6 ^a	258.4+/-44.03 ^a
GRUPO 2E	2 días p.i.	12 días p.i.	29.6+/-16.6 ^a	26+/-18.3 ^a	41+/-11.8 ^a	122.6+/-34.3 ^a	11+/-5.1 ^a	230.2+/-41.2 ^a
GRUPO 3C	N.T.	27 días p.i.	54.6+/-18.9 ^a	36.6+/-3.9 ^a	50.6+/-24.8 ^a	92+/-3.7 ^a	8.8+/-3.4 ^a	242.6+/-37.5 ^a
GRUPO 4E	2 días p.i.	27 días p.i.	54.8+/-28.3 ^a	29.6+/-8.5 ^a	45+/-15.9 ^a	76.4+/-23.2 ^a	6.4+/-5.2 ^a	212.2+/-65.4 ^a
GRUPO 5C	N.T.	25 días p.i.	58.2+/-49.6 ^a	41.2+/-12.5 ^a	24.8+/-7 ^a	64+/-10.2 ^a	9.8+/-5.7 ^a	198+/-49.9 ^a
GRUPO 6E	15 días p.i.	25 días p.i.	44.4+/-22.1 ^a	16.4+/-17.4 ^b	30+/-14.3 ^b	35.2+/-18.9 ^b	5.4+/-1.7 ^a	125.4+/-19.7 ^b
GRUPO 7C	N.T.	40 días p.i.	59.4+/-11.5 ^a	37.4+/-8.6 ^a	34.8+/-7.7 ^a	151.8+/-61.9 ^a	10.4+/-1.5 ^a	293.8+/-79.7 ^a
GRUPO 8E	15 días p.i.	40 días p.i.	50.8+/-26.1 ^a	19.3+/-16.9 ^b	53.8+/-15.4 ^b	136+/-30.7 ^a	11+/-4.8 ^a	270.8+/-28.1 ^a
GRUPO 9C	N.T.	70 días p.i.	33.8+/-5.4 ^a	16.6+/-10.9 ^a	41.6+/-9.3 ^a	114.2+/-25.6 ^a	12.4+/-1.7 ^a	218.6+/-29.4 ^a
GRUPO 10E	60 días p.i.	70 días p.i.	20.4+/-12.3 ^b	11+/-12.3 ^a	28+/-15.6 ^b	99.6+/-26.5 ^a	9.2+/-2.1 ^b	166.2+/-53.6 ^b
GRUPO 11C	N.T.	85 días p.i.	32.4+/-11.3 ^a	24.6+/-14.9 ^a	43+/-7.9 ^a	131+/-45.2 ^a	12.2+/-3.6 ^a	243.2+/-60.41 ^a
GRUPO 12E	60 días p.i.	85 días p.i.	26+/-6.1 ^a	20.8+/-17.1 ^a	30.5+/-13.7 ^a	93+/-54.8 ^a	8.5+/-1.9 ^b	178.8+/-89.8 ^a

Para medir la eficacia de la moxidectina, se comparó el número de larvas recuperadas en los grupos inoculados con hlrc y no tratados (grupos testigo) contra grupos inoculados y tratados con moxidectina (grupos experimentales). La eficacia de la moxidectina en los diferentes grupos se presenta en el cuadro 4.

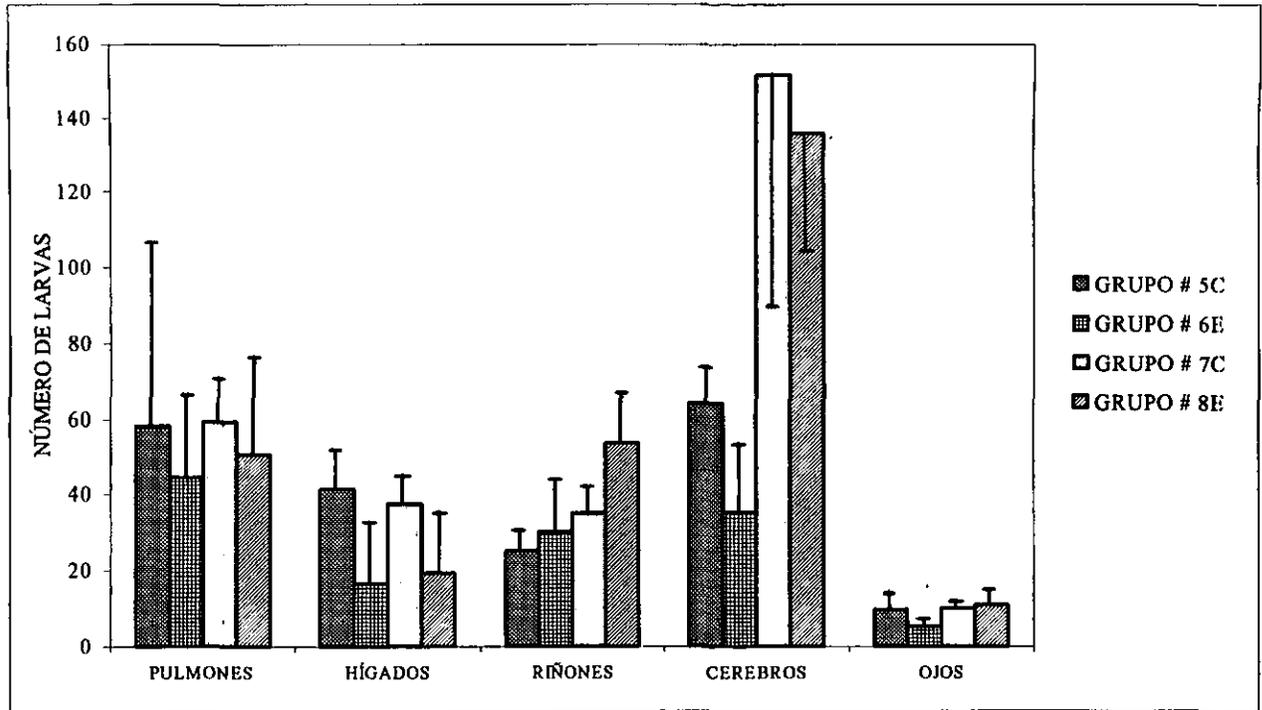
Cuadro 4.- Porcentaje de eficacia de la moxidectina a dosis de 300 µg/kg pv en jerbos inoculados con 1000 huevos larvados de *T. canis*.

N.T.= No tratado (grupo testigo)

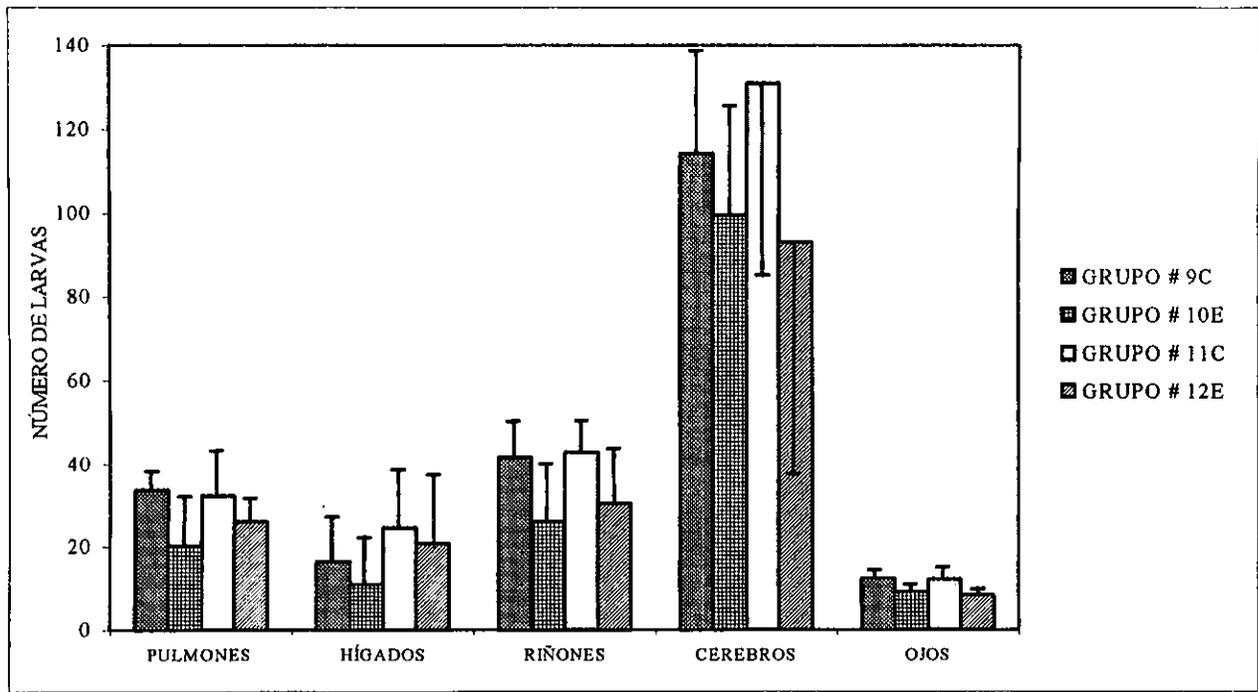
No. DE GRUPOS	DÍA DE TRATAMIENTO	DÍA DE SACRIFICIO (pi.)	PORCENTAJE DE EFICACIA
1C	N.T.	12	10.9
2E	2 días p.i.	12	
3C	N.T.	27	12.5
4C	2 días p.i.	27	
5C	N.T.	25	36.7
6E	15 días p.i.	25	
7C	N.T.	40	7.8
8E	15 días p.i.	40	
9C	N.T.	70	24
10E	60 días p.i	70	
11C	N.T.	85	26.5
12E	60 días p.i.	85	



Gráfica 2.- Número de larvas recuperadas en diferentes órganos de jerbos infectados experimentalmente con 1000 huevos larvados de *T. canis*, tratados a los 2 días p.i. con 300 µg de moxidectina por kg de peso y sacrificados a los 12 días p.i. (grupos 1C y 2E) y a los 27 días p.i. (grupos 3C y 4E).



Gráfica 3.- Número de larvas recuperadas en diferentes órganos de jerbos infectados experimentalmente con 1000 huevos larvados de *T. canis*, tratados a los 15 días p.i. con 300 µg de moxidectina por kg de peso y sacrificados a los 25 días p.i. (grupos 5C y 6E) y a los 40 días p.i. (grupos 7C y 8E).



Gráfica 4.- Número de larvas recuperadas en diferentes órganos de jerbos infectados experimentalmente con 1000 huevos larvados de *T. canis*, tratados a los 60 días p.i. con 300 µg de moxidectina por kg de peso y sacrificados a los 60 días p.i. (grupos 9C y 10E) y a los 85 días p.i. (grupos 11C y 12E).

Lesiones macroscópicas presentes en hígado, pulmón, riñón y cerebro de los jerbos

Las lesiones macroscópicas más importantes observadas durante la necropsia en los 14 grupos utilizados en el experimento se resumen en el cuadro 5. En los órganos de los jerbos tratados a los 2 días p.i. y sacrificados a los 12 días p.i. se presentaron de manera notoria algunos cambios vasculares, observándose congestión y hemorragias de algunos órganos, siendo los más afectados los pulmones y el cerebro. Así mismo, se presentaron pequeños puntos blancos que sobresalían de la superficie (1-3 mm Ø), los riñones fueron los órganos más afectados seguidos por los pulmones.

En los órganos de los grupos 3C y 4E las lesiones observadas se presentaron de manera similar a los grupos 1C y 2E; solo que en los grupos 3C y 4E, la intensidad en cuanto a número, tamaño y distribución fue mayor en los jerbos del grupo 3C, que en los jerbos del grupo 4E; incluso en los pulmones de los jerbos del grupo 3C los puntos blancos comenzaron a confluir dando la apariencia de consolidación pulmonar en un 30%.

En los órganos de los grupos 5C a 8E, tratados a los 15 días p.i., los puntos blancos en la superficie fueron más intensos en cuanto número y tamaño (3 mm Ø), que en los órganos de los grupos tratados a los 2 días p.i.; siendo más notorios por su tamaño en pulmones y riñones. En los pulmones los puntos blancos siguieron aumentando de tamaño y confluyendo dando una consistencia sólida a los órganos de más del 40%; las petequias tendieron a crecer pasando por equimosis hasta llegar a sufusiones estructurando lesiones difusas de color rojo intenso de forma y tamaño variable que en ocasiones abarcaba más del 40% del órgano. Por observación directa estas lesiones se mostraron de manera más intensa en los jerbos tratados del grupo 6E que en los jerbos testigo del grupo 5C; a diferencia de

los grupos 7C y 8E en los que las lesiones fueron más severas en los órganos del grupo control que en los del grupo experimental.

En los grupos del 9C a 12E, las lesiones macroscópicas observadas en los órganos mostraron de manera general una reducción en el tamaño de los puntos blancos (0.5 mm Ø), sin embargo, se mostraron más intensas en cuanto a número y distribución en los órganos de los jerbos testigo que en los jerbos experimentales.

En los grupos 13 y 14 que sirvieron como grupo testigo al efecto del tratamiento no se observaron cambios patológicos aparentes.

Cuadro 5.- Lesiones macroscópicas encontradas a la necropsia en jerbos inoculados con 1000 huevos larvados de *T. canis* y tratados con 300 µg/kg pv de moxidectina. Los números del 0 a 5, indican el número de jerbos de cada grupo que presentaron la lesión.

LESIONES MACROSCÓPICAS															
NÚMERO DE GRUPO	DÍA DE TRATAMIENTO Días p.i.	DÍA DE SACRIFICIO Días p.i.	PULMONES						HÍGADOS			RINONES	CEREBROS		
			CONGESTIÓN	PETEQUIAS	EQUIMOSIS	PUNTOS BLANCOS	CONSOLIDACIÓN	PLEURITIS	CONGESTIÓN	HEMORAGIAS	PUNTOS BLANCOS	PUNTOS BLANCOS	SUPERFICIE CON DEPRESIONES	CONGESTIÓN	HEMORRAGIAS
1C	N.T.	12 días p.i.	0	5	3	2	0	0	2	1	4	5	0	3	0
2E	2 días p.i.	12 días p.i.	0	5	3	3	0	0	0	0	5	0	0	0	0
3C	N.T.	27 días p.i.	2	5	3	4	1	3	0	0	3	5	0	3	0
4E	2 días p.i.	27 días p.i.	2	5	3	1	0	0	0	2	5	5	0	0	0
5C	N.T.	25 días p.i.	2	5	2	4	1	0	3	2	5	5	0	3	0
6E	15 días p.i.	25 días p.i.	0	5	2	5	0	0	0	5	1	5	0	3	2
7C	N.T.	40 días p.i.	3	5	1	4	0	0	2	1	2	5	1	5	1
8E	15 días p.i.	40 días p.i.	2	3	0	4	2	1	1	0	3	4	0	4	0
9C	N.T.	70 días p.i.	5	3	0	4	1	1	3	0	2	5	2	5	3
10E	60 días p.i.	70 días p.i.	2	0	0	5	0	0	5	0	4	5	3	5	0
11C	N.T.	85 días p.i.	5	3	1	5	0	0	1	0	4	5	5	5	1
12E	60 días p.i.	85 días p.i.	2	0	1	4	1	0	2	0	2	5	2	5	0

Lesiones microscópicas presentes en pulmón de los jerbos.

Las lesiones microscópicas observadas en los animales se presentan en el cuadro 6. A nivel pulmonar, se observó durante el desarrollo del experimento la presencia de zonas con características de inflamación aguda que variaron en cuanto a distribución; constituidas por un infiltrado de neutrófilos y eosinófilos, que en ocasiones llegaron a presentar cortes de larvas (Fotografía 1). En la forma crónica se observaron lesiones granulomatosas, constituidas por fibroblastos, linfocitos, macrófagos activados, algunos neutrófilos y eosinófilos, en algunos casos con la presencia de cortes de larvas (Fotografía 2) o de hltc, los cuales variaron en cuanto a cantidad. En los grupos 1C al 9C, se observó la presencia de neumonía tanto intersticial como exudativa con neutrófilos, eosinófilos y macrófagos activados, que variaron en cuanto a distribución y cantidad de infiltrado; en los grupos 10E al 12E la neumonía de tipo exudativa no se presentó, y solo se observó neumonía de tipo intersticial en algunos casos.

Así mismo, se presentaron de manera indistinta en algunos de los grupos, zonas con procesos de cicatrización constituidas por fibroblastos, tejido conectivo y por macrófagos con hemosiderina en su interior. También se presentó en todos los grupos un aumento de tejido linfoide asociado a los bronquios, infiltrado inflamatorio intrabronquial constituido principalmente por neutrófilos y eosinófilos, incluso algunos cortes permitieron evidenciar la presencia de un fragmento larvario rodeado por neutrófilos y eosinófilos dentro de la luz bronquial (Fotografía 3). Se observó, además vasculitis con polimorfonucleares, estas lesiones fueron disminuyendo en cuanto a número y distribución en los grupos hacia la finalización del experimento.

Lesiones microscópicas presentes en hígados de los jerbos.

Las lesiones microscópicas observadas en los animales se presentan en el cuadro 6. A nivel hepático también se observó durante todo el transcurso del experimento, a excepción de los últimos dos grupos, la presencia tanto de lesiones agudas constituidas por un infiltrado a base de neutrófilos y eosinófilos, que en ocasiones llegaron a presentar cortes de larvas (Fotografía 4), así como crónicas constituidas por fibroblastos, linfocitos, macrófagos activados, algunos neutrófilos y eosinófilos, y en algunos casos con cortes larvarios, las cuales mostraron mayor infiltrado y distribución en los grupos 2E, 4E y 6E que en los animales testigo 1C, 3C y 5C; así mismo se presentaron lesiones crónicas (granulomas y abscesos) en todos los grupos a excepción de los grupos 9C y 12E. Del mismo modo se presentó durante todo el experimento degeneración de tipo vacuolar y albuminosa, se mantuvo constante la presencia de poliploidia y de focos de reparación durante todo el experimento. También se presentó necrosis focal con infiltrado a base de polimorfonucleares y macrófagos, proliferación de canaliculos biliares, los cuales solo se observaron del grupo 1C al 8E. Así mismo la presencia de focos reparación se torno más abundante a partir del grupo número 7C (Fotografía 5).

Lesiones microscópicas presentes en riñones de los jerbos.

Las lesiones microscópicas observadas en los riñones se presentan en el cuadro 6. En los riñones la mayoría de las lesiones se presentaron constantes durante todo el experimento, se observó glomerulitis y lesiones crónicas con neutrófilos, eosinófilos y

macrófagos (fotografía 6) desde el inicio del experimento; siendo estas últimas escasas o ausentes solo en los primeros dos grupos y en los dos últimos. Las lesiones de tipo agudo presentaron infiltrado celular de neutrófilos y eosinófilos, ocasionalmente contenían cortes de larvas. A las lesiones crónicas se les sumaban fibrocitos como parte de los constituyentes celulares y en ocasiones polimorfonucleares en el centro de la lesión al igual que cortes de larvas (Fotografía 7), hacia la parte final del experimento predominó este tipo de lesiones. A lo largo del experimento se observó de manera indistinta necrosis glomerular y en algunos casos serositis cortical, la cual se manifestaba como lesiones granulomatosas que contenían en su interior cortes de larvas, así como granulomas en grasa perirenal conteniendo cortes larvarios (Fotografía 8). Ya hacia el final del experimento en los grupos 9C al 12E se observaron depresiones superficiales asociadas con tejido fibroso, macrófagos con hemosiderina y en ocasiones hemorragias. Así mismo en los últimos grupos 9C, 11C y 12E se presentaron pequeños focos de nefritis intersticial.

Lesiones microscópicas presentes en cerebros de los jerbos.

Las lesiones microscópicas observadas en los animales se presentan en el cuadro 6. En los cerebros de los primeros cuatro grupos, no se observaron cambios patológicos aparentes, pero sí se detectaron larvas sin ninguna respuesta inflamatoria en diferentes partes del encéfalo y cerebelo (Fotografía 9); sin embargo, se llegó a presentar la interrupción de la continuidad anatómica de la capa granulomatosa del cerebelo por una proliferación de células gliales conteniendo en su interior una larva degenerada (Fotografía 10). A partir del grupo 5C se hicieron evidentes manguitos perivasculares y

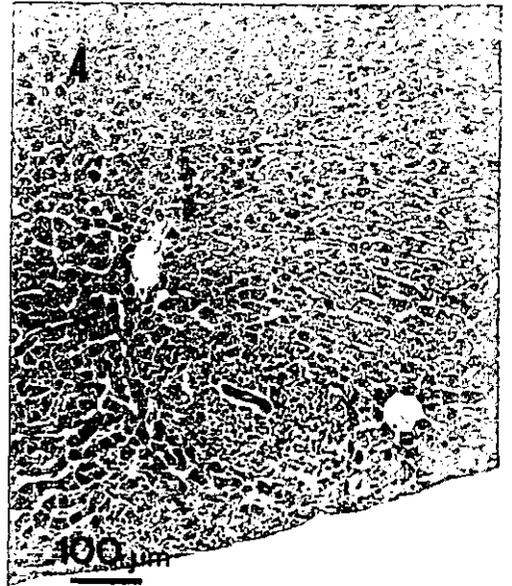
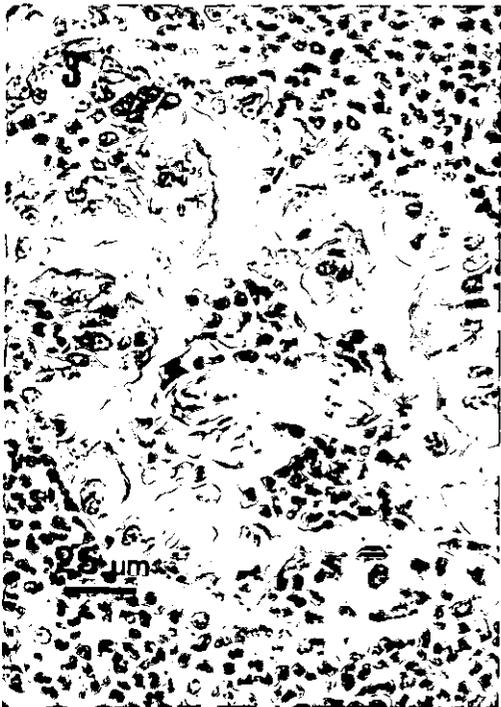
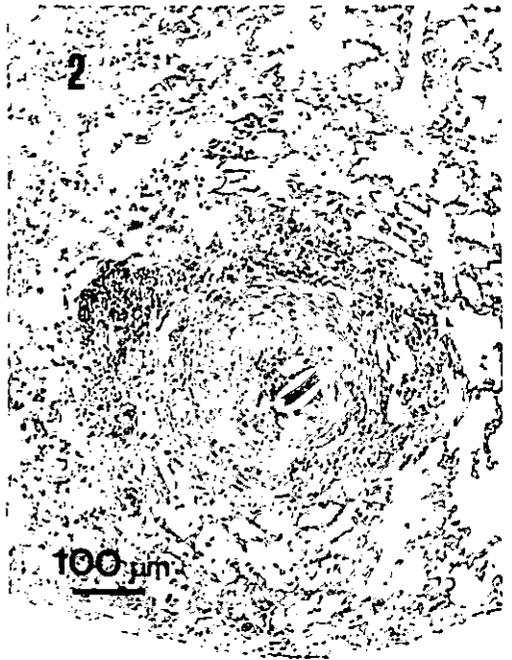
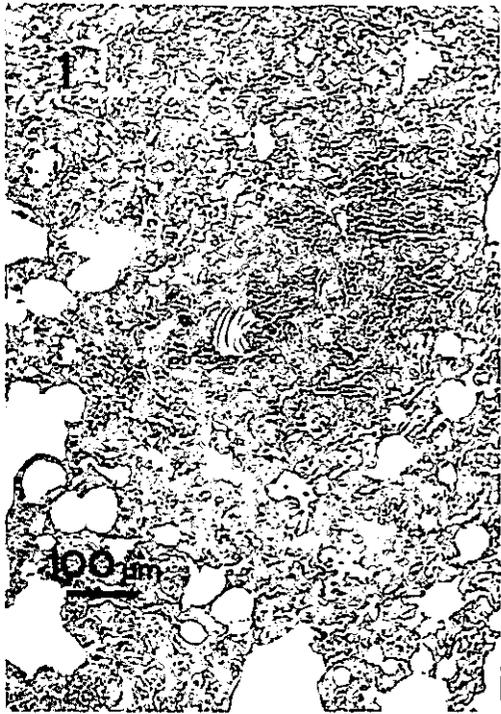
zonas en degeneración las cuales fueron aumentando en número y distribución, siendo estas características menores en los grupos 5C y 6E, en los grupos 7C al 10E se presentaron en mayor cantidad, y en los grupos 11C y 12E la cantidad aumentó confluendo en algunas zonas, ocasionando la presencia de zonas en degeneración de tamaño variable; algunas de las cuales se encontraron asociadas con cortes larvarios (Fotografía 11). Así mismo, se continuaron detectando cortes de larvas sin ningún tipo de respuesta, incluso se llegaron a encontrar cortes de larvas dentro de la luz de un vaso sanguíneo sin respuesta inflamatoria alrededor (Fotografía 12), también se encontraron en las mismas condiciones cortes de larvas en el espacio intercerebelar y en las meninges.

Fotografía 1.- Corte histológico de pulmón de jerbo inoculado con 1000 hltc, tratado con moxidectina a los 2 días p.i. y sacrificado a los 27 días p.i., teñido con H-E. Se observa una zona extensa de neumonía exudativa, con un corte de larva en la parte central.

Fotografía 2.- Corte histológico de pulmón de jerbo inoculado con 1000 hltc, tratado con moxidectina a los 15 días p.i. y sacrificado a los 40 días p.i., teñido con H-E. Se observa un granuloma con una larva atrapada.

Fotografía 3.- Corte histológico de pulmón de jerbo inoculado con 1000 hltc, tratado con moxidectina a los 2 días p.i. y sacrificado a los 27 días p.i., teñido con H-E. Se observa una larva en la luz de un bronquiolo rodeada por un infiltrado de neutrófilos y eosinófilos. En la periferia del bronquiolo se puede observar abundantes neutrófilos y eosinófilos.

Fotografía 4.- Corte histológico de hígado de jerbo inoculado con 1000 hltc, al cual se le aplicó un placebo a los 15 días p.i. y se sacrificó a los 25 días p.i., teñido con H-E. Se observa abundante infiltrado inflamatorio rodeando a una larva.

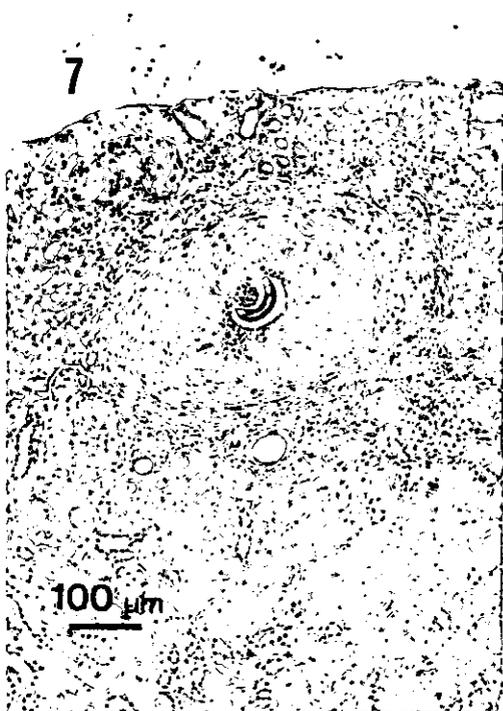
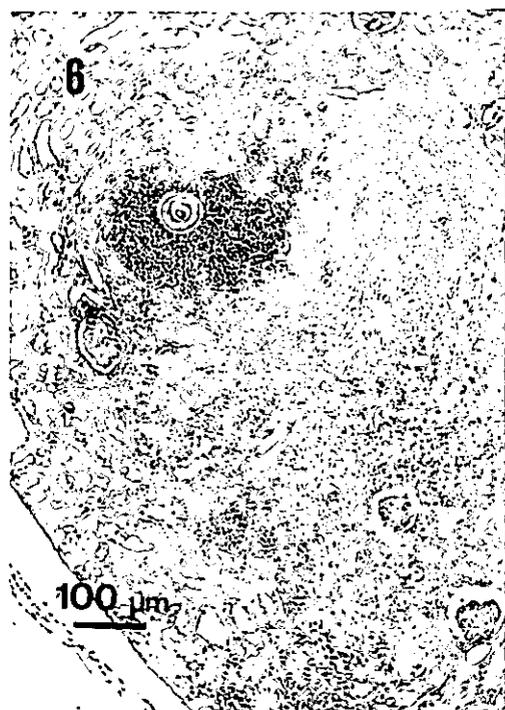
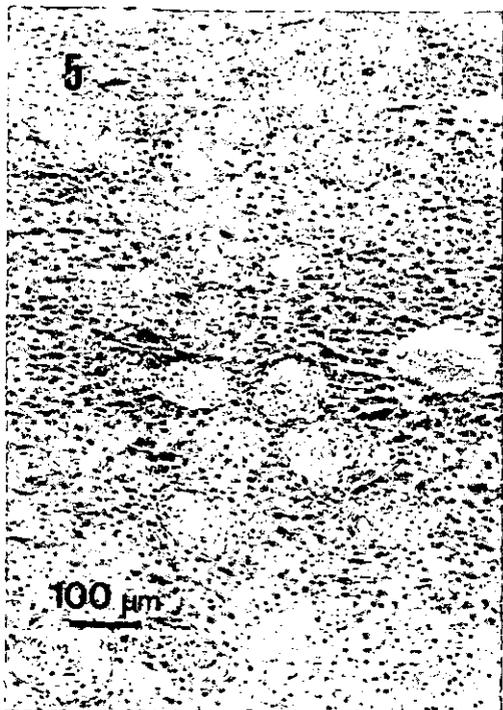


Fotografía 5.- Corte histológico de hígado de jerbo inoculado con 1000 hltc, tratado con moxidectina a los 60 días p.i. y sacrificado a los 85 días p.i., teñido con H-E. Se observan múltiples nódulos de reparación.

Fotografía 6.- Corte histológico de riñón de jerbo inoculado con 1000 hltc, al cual se le aplicó un placebo a los 2 días p.i. y se sacrificó a los 27 días p.i., teñido con H-E. Se observa un granuloma que contiene una larva aparentemente intacta.

Fotografía 7.- Corte histológico de riñón de jerbo inoculado con 1000 hltc, tratado con moxidectina a los 2 días p.i. y sacrificado a los 27 días p.i., teñido con H-E. Se muestra una larva, rodeada por infiltrado inflamatorio.

Fotografía 8.- Corte histológico de riñón de jerbo inoculado con 1000 hltc, tratado con moxidectina a los 2 días p.i. y sacrificado a los a los 27 días p.i., teñido con H-E. Se muestra un granuloma en grasa perirenal conteniendo una larva.

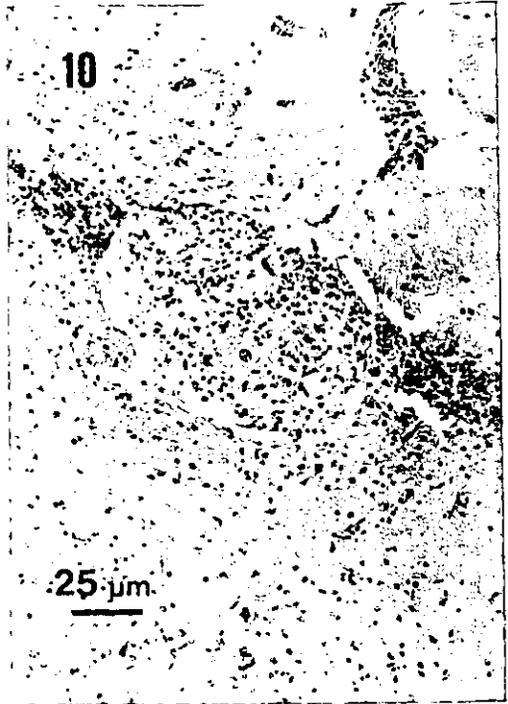
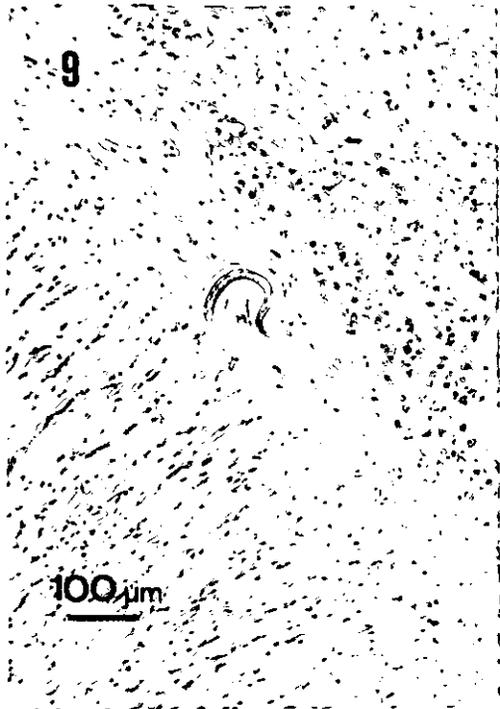


Fotografía 9.- Corte histológico de cerebro de jerbo inoculado con 1000 hltc, tratado con moxidectina a los 2 días p.i. y sacrificado a los 12 días p.i., teñido con H-E. Se observa una larva sin respuesta inflamatoria aparente en su cercanía.

Fotografía 10.- Corte histológico de cerebro de jerbo inoculado con 1000 hltc, al cual se le aplicó un placebo a los 2 días p.i. y se sacrificó a los 27 días p.i., teñido con H-E. Se observa la presencia de un foco de proliferación glial conteniendo en su interior una larva en degeneración, el foco se encuentra interrumpiendo la continuidad de la capa granular del cerebelo.

Fotografía 11.- Corte histológico de cerebro de jerbo inoculado con 1000 hltc, al cual se le aplicó un placebo a los 60 días p.i. y se sacrificó a los 85 días p.i., teñido con H-E. Se observa la presencia de una larva en una zona con degeneración y vacuolización.

Fotografía 12.- Corte histológico de cerebro de jerbo inoculado con 1000 hltc, al cual se le aplicó un placebo a los 15 días p.i. y se sacrificó a los a los 25 días p.i., teñido con H-E. Se observa la presencia de una larva en el interior de un vaso sanguíneo sin respuesta inflamatoria aparente.



DISCUSIÓN

Desde hace tiempo se ha intentado contar con un tratamiento eficaz contra larvas de *T. canis* enquistadas en diferentes órganos de humano y otros hospederos paraténicos, los estudios realizados hasta la fecha no han sido concluyentes, ya que no existe evidencia de que los antihelmínticos utilizados presenten efecto larvicida y que su acción sea deseable, pues solo se han evaluado a través de digestiones artificiales, las cuales dan resultados parciales de la eficacia de un antihelmíntico (Glickman & Shofer, 1987; Faust *et al.*, 1981). Por tal motivo el manejo para el tratamiento de este padecimiento en humanos ha sido realizado primariamente en forma sintomática utilizando antihistamínicos, corticosteroides y broncodilatadores en combinación con algunos antihelmínticos. Por lo anterior sería importante encontrar algún fármaco que presente un efecto positivo y grado de confiabilidad aceptable (Glickman & Shofer, 1987).

Durante el presente trabajo se utilizaron tres periodos de tratamiento, que pueden evaluar diversos estados de la infección por *T. canis*, estos periodos fueron:

- 2 días después de la infección para evaluar el efecto sobre las larvas recién eclosionadas y que empiezan su migración.
- 15 días después de la infección para evaluar el efecto sobre larvas en proceso de enquistamiento.
- 60 días de la infección para evaluar el efecto sobre larvas enquistadas y observar el comportamiento de las lesiones crónicas.

El sacrificio de los animales fue realizado a los 10 y 25 días después de cada tratamiento. Lo anterior con el objeto de tratar de determinar el efecto del fármaco sobre las larvas de *T. canis* y evaluar si se modifican las lesiones producidas por las larvas.

Para evaluar la eficacia de la moxidectina contra larvas de *T. canis*, se utilizaron digestiones artificiales y la observación en el sedimento del número total de larvas, técnica que permite obtener el número tanto de larvas vivas como muertas (Oshima, 1961). Aunque existen otras formas de evaluar fármacos como la digestión artificial con técnica de Baerman que nos permite obtener el número de larvas vivas (Carmona Bautista 1984) ó utilizando frotis por aplastamiento en algunos órganos como en cerebro (Holt *et al.*, 1981), la técnica utilizada en este trabajo permite evaluar el número total de larvas en forma más confiable.

Al comparar; los datos del cuadro 3, correspondiente al número de larvas obtenido tanto de los animales experimentales como de los animales testigo, se puede observar que a pesar de la tendencia de recuperar un menor número de larvas en los animales experimentales que en los animales testigo, dichos resultados no indican una diferencia estadísticamente significativa para el número total de larvas, salvo en los grupos 6E y 10E, ya mencionados en el apartado de resultados. El efecto es notorio ($p < 0.05$) en hígados, riñones y cerebros, donde la reducción de larvas recuperadas es significativa. Este efecto en los órganos puede tener que ver tanto con la dinámica de migración de las larvas, como con la distribución tisular del fármaco.

Por otra parte al determinar la eficacia de la moxidectina, se observó que los porcentajes más altos coincidieron con el número promedio de larvas recobradas a partir de los grupos experimentales, que resultaron tener una diferencia estadísticamente

significativa, en comparación con el número promedio obtenido a partir de los grupos testigo.

Los resultados obtenidos indicaron que la moxidectina presenta una baja eficacia, lo que significa que no actúa en contra de la L2 de *T. canis* aplicada a los 2 días p.i., pero si aplicada a los 15 y 60 días p.i. (grupos 6E y 10E respectivamente) tomando en cuenta los datos obtenidos a los 10 días p.t. Lo que no descarta totalmente la posibilidad de poder utilizar este fármaco como una posible opción para el tratamiento de la LMV y LMO, debido a que a pesar de no mostrar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos sacrificados a los 25 días p.t., a nivel de conteo total, si las presentaron de forma parcial en por lo menos un órgano de los utilizados en el experimento. Esto indica que se requiere de la presencia de las larvas en los órganos para comenzar a dar tratamiento y que los mejores resultados de este, solo se pueden apreciar en por lo menos 10 días después de la aplicación; ya que a los 25 días, la disminución en el número de larvas recobradas no permite establecer una diferencia estadística satisfactoria.

La decadencia y pérdida de efectividad del fármaco al comparar los efectos a los 10 días p.t. (6E y 10E) y 25 días p.t. (8E y 12 E), se explica por la pérdida de biodisponibilidad y sugeriría la necesidad de aplicación de un nuevo tratamiento, a los 20-25 días del primero, para intentar sostener el efecto larvicida. O incluso incrementar la dosis del fármaco en cada aplicación con cuidado de sus límites de tolerancia.

De entre los fármacos potencialmente eficientes para el tratamiento de la toxocariasis humana, el tetramisol, los benzimidazoles (mebendazol, oxfendazol, albendazol y febendazol), además de la piperazina y DEC han sido valorados por estudios controlados (Tongson & Dayrit, 1973; Holt *et al.*, 1981; Magnaval, 1995). De estos

estudios, el de Tongson & Dayrit en 1973 evaluó la efectividad del tetramisol sobre las larvas somáticas de *T. canis* en ratas blancas, encontrando resultados que reportaron como estadísticamente significativos al utilizar una dosis de 10 mg/kg de peso, sin embargo, no mencionan el análisis estadístico utilizado, ni una fórmula para medir la eficacia; Holt et al. en 1981 probaron varios benzimidazoles (mebendazol, oxfendazol, albendazol y febendazol) además de piperazina y DEC, contra la infestación de *T. canis* en ratones; no encontrando resultados significativos con ninguno de los fármacos mencionados, inclusive el número de larvas recobradas de los grupos tratados fue mayor que en el grupo testigo. Por otro lado, Carmona Bautista en 1984, estudió el efecto del nitroscanate a una dosis de 25 mg cada tres días durante 15 días; sobre fases larvarias de *T. canis* obteniendo una eficacia del 78 a 80%, sin embargo, no describe la fórmula utilizada para determinar la eficacia, pero si menciona la utilización de un análisis de varianza como prueba estadística.

La evaluación de las lesiones microscópicas que causó la larva de *T. canis* en diferentes órganos como hígado, pulmón y riñón, de los jerbos utilizados en el experimento, tanto tratados como testigos, mostraron un factor común durante todo el desarrollo del experimento; que fue la presencia tanto de lesiones de tipo agudo como de tipo crónico, presentando en algunos casos una menor distribución y número, tanto en los primeros dos grupos como en los últimos dos, independientemente de que se les hubiera administrado tratamiento o placebo. Las diferencias descritas no indican que la aplicación del tratamiento haya contribuido a mejorar la condición evolutiva de las lesiones causadas por larvas de *T. canis*.

Si bien, el número de larvas no se redujo satisfactoriamente, en alguna medida la observación directa de las lesiones macroscópicas, permitió establecer que fueron menos

intensas en los jerbos de los grupos tratados que en los grupos testigo a excepción del grupo 7C en el que las lesiones fueron más severas que en el grupo 6E, lo cual concuerda con lo observado en las lesiones microscópicas. Esto parece indicar que el tratamiento con moxidectina sí presenta un efecto a nivel larvario paralizándolas y permitiendo que la respuesta inflamatoria montada por el hospedador se establezca directamente sobre la larva, y que en los animales testigo la larva continúe con su migración evadiendo la respuesta inmune, ocasionando una mayor superficie con infiltrado inflamatorio. Sin embargo, a nivel microscópico las diferencias entre los grupos de diferentes periodos de tratamiento y sacrificio, las presentó la evolución normal del padecimiento, lo que ocasionó la desaparición de algunas lesiones como neumonía exudativa, necrosis focal en hígado, disminución en el número de granulomas y abscesos en algunos órganos, y ocasionó la aparición de lesiones como las de degeneración en cerebro.

La mayoría de las lesiones crónicas observadas, se presentaron independientemente de que hubiera larva o no dentro de la lesión; a nivel pulmonar la mayoría de estas lesiones se asociaron a la presencia de huevos de *T. canis*, por problemas de broncoaspiración al momento de la inoculación. Estas lesiones crónicas tendieron a disminuir en cuanto a intensidad y distribución hacia el final del experimento, con la presencia de algunos neutrófilos, eosinófilos y macrófagos en el centro de la lesión rodeados por una capa de fibrocitos y colagena. Probablemente se deba a que las larvas de *T. canis* dejen antígenos en el lugar y estos estimulen la presencia de células de inflamación aguda en una lesión crónica, se han detectado este tipo de lesiones cuando hay un irritante potente o un antígeno resistente a la degradación (Robbins, 1975).

Algunos hallazgos permiten suponer que la migración de *T. canis* a los diferentes órganos se realiza de varias maneras. La primera de estas formas puede ser por vía sanguínea, puesto que se observaron larvas en la luz de vasos sanguíneos. Una segunda vía de migración puede ser la de continuidad, por la pared de vasos sanguíneos, algunos hallazgos histopatológicos como la vasculitis presente en algunos órganos y la presencia de fragmentos larvarios en la serosa de vasos sanguíneos, apoyan esta afirmación. Y una tercera vía de migración puede ser la de continuidad a través de la migración de órgano a órgano, puesto que se observaron granulomas en la cápsula renal y en la grasa perirenal.

Los resultados obtenidos en este trabajo indican la baja eficacia de la moxidectina en la destrucción de larvas de *T. canis*, sin que aparentemente se modifiquen las lesiones microscópicas causadas por las larvas después del tratamiento, por lo que no es recomendable su uso, al menos en una sola aplicación en el tratamiento de la toxocariasis. Sin embargo, es recomendable realizar trabajos con otros fármacos, tratando de encontrar alguno que tenga una mayor efectividad en contra de las larvas de *T. canis*. Así como realizar otros estudios para evaluar la eficacia de la moxidectina utilizando diferentes protocolos: la misma dosis en forma diferida y con varias aplicaciones o aumentar la dosis del medicamento bajo diferentes intervalos.

CONCLUSIONES

- ❖ El tratamiento aplicado a los días 15 y 60 post-inoculación produce una disminución en el número de larvas de *T. canis*, mostrando diferencias estadísticamente significativas en el conteo total de larvas, a los 25 y 70 días post-inoculación respectivamente.
- ❖ El tratamiento aplicado a los días 15 y 60 post-inoculación produce una disminución en el número de larvas de *T. canis*, estadísticamente significativas a nivel de hígado, riñón y ojos, pero no en el conteo total de larvas a los 40 y 85 días post-inoculación.
- ❖ La eficacia de la moxidectina en un solo tratamiento (7.8 al 36.7 %) obtenida en este trabajo, indica que no es recomendable la utilización del fármaco en la toxocariasis humana, o para la eliminación de larvas en perras adultas en por lo menos una sola aplicación.
- ❖ Las lesiones microscópicas observadas en los diferentes grupos experimentales guardaron similitud con las observadas en los grupos testigo, de modo tal que se puede establecer que el tratamiento no ayuda a mejorar la condición evolutiva de las lesiones generadas.
- ❖ En cerebro las larvas tendieron a acumularse y a presentarse sin ningún tipo de respuesta inflamatoria, ocasionando la aparición de zonas de degeneración a partir de los 25 días post-inoculación.

REFERENCIAS

- Abo-shehada, M. N. and Al-zubaidy, B.A. & Herbert, I. V.; The migration of larval *Toxocara canis* in mice I. Migration through intestine in primary infections. Vet. Parasitol. 17 (6): 65-73 (1984-85).
- Abo-shehada, M. N. & Herbert, I. V.: The migration of larval *Toxocara canis* in mice II. postintestinal migración in primary infections. Vet. Parasitol. 17: 75-83 (1984-85).
- Agnihotri, R. K., Bhatia, B. & Kumar, D.: Visceral larva migrans. I. Migratory behaviour in golden hamster and chicken. Ind. J. Ann Sci. 57: 853-855 (1987).
- Alatorre, H. F. L.: Estudio histopatológico de las lesiones causadas por larvas de *Toxocara canis* en ojos de jerbo (*Meriones unguiculatus*). Tesis de licenciatura. FES-Cuautitlan UNAM 1997.
- Alba, H. F.: *Toxocara canis* un problema de salud publica. Av. Med. Vet. Año V Vol. X. 5: 187-191 (1991).
- Alba, H. F.: “ Evaluación de un modelo de toxocariasis ocular y sistémica empleando jerbos (*Meriones unguiculatus*) ”. Tesis de Doctorado Fac. de Med. Vet. y Zoot., FES-Cuautitlan UNAM (1999).
- Alba, H. F.; Tórtora, P. J. L.; Tsutsumi, V. & Ortega Pierres,; M. G.: Histopatological investigation of experimental ocular toxocariasis in gerbils. Int. J. Parasitol. 30 (2): 143-147 (2000)
- Alvarez, I., J.: Eficacia de la ivermectina sobre la larva2 somática de *T. canis*, en ratones artificialmente infectados. Tesis de licenciatura. FES-Cuautitlan UNAM 1987.

Ardon, R., Guillen, J. L. & Aguila, C.: Idiotypic replica of a *Toxocara canis* excretory/secretory antigen epitope. Int. J. Parasitol. 25: 105-111 (1995).

Beaver, Paul C.: The nature of visceral larva migrans. J. Parasitol. 55: 3-12 (1969).

Beaver, P., C., Jung, R. C. & Cupp, E. W.: Clinical parasitology. Lea & Febiger USA. 1986.

Bruňaská, M., Dubinský, P. & Reiterová, K.: *Toxocara canis*: Ultrastructural aspects of larva moulting in the mature eggs. Int. J. Parasitol. 25: 683-690 (1995).

Buijs, J., Egbers, M.W. & Nijkamp, F.P.: *Toxocara canis* induced airway eosinophilia and tracheal hyporeactivity in guinea pigs and mice. Eur. J. Pharmacol. 293 (3): 207-215 (1995).

Carmona B., H. J.: Efecto del nitroscanate en dosis diferidas sobre la L2 de *T. canis* en ratones blancos. Tesis de licenciatura Fac. de Med. Vet. Y Zoot. FES-Cuautitlan UNAM 1984.

Carrillo, M., L.: Evaluación de la eficacia de la dietilcarbamacina en dosis diferida sobre la larva somática de *T. canis* en ratones blancos. Tesis de licenciatura. FES-Cuautitlan UNAM 1985.

Church, E. M., Wyand, D. S. & Lein, D. H.: Experimentally induced cerebrospinal nematodiasis in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). Am. J. Vet. Res. 36 (3): 331-335 (1975).

Dubey, J. P.: Patent *Toxocara canis* infection in ascarid-naive dogs. J. Parasitol. 64 (6): 1021-1023 (1978).

Faust, E. C., Russell, P. F. y Jung, R. C.: Parasitología Clínica. 1ª Edición, SALVAT EDITORES; México, (1981).

Gardner, J. & Besier, B.: Ivermectin and moxidectin worm drenches for sheep. Chief. Agri. West. Austral., 1997.

Glickman, L. T. & Shofer, F. S.: Zoonotic visceral and ocular larva migrans. Vet. Clinics of North Ame. small Anim. Pract. 17 (1): 39-53 (1987).

Georgi, J. R. & Georgi, M. E.: Parasitology for Veterinarians. W. B. SAUNDERS C COMPANY, 1990.

González, L., C.: Efecto del lopotol a diferentes dosis sobre *Larva Migrans Visceral* de *T. canis* en ratones albinos adultos, experimentalmente infectados con huevos infectantes del parásito. Tesis de licenciatura. FES-Cuautitlan UNAM 1983.

Hamilton, L. T., Naylor, J. & Weatherley, N. A.: Glomerular lesions associated with infestation with *Toxocara cati*. Vet. Rec. III: 583-584 (1982).

Holt, P. E. & Klarson, M. J.: Anthelmintic tests on *Toxocara canis* infection in mice. Vet. Rec. 108: 308-309 (1981).

Kayes, S. G. & Oaks, J. A.: Effect of inoculum size and length on infection the distribution of *Toxocara canis* larvae in the mouse. Am. J. of Trop. Med. And Hyg. 25 (4): 572-579 (1976).

Kayes, S. G., Jones, R. E. & Paul, E. O.: Pulmonary granuloma formation in murine toxocariasis: Transfer granulomatous hypersensitivity using bronchoalveolar lavage cells. J. Parasitol. 74 (6): 950-956 (1988).

Lapage, G.: *Parasitología Veterinaria*, 5ª edición. CECSA. México (1981).

Lightner, L., Christensen, B. M. and Beran, G. W.: Epidemiologic findings on canine and feline intestinal nematode infection from the Iowa State University Veterinary Clinic. *JAVMA*. 172 (5): 564567 (1978).

Lloyd, S., Amerasinghe, P. H. and Soulsby, E. J. L.: Periparturient immunosuppression in the bitch and its influence on infection with *Toxocara canis*. *J. small Anim Pract.* 24: 237-247, (1983).

Maizels, R. M., Savigny, D. & Ogilvie, B. M.: Characterization of surface and excretory-secretory antigens of *T. canis* infective larvae. *Parasitol. Immunol.* 6:23-34, (1984).

Magnaval, J. F.: Comparative Efficacy of diethylcarbamazine and mebendazole for treatment of human toxocariasis. *Parasitol.* 110: 520-533, (1995).

Magnaval, J. F., Fabre, R., Charlet, J. P. & De Larrard, B.: Evaluation immunoenzymatic assay detecting specific Anti-Toxocara Immunoglobulin E for diagnosis and posttreatment follow-up of human toxocariasis. *J. Clin. Microb.* 30 (9):2269-2274, (1992).

Magnaval, J. F., Fabre, R., Charlet, J. P. & De Larrard, B.: Application of western blotting procedure for the immunodiagnosis of human toxocariasis. *Parasitol. Res.* 67: 697:702, (1991).

Niedfel, G., Pezzani, B., Minvielle, M. & Basualdo-Farjat, J. A.: Presence of lipids in the secretory/excretory products from *Toxocara canis* . *Vet. Parasitol.*, 51 (1): 155158, (1993).

Oshima, T.: Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations on the normal migration routes of the larvae. *J. parasitol.* 17: 652-656, (1961).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Olson, L. J. & Rose, J. E.: Effect of *Toxocara canis* infection on the ability of white rats to solve maze problems. *Exp. Parasitol.* 19:77-84, (1966).

Page, A. P., Rudin, W., Fluri, E., Blaxter, M. L. & Maizels, R. M.: *Toxocara canis*: A labile antigenic surfacecoat overlaying the epicuticle of infective larvae. *Exp. Parasitol.* 75:72-86, (1992).

Parsons, J. C. and Grieve, R. B.: Effect of egg dosage and genotype on liver trapping in murine larval toxocariasis. *J. Parasitol.* 76 (1): 53-58, (1990).

Parsons, J. C. and Grieve, R. B.: Kinetics of liver trapping of infective larvae in murine toxocariasis. *J. Parasitol.* 76 (4): 529-536, (1990).

Parsons, J. C., Bowman, D. D. and Grieve, R. B.: Tissue localitation of excretory- secretory antigens of larval *Toxocara canis* in acute and chronic murine toxocariasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 35: 974-981, (1986).

Quiroz, R. H.: *Parasitología y enfermedades de los animales domésticos*. 1ª Edición. Edit. LIMUSA, México; (1984).

Robertson, Brain D., Bianco, A. Ted., McKerrow, James H. and Maizels Rick M.: *Toxocara canis*: Proteolytic enzymes secreted by the infective larvae *in vitro*. *Exp. Parasitol.* 69, 30-36 (1989).

Roobins, S.L.: *Patología funcional y estructural*. Ed. Interamericana, México D.F.(1975)

Schantz, O. M.: Toxocariasis in dogs and humans. *Cal. Vet.* 7: 17-18, (1981).

Schantz, O. M., and Stehr-Green, J. K.: Toxocaral larva migrans. *JAVMA* 192 (1): 28:31, (1988).

Schantz, O. M., and Glickman, I. T.: Canine and human toxocariasis: The public health problem and veterinarian's role in prevention. JAVMA. 175 (12): 1270-1273, (1979).

Smith, H. V., Quinn, R., Bruce, R. G. & Girwood, R. W.: Development of the serological response in rabbits infected with *Toxocara canis* and *Toxascaris leonina*. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 67 (1): 89-94, (1983)

Soulsby, E. J. L.: Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ª Edición. Edit. INTERAMERICANA, México; (1988).

Soulsby, E. J. L.: Immune responses in parasitic infections: Immunology, immunopathology and immunoprophylaxis. Vol. I. Nematodos. CRC Press. Inc. USA. (1987).

Stevenson, P. & Jacobs, D. E.: *Toxocara* infections in pigs. The use of indirect fluorescent antibody tests and in vitro larval precipitate test for detecting specific antibodies. J. Parasitol. 51 (2): 149-154 (1977).

Sumano Lopez, H. S. and Ocampo Camberos, L: Farmacología Veterinaria. 2ª Edición. Edit. Mac Graw Hill-Interamericana. México; (1997)

Tomimura, T. Yokota, M. and Hiroaki, T.: Experimental larva migrans in monkeys I. Clinical, hematological and gross pathological observations on monkeys with embryonated eggs of dog ascarid, *Toxocara canis*. Jap. J. vet. Sci., 38: 533-548 (1976).

Tongson, M. S. and Dayrit, A. M.: Effect of tetramizole on the somatic *Toxocara canis* larvae in white rats. Phil. J. Vet. Med., 8: 53-64, (1973).

Wayne, W., Daniel.: Bioestadística. Bases para el análisis de ciencias de la salud. 1ª Edición. Edit. LIMUSA. México 1982.

Worley, G., Green, R. A., Walls, K. W and Ellis, G. S. Jr.: *Toxocara canis* infection: clinical and epidemiological associations with seropositivity in kindergarten children. J. of Infec. Disea., 149 (4): 591-596, (1984).

Yang, G., Keystone, J. S., McIntyre, L. and Spence, H.: *Toxocara* antibodies in veterinary personal. Can. Vet. J. 23:126:128, (1982).

Zyngier, F. R. and Brockbank, A.: Electron microscopy of the lung in experimental *Toxocara canis* infection. Annals of Trop. Med. And Parasitol. 68 (2):229-23, (1974).