



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

EVALUACION DEL TRATAMIENTO CON DOSIS
REPETITIVAS DE UNA ASOCIACION ALBENDAZOL-
IVERMECTINA CONTRA LAS LARVAS ENQUISTADAS DE
Toxocara canis EN RATONES BLANCOS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTAN:

**CLAUDIA ROSALINDA FERNANDEZ ARIAS
CRISTINA GUADALUPE ORTIZ RIVERA**

ASESOR: MVZ JUAN PABLO MARTINEZ LABAT

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

2005

m. 340573



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

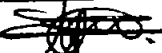
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Fernández Arias

Claudia Rosalinda

FECHA: 03 de Noviembre 2004

FIRMA: 

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Ostiz Rivera

Cristina Guadalupe

FECHA: 03 de Noviembre 2004

FIRMA: Cristina Ostiz

21

EF20PE.m



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

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

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES - CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

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 del tratamiento con dosis repetitivas de una asociación
albendazol-ivermectina contra las larvas enquistadas de Toxocara canis
en ratones blancos.

que presenta la pasante: Claudia Rosalinda Fernández Arias
con número de cuenta: 9854451- 4 para obtener el título de :
Médica Veterinaria 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 30 de Septiembre de 2004

PRESIDENTE	M.C. José Gabriel Ruiz Cervantes	
VOCAL	MZ. Juan Pablo Martínez Labat	
SECRETARIO	MZ. Gloria Josefina Ortiz Gasca	
PRIMER SUPLENTE	MZ. Ismael Hernández Mauricio	
SEGUNDO SUPLENTE	MZ. Gabriela Fuentes Cervantes	



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

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

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. S. S.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES - CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

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

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

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

Evaluación del tratamiento con dosis repetitivas de una asociación
albendazol-ivermectina contra las larvas enquistadas de Toxocara canis
en ratones blancos.

que presenta la pasante: Cristina Guadalupe Ortiz Rivera
con número de cuenta: 9215064- 7 para obtener el título de :
Médica Veterinaria 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 30 de Septiembre de 2004

PRESIDENTE	M.C. José Gabriel Ruiz Cervantes	
VOCAL	MZ. Juan Pablo Martínez Labat	
SECRETARIO	MZ. Gloria Josefina Ortiz Gasca	
PRIMER SUPLENTE	MZ. Ismael Hernández Mauricio	
SEGUNDO SUPLENTE	MZ. Gabriela Fuentes Cervantes	

AGRADECIMIENTOS CLAUDIA

A mis papás:

Gracias por estar siempre a mi lado, dándome todo su apoyo y sobre todo su amor. Son la razón para que yo siga adelante. Este logro es para que se sientan orgullosos de mí, son los mejores. Los Amo.

A Gonzalo:

No tengo palabras para agradecerte todo el apoyo que me diste para terminar esta tesis, gracias por darme la fuerza y no dejar que me rindiera. Je t'ai tant cherché mai finalement, Je t'ai trouvé. Je voudrais être avec toi toute l'éternité.
Je t'aime.

A mi familia canina:

Rocky, Jacky, Max, Brandon y Dylan, porque ellos me alentaron a estudiar esta carrera y así poder darles una mejor calidad de vida; a ellos y a los que se crucen en mi camino.

A mis amigos y compañeros:

Por ser parte de cada momento de mi vida, sin ustedes no estaría completa. De cada uno guardo lo mejor. (Mollito, Daniel, Rubén T., Heriberto, Rubén C., Illich, Luis, Oscar, Dr. Oscar Pérez, Dra. Medory Ortega y Dra. Verónica Estrada)

A mi hermana:

Porque en todo lo que estubo a tu alcance me ayudaste. Me ayudaste a ser una mejor hermana y ahora una mejor tía, gracias por ese angelito que viene en camino.
Te Quiero Nanis.

A mi familia:

A todos mil gracias porque directa o indirectamente siempre me ayudaron: Abues, Grandma, Fam. Fdez Martínez, Fam. Fdez. Acordagoytia, Fam. Arias González, Fam Fdez. Téllez.
En especial a la Fam. Nasta sin ustedes esto no hubiera sido posible.

A Cristina:

Por no desesperarse y lograr terminar esta tesis. Aunque al final no fue como pensábamos, durante la carrera vivimos cosas inolvidables y eso nadie nos lo puede quitar. Gracias por estar conmigo hasta el final.
¡¡Suerte!!

Al Prof. Pablo Martínez:

Por darme la oportunidad de conocerlo y tener la paciencia de trabajar conmigo.

A la FES y a los profesores:

Por hacerme una mejor persona.

En especial a mi tía Martha:

Toda tu vida estuviste junto a mí ayudándome en todos mis problemas. Daría lo que fuera porque estuvieras en estos momentos conmigo, pero yo sé que aunque ya no estas físicamente, estas detrás de mí en cada instante.
Este logro esta dedicado a ti.

Agradecimientos

Cristina

Señor: En silencio me has acompañado a lo largo de mi vida y hoy me regalas la alegría de ver realizado uno más de mis sueños, guarda mi corazón cerca de ti y guíame día con día en el camino que lleva hacia ti.

Mi familia: Gracias por el esfuerzo y sacrificio que me han permitido realizar mi sueño.

Daniel, Mauricio y Ricardo: Ustedes son el mayor motivo para impulsar mi carrera.

Profesor Pablo Martínez: Le agradezco infinitamente su paciencia, apoyo y comprensión.

Marianita y David: Muchísimas gracias por estar a mi lado.

Claudia: Amiguita gracias por compartir y realizar nuestro sueño.

Índice

Página

Resumen.....	1
1. Introducción.....	3
2. Epidemiología de la toxocariosis.....	4
3. Morfología.....	9
4. Ciclo biológico.....	11
a) Resistencia por edad	
b) Infestaciones patentes en los perros adultos	
c) Migración somática	
d) Migración trasplacentaria	
e) Transmisión transmamaria	
f) Transmisión a través de hospederos paraténicos	
5. Patogenia.....	20
6. Respuesta del hospedador.....	23
7. Manifestaciones del síndrome larva migrans en humanos.....	24
8. Diagnóstico.....	25
9. Prevención y control.....	26
10. Tratamiento.....	26
11. Antihelmínticos utilizados.....	29
Ivermectina	
Albendazol	
12. Objetivos.....	36
13. Materiales y Métodos.....	37
Material biológico	
Reactivos	
Material de laboratorio	
Método	
14. Resultados.....	40
15. Discusión.....	50
16. Conclusión.....	54
17. Bibliografía.....	55
Anexo 1.....	60

Índice de tablas

	Página
1. Frecuencia de la toxocarosis en perros en diversas localidades de México	6
2. Seroprevalencia de anticuerpos hacia <i>Toxocara canis</i>	8
3. Calendario de sacrificio	39
4. Larvas de <i>Toxocara canis</i> en el grupo inoculado no tratado recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.....	40
5. Larvas de <i>Toxocara canis</i> en el grupo de ratones que recibió un solo tratamiento de la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.....	42
6. Larvas de <i>Toxocara canis</i> en el grupo de ratones que recibieron dos tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.....	43
7. Larvas de <i>Toxocara canis</i> en el grupo de ratones sometidos a tres tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.....	43
8. Larvas de <i>Toxocara canis</i> del grupo de ratones sometidos a cuatro tratamientos con la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.....	44
9. Porcentajes de eficacia por tratamiento en parasitismo total, músculo y cerebro con respecto al grupo control.....	45

Índice de figuras

	Página
1. Fotografía de gusanos adultos hembra y macho de <i>Toxocara canis</i>	9
2. Fotografía de una larva de <i>Toxocara canis</i>	10
3. Fotografía de huevo no larvado y larvado de <i>Toxocara canis</i>	10
4. Larvas de <i>Toxocara canis</i> (L2) eclosionando del huevo.....	11
5. Fotografía de un gusano de <i>Toxocara canis</i> en intestino delgado de perro.....	12
6. Ciclo biológico de <i>Toxocara canis</i>	19
7. Fotografía de un perro con distensión del abdomen	21
8. Estructura química de las lactonas macrocíclicas	30
9. Estructura de la ivermectina	32
10. Estructura química del albendazol	35

Índice de gráficas

	Página
1. Comparación del número de larvas recuperadas de los ratones inoculados con huevos larvados de <i>Toxocara canis</i> con los diferentes esquemas de tratamiento a base de albendazol-ivermectina.....	45
2. Comparación de la efectividad global de los medicamentos en los diferentes lotes de ratones inoculados con larvas de <i>Toxocara canis</i> sometidos a uno, dos, tres y cuatro tratamientos.....	46
3. Comparación entre la aplicación de diferente número de tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina contra larvas totales de <i>Toxocara canis</i> recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.....	47
4. Comparación del número de tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina contra larvas recuperadas de <i>Toxocara canis</i> en cerebro con el proceso de digestión artificial.....	48
5. Comparación del número de tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina contra larvas recuperadas de <i>Toxocara canis</i> en músculo esquelético con el proceso de digestión artificial.....	49

RESUMEN

Con este trabajo se buscó encontrar una mejor alternativa para la eliminación de larvas enquistadas de *Toxocara canis* utilizando un modelo de ratones, para transpolar su aplicación a perras gestantes, a hospederos paraténicos incluyendo los humanos. Se enfocó la búsqueda a un esquema de tratamiento, utilizando la asociación albendazol-ivermectina para el control de fases larvarias, ya que es un parásito común en los perros y causa de zoonosis, tomando en cuenta la cercana relación que se da entre los seres humanos y los perros.

Se usaron 60 ratones blancos cepa CD1 machos. Se formaron 6 grupos de 10 ratones (escogidos al azar) cada uno. Un grupo se utilizó como testigo, el cual no se inoculó con huevos, pero se le aplicó el diluyente. Un segundo grupo fue testigo al cual se le inocularon 500 huevos larvados de *Toxocara canis* y no se le aplicó tratamiento. Estos grupos se sacrificaron a los 30 días posteriores a la inoculación.

Los cuatro grupos restantes fueron inoculados con 500 huevos larvados de *Toxocara canis* por vía oral con una sonda tipo Foley para alimentación de lactantes. Al mes postinfección fueron tratados con ivermectina-albendazol, a una dosis de 200 mcg kg⁻¹ y 5 mg kg⁻¹ respectivamente, administrándolo mensualmente durante cuatro meses.

Se sacrificó un lote cada 30 días, y al realizar la necropsia de los ratones se obtuvo: el cerebro, los pulmones, los riñones, 1 g de músculo esquelético del miembro pélvico derecho que se multiplicó con el total de la carcaza y el hígado. Estos órganos se pusieron en digestión artificial durante 48 horas. La eficacia del tratamiento se determinó en base a la recuperación de larvas en cada uno de los órganos, mediante el conteo microscópico de estas.

Los resultados obtenidos muestran que con cuatro tratamientos mensuales de la asociación albendazol-ivermectina, obtenemos un 91.35% de efectividad. En cuanto a cerebro se obtuvo un 80.08% de eficacia y en músculo esquelético un 98.47%.

Estos resultados se sometieron a un tratamiento estadístico de análisis de varianza, ($\alpha = 0.05$) en donde en el parasitismo total se obtuvo una F calculada de 6.0568, en el caso de cerebro 1.8097 y para músculo esquelético 3.5865, por lo tanto la eliminación de larvas solo es significativa en el parasitismo total y músculo esquelético, no siendo así para cerebro que estadísticamente no fue significativo.

Lo que se concluye en este trabajo es que esta asociación de medicamentos resulta efectiva, pero tomando en cuenta que en cerebro no se obtuvo el resultado deseado, se propone cambiar el protocolo de aplicación del albendazol, para así lograr una efectividad superior a la obtenida.

1. INTRODUCCIÓN

Toxocara canis es un nematodo parásito, el cual se encuentra en el intestino delgado de perros, gatos y otros carnívoros. (Quiroz, 2002)

Pertenece a la familia Toxocaridae, superfamilia Ascaridoidea, orden Ascaridida. Las larvas juegan un papel más importante que los parásitos adultos en la enfermedad, aunque en términos generales son parásitos de no muy elevada patogenicidad, pero el parasitismo crónico tiene muy grave efecto a largo plazo. (Maizels y col. 2000)

Otras especies del género incluyen a: *Toxocara vitulorum* (bóvidos) y *Toxocara pteropodis* (murciélagos). Un género asociado es *Toxascaris leonina*, el cual puede infestar al perro o al gato a nivel intestinal exclusivamente presentando algunas semejanzas morfológicas. (Maizels y col. 2000)

Dada la importancia de este parásito en los perros como en sus dueños el siguiente estudio pretendió buscar alternativas en el tratamiento, los cuales se enfocan principalmente en la eliminación de formas larvarias. Los tratamientos actuales describen el uso de bencimidazoles como agentes de primera elección con resultados variables además del uso reciente de las lactonas macrocíclicas como una nueva alternativa de tratamiento para este tipo de infestaciones (ej. avermectinas).

Actualmente se usan combinaciones de medicamentos en el tratamiento de las parasitosis. Por ejemplo, el uso de la ivermectina más pirantel para el tratamiento de la dirofilariasis. Por lo que en este trabajo siguiendo el concepto anterior, se evaluó la actividad de la ivermectina asociada con albendazol como terapia para la eliminación de larvas de *Toxocara canis* en un modelo de ratones blancos.

2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA TOXOCARIOSIS

La toxocariosis es una de las más importantes enfermedades parasitarias de perros y otros cánidos. Su distribución geográfica es cosmopolita con alta incidencia, patogenicidad e importancia como problema de salud pública (Quiroz, 2002). Esta reportado que en Europa del Oeste los rangos de infestación varían del 3.5% al 17% y en Estados Unidos es del 2% al 79%. La prevalencia de la infestación por fases adultas de *Toxocara canis* es alta en perros jóvenes y mucho menos en animales adultos. (Overgaauw, 1997a)

Fernández y Canto, 2002 en Querétaro encontraron una frecuencia de nematodos del 64.60% y de cestodos del 58.20% en perros sin dueño, los géneros y especies más encontrados de nematodos fueron *Ancylostoma caninum* (55.22%), *Toxocara canis* (13.93%) y *Toxascaris leonina* (11.91%). Rodríguez-Vivas y col. 2001 en Yucatán encontraron resultados similares *Ancylostoma sp.* 37.36%, *Toxocara sp.* 7.75% y *Toxascaris leonina* 1.51%.

El comportamiento del parásito incluye no solamente la llamada migración traqueal, que se realiza en perros susceptibles, sino también una interesante variación en la migración en hospederos parcialmente susceptibles, esta migración es somática, con larvas en varios tejidos, migrando y en hipobiosis, y con acumulación por periodos prolongados, que dan origen a la infestación prenatal (trasplacentaria) y poscalostrál (lactogénica) que amplifica la transmisión de esta parasitosis. (Quiroz, 2002)

La fuente de infestación son los perros y otros carnívoros que contaminan con sus heces el suelo, los huevos contaminan el alimento de los propios cánidos, de una serie de hospederos paraténicos, incluyendo al hombre, que sufren la infestación y el desarrollo larvario a cualquier edad denominado larva migrans. (Quiroz, 2002)

La prevalencia de *Toxocara canis* en los perros es muy alta debido, sobre todo, a la eficacia de la transmisión prenatal, por lo que la mayoría de los cachorros recién nacidos tendrán *Toxocara canis*. Numerosos estudios arrojan una positividad desde el 5% hasta más del 80% en los resultados; los cuales dependen de la edad,

procedencia de los animales, condiciones higiénico-sanitarias e incluso de las diferencias en los procedimientos de diagnóstico. (Cordero del Campillo y col. 1999)

Los perros mayores de seis meses suelen tener menos toxocaras adultos en el intestino que los cachorros, en los que son muy frecuentes, particularmente en criaderos cuyas condiciones favorecen la contaminación ambiental con huevos del parásito. (Maizels, 1999)

Las hembras de *Toxocara canis* son muy prolíficas ya que liberan hasta 200,000 huevos por día, de modo que en los estudios coprológicos de cachorros son habituales las eliminaciones de varios miles de huevos por gramo de heces, los cuales resisten bien las condiciones del medio y muchos desinfectantes de uso común. Las condiciones medio ambientales, especialmente la temperatura, humedad y tensión del oxígeno, influyen en el desarrollo de las larvas infestantes que puede durar 2-5 semanas, a 26-30°C, e inmersos en agua. (Cordero del Campillo y col. 1999)

Ocasionalmente intervienen hospedadores paraténicos (roedores, aves, etc.) en los que se encuentra con cierta frecuencia larvas tisulares, lo que presenta otra posibilidad de infestación para el perro. Los huevos de *Toxocara canis* pueden ser ingeridos por una variedad de hospederos paraténicos como gusanos de tierra, ratas, ratones, palomas, pollos, borregos, ovejas, cerdos, tortugas y muy significativamente los humanos. La infestación humana ha sido clásicamente asociada a la geofagia, pero la ingestión de huevos puede ocurrir mediante manos con heces contaminadas, por comer vegetales y productos animales crudos contaminados. (Cordero del Campillo y col. 1999; Parsons y col. 1989; Gillespie y Pearson, 2001)

En México, algunos autores han determinado la presencia y frecuencia de esta enfermedad. (Tabla 1)

Tabla 1. Frecuencia de la toxocariosis en perros en diversas localidades de México

Autor	Año	Muestras fecales	% positivos	Ciudad
Franyutti	1970	300	9.6	Veracruz, Ver.
Sosa	1971	200	13.5	Córdoba, Ver.
Garza	1972	100 necrop.	5	Monterrey, N.L.
De la Mora	1973	450	16.2 (zona urbana) 16 (suburbana) 8 (rural)	Jalisco
Hinojosa	1973	50	30	Tamaulipas
Vargas	1974	719	15	Cuernavaca
Mejía	1973	979	28	Sureste Cd. México
Castillo	1969	50	20	—
Flores	1955	100 necrop.	30	Cd. México

(Quiroz, 2002)

— En el texto no se menciona la ciudad.

Nota: En el estudio no se menciona la edad ni el estado de los perros, por lo que los resultados tan bajos puedan deberse a que el estudio se hizo en base al conteo de huevos en las heces.

La incidencia mundial de *Toxocara canis* muestra que la frecuencia es del 96-100% en cachorros y del 3-81% en perros adultos. (Havasiová-Reiterová y col. 1995)

La tendencia de algunos niños de comer tierra (pica) es el factor principal de riesgo de la infestación. La compulsión de comer tierra por un desorden conductual puede afectar del 2-10% de los niños de entre los 1-6 años de edad. La pica geofágica esta frecuentemente asociada con deficiencias de hierro o zinc. Alrededor del 40% de los pacientes con complicaciones oculares relacionadas con éste parásito mostraron una historia clínica de pica. (Overgaauw, 1997b)

Martínez y col. en 1997 realizaron un estudio en la Ciudad de México, para detectar antígenos de *Toxocara canis* en niños de 6 a 13 años, obtuvieron que el 7.5% del total de sueros fue positivo con títulos 1:32 o mayor. El 64.3% correspondieron a niños y el 35.7% a niñas. El mayor número de sueros positivos se presentó en niños de 7 y 9 años de edad.

La toxocariosis humana, conocida como el síndrome de larva migrans, es un serio problema epidemiológico en muchos países. Se han descrito tres formas clínicas de la toxocariosis, larva migrans visceral (LMV), larva migrans ocular (LMO) y toxocariosis encubierta. El hombre actúa como hospedero terminal en donde la larva de *Toxocara canis* no continuará con su desarrollo, pero migrará y sobrevivirá por mucho tiempo (Overgaauw, 1997b). Esta enfermedad es predominante en los niños. Los varones son infestados mas a menudo que las mujeres (a razón de 1.5:1); esto refleja una gran probabilidad de infestación asociada al comportamiento en los niños. La enfermedad ocular es más común entre los 5 y 12 años de edad. La enfermedad visceral puede desarrollarse a todas edades, pero es más probable que ocurra en niños menores de 5 años de edad. (Gillespie, 1987)

Las personas que habitan en ambientes contaminados con huevos de *Toxocara spp.* también están expuestos a un gran riesgo de infestación. La seroprevalencia en poblaciones humanas ha sido estimada entre el 2 al 19% en adultos y del 5 al 23% en niños, siendo especialmente relevantes los valores del 86% en Santa Lucía, 83% en el Caribe, 39% en Brasil y 81% en Nepal (Tabla 2). (Havaslová-Reiterová y col. 1995; Gillespie, 1987; Overgaauw, 1997b; Tolan y col. 2001)

Tabla 2. Seroprevalencia de anticuerpos hacia *Toxocara canis*

Área	Muestra de la Población	Seroprevalencia	Referencia
Bedford, Ing.	Niños	14.6%	Josheps DS.
Londres	Sangre de adultos donadores	2.6%	De Savigny DH.
Australia	Sangre de adultos donadores	7%	Nicholas WL.
St. Lucia	Niños	86%	Thompson DE.
Suecia	Adolescentes	7%	Ljungstrom I.
Venezuela	Clase media	1.8%	Lynch NR.
Venezuela	Clase baja	20%	Lynch NR.
Venezuela	Granjeros	25.6%	Lynch NR.
Venezuela	Indios amazónicos	34.9%	Lynch NR.
EUA	niños	4.6-7.3%	Hermann N.
Alemania	niños	2.5%	Lamina J.
El Caribe	niños	83%	Thompson DE.
Países bajos	niños	19%	Tolan R.
Brasil	niños	39%	<i>Idem.</i>
Rep. Checa	niños	5.8-36%	<i>Idem.</i>
España	niños	0-37%	<i>Idem.</i>
Cuba	niños	5.2%	<i>Idem.</i>
Jordania	niños	1.09%	<i>Idem.</i>
Colombia	niños	47.5%	<i>Idem.</i>
Nepal	niños	81%	<i>Idem.</i>
Rep. Eslov.	niños	13%	<i>Idem.</i>

(Tolan y col. 2001; Gillespie, 1993; Overgaauw, 1997c)

Aunque hay casos reportados de muertes repentinas debido a la infestación por *Toxocara canis*, la muerte es muy inusual. La principal alteración es la disminución de la agudeza visual. Algunas evidencias sugieren que la toxocariosis puede ser uno de los factores causantes de asma y su persistencia puede afectar la calidad de vida, esto asociado con el síndrome de fatiga crónica. (Tolan y col. 2001)

3. MORFOLOGÍA

Los adultos (Figura 1) machos de *Toxocara canis* miden de 4 a 10 cm. por 2 a 2.5 mm. de diámetro y las hembras de 5-18 cm de largo por 2.5 a 3 mm. de diámetro. Presentan 3 labios, en el extremo anterior, poseen alas cervicales que les dan aspecto de punta de flecha. En el extremo posterior del macho se observan de 20 a 30 papilas preanales, 5 postanales y un estrechamiento terminal en forma de apéndice. (Cordero del Campillo y col. 1999)

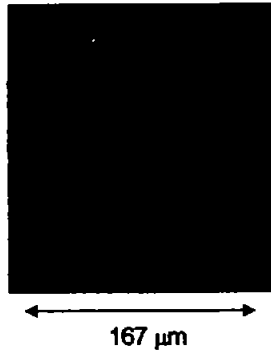
La larva dos (L2) de *Toxocara canis* mide aproximadamente 500 micrómetros (μm) de longitud por 20 μm de ancho, con motilidad activa y algunas características morfológicas que comparte con las formas adultas. (Figura 2) (Flores, 1992)

Figura 1. Fotografía de gusanos adultos hembra y macho de *Toxocara canis*



(University of Wisconsin-Madison)

Figura 2. Fotografía de una larva de *Toxocara canis*.



(Thienpont y col, 1979)

Los huevos son subesféricos (Figura 3) con una cubierta gruesa, finamente granulada y miden de 85 a 95 µm por 75 a 90 µm. La cáscara del huevo presenta varias capas, la externa albuminosa, otras tres quitinosas, otra fibrilar e internamente la capa lipoidea, la cual proporciona una fuerte resistencia frente a las agresiones del medio exterior, en cualquier fase del desarrollo. Toleran perfectamente el frío y en condiciones óptimas de humedad y temperatura pueden conservar su vitalidad durante meses. (Flores, 1992)

Figura 3. Fotografía de huevo no larvado (izquierda) y larvado (derecha) de *Toxocara canis*



90 µm

(Thienpont y col, 1979)



45 µm

(Jiménez, 2001)

4. CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico de *Toxocara canis* es complejo (Figura 6), con cuatro posibilidades de transmisión: directa, mediante la ingestión de huevos embrionados; placentaria o congénita; lactogénica, por la leche materna y a través de la ingestión de hospedadores paraténicos. (Cordero del Campillo y col. 1999)

El ciclo biológico de *Toxocara canis* empieza cuando en las heces salen los huevos del parásito y se dispersan; en donde, si las condiciones de temperatura y humedad son óptimas, se desarrollan la segunda larva (infestante) dentro del huevo. Los perros se infestan por ingestión de huevos con la L2; ésta eclosiona en el intestino (Figura 4) y penetra la pared intestinal; la subsecuente migración está determinada por edad, sexo, estado reproductivo e infestaciones previas. En los cachorros menores de tres meses, las larvas pasan por vía linfática o sanguínea a los ganglios linfáticos o al hígado, donde continúan su migración al corazón y pulmones, la mayoría de las larvas pasan por los bronquios, tráquea, faringe y aquí son deglutidas. La muda para el tercer estado larvario es en el pulmón, tráquea y esófago. En el intestino delgado (Figura 5) se realiza la siguiente muda, que da lugar a la cuarta larva, crece y cópula y 4-5 semanas después los huevos salen en las heces. (Quiroz, 2002)

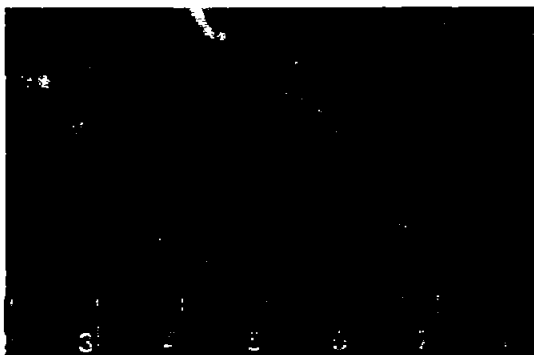
Figura 4. Larvas de *Toxocara canis* (L2) eclosionando del huevo



(Jiménez, 2001)

Algunas larvas cuando están en el pulmón regresan al corazón por la vena pulmonar y luego son distribuidas por la sangre en varios tejidos, donde permanecen en estado latente. En los perros adultos, la mayoría de las larvas no llegan al intestino, sino que pasan a la circulación general y permanecen en diferentes tejidos. Ahora bien, cuando una perra con larvas tisulares inicia una gestación, las larvas emigran hacia la placenta y se produce la infestación fetal. Los cachorros infestados por vía trasplacentaria, después de dos o tres semanas del nacimiento eliminan huevos del parásito en las heces. (Quiroz, 2002)

Figura 5. Fotografía de un gusano de *Toxocara canis* en intestino delgado de perro



(Figuroa y col. 2002)

En hospederos muridos la larva migra rápido después de una inoculación oral de huevos infestantes, encontrándose un pico máximo en número de larvas dentro del lumen del intestino a las 4-6 horas. Las larvas entonces penetran rápidamente a todas las partes de la pared intestinal, especialmente en el fleon, después acceden a los linfáticos aferentes y a las venas portales y migran hacia hígado dispersándose por todo el cuerpo. (Parsons y Grieve, 1990)

Si huevos de *Toxocara canis* son ingeridos por hospederos no cánidos (por ejemplo humanos), las larvas penetran al epitelio mucosal pero tiempo después quedan en una fase de desarrollo restringido en el tejido. No obstante las larvas no

muestran un desarrollo o diferenciación morfológica y no pueden completar su ciclo de desarrollo, pero mantienen un metabolismo activo mostrando un comportamiento migratorio regularmente hacia músculo y tejido nervioso. Sus recorridos por todo el cuerpo en esta fase nos dan el estado clínico de larva migrans visceral y larva migrans ocular. (Maizels y col. 2000)

a) RESISTENCIA POR EDAD

Cuando un cachorro ha cumplido de 1 a 2 meses de edad, la probabilidad de que una nueva larva de *Toxocara canis* eclosiona y se desarrolle hacia ascárido adulto es muy baja, mientras que la tendencia a la migración somática progresivamente se incrementa. La falla en producir infestaciones patentes en perros adultos es llamada resistencia por edad, lo cual no es "todo o nada" en la naturaleza, pero un decremento gradual en el grado de recuperación de los ascáridos adultos se observa mientras que la edad del perro avanza. El mecanismo de resistencia en perros adultos opera parcialmente dentro de los pulmones, tal vez como una respuesta de hipersensibilidad de tipo retardada. (Glickman y col. 1981)

El desarrollo de la inmunidad se ha mostrado en ratones infestados con huevos embrionados de *Toxocara canis* y se describe como una inmunosupresión después de una infestación con *Toxocara canis*, mientras que 2 ó 3 infestaciones parecen generar inmunoprotección. (Conception y Barriga, 1995)

Para determinar el origen de la respuesta inmune, ratones libres de parásitos fueron inyectados con linfocitos, suero o ambos, provenientes de ratones infestados con *Toxocara canis* en los días 1 y 100. Los ratones control recibieron el mismo material pero de ratones libres de parásitos. La comparación en las cuentas de las larvas después de la infestación experimental presentó una reducción significativa en su número en hígado y los pulmones después de la transferencia de células, mientras que la transferencia de suero redujo el número de parásitos en el cerebro y la carcaza. La combinación de suero y linfocitos mostró una acción sinérgica en los pulmones y el cerebro, pero una actividad antagonista en el hígado y la carcaza. (Barriga, 1988)

La razón del porque la inmunidad del hospedero no elimina a todos los parásitos de los tejidos, aun no se entiende: dos mecanismos de evasión de la inmunidad del hospedero por el estado larvario han sido sugeridos. Uno es la hipobiosis de las larvas en el tejido que presumiblemente reduce la producción de antígenos que inducen protección, los cuales rodean al parásito haciéndolo menos susceptible a la interferencia con el metabolismo del hospedero. El otro es inmunosupresión por interferencia con la función de células T colaboradoras (Th) las cuales inhiben la respuesta de los antígenos protectores del parásito y la producción de anticuerpos específicos hacia esos antígenos. (Barriga, 1988)

Algunos autores formularon la hipótesis de que el efecto de inmunosupresión en la gestación y lactación puede permitir a la larva tisular o a la larva de una nueva infestación llevar a cabo una migración por tráquea y subsecuentemente un desarrollo intestinal. En general, nuevas infestaciones en perras lactantes podrían ocurrir también por la ingestión de larvas IV inmaduras provenientes del vómito o heces de los cachorros. Las larvas pueden desarrollarse hacia adultos sin una migración por tráquea; esto podría también ser la explicación por la que se encuentran huevos producidos por gusanos de *Toxocara canis* en el intestino. (Barriga, 1988)

El hallazgo de huevos de *Toxocara canis* en las heces de la perra una semana después del parto y antes de la detección de huevos en las heces de sus cachorros, nos conduce a pensar en la hipótesis de la migración por tráquea de las larvas somáticas activadas de la perra. Además, estas perras fueron experimentalmente infestadas durante la gestación con 10,000 huevos, que representan una muy alta dosis, los cuales pueden causar la inmunosupresión o simplemente llevar a la resistencia. (Overgaauw, 1997b)

b) INFESTACIONES PATENTES EN LOS PERROS ADULTOS

Aunque la prevalencia de *Toxocara canis* es más alta en perros jóvenes, una cierta proporción de perros adultos puede ser infestada. (Sprent, 1958)

Los gusanos adultos de *Toxocara canis* se presentan como resultado de una respuesta inmune suprimida, la ingestión de bajas cantidades de huevos infestantes,

o seguido de la ingestión de hospederos paraténicos infestados. (Dubey, 1978; Warren, 1969)

Los perros adultos altamente susceptibles también pueden presentar gusanos adultos de *Toxocara canis*, aún con exposición repetida a los huevos y desarrollo de anticuerpos. Esto puede estar relacionado a ciertas razas, (ejemplo Grey-hounds), además del tamaño de dosis de huevos de *Toxocara canis*. (Maizels y Meghji, 1984)

c) MIGRACION SOMATICA

Los perros adultos pueden ser infestados por la ingestión de huevos larvados de *Toxocara canis* del ambiente, principalmente del suelo contaminado. La larvas eclosionan en el intestino y penetran la mucosa intestinal. La migración ocurre tanto vía linfática y sanguínea o activamente por la penetración de los tejidos y la invasión en todas partes del cuerpo. (Sprent, 1958)

Gradualmente las larvas somáticas se acumulan en los tejidos (migración somática) persistiendo por largos periodos de una manera similar a la que se observa en hospederos paraténicos. La larva de *Toxocara cati* prefiere migrar hacia los músculos, mientras que la larva de *Toxocara canis* se encuentra mas a menudo en el sistema nervioso central. (Sprent, 1958; Schön y Stoyke, 1986)

El tiempo de vaciamiento del tracto gastrointestinal aparece como uno de los más importantes factores. Si los huevos permanecen largo tiempo en el intestino, por ejemplo, con el estómago lleno, eclosionarán del 15 al 20% más de los huevos que normalmente eclosionan. (Oshima, 1961)

d) MIGRACIÓN TRASPLACENTARIA

Algunos estudios han mostrado que cerca del 100% de los cachorros son infestados *in útero* por el día 42 de la gestación por la larva somática, esto es llamado migración trasplacentaria o infestación intrauterina el cual es el modo de transmisión más importante en los perros; el 98.5% de las larvas están activadas. En los gatos, la

infestación prenatal vía placentaria no ocurre. (Scothorn y col. 1965; Lloyd, 1983; Burke y Roberson, 1985; Sprent, 1958)

La larva en perras gestantes es reactivada por uno o más factores desconocidos; el status en el cambio hormonal de la perra durante la gestación ha sido sugerido. Se ha descrito que inyecciones con prolactina gonadotrópica conllevan a una marcada depresión en el número de larvas en los tejidos del ratón que fueron experimentalmente infestados con *Toxocara canis* y sugiere que esta hormona está involucrada con la estimulación de la larva "dormante" reactivando su migración. (Oshima, 1961)

Dentro de las primeras horas de nacimiento, las larvas que estuvieron presentes en el hígado de los neonatos, migran hacia los pulmones siguiendo una ruta migratoria por tráquea. Los gusanos adultos pueden ser encontrados a las dos semanas de edad (Overgaauw, 1997a) y grandes cantidades de huevos son pasados con las heces después de un periodo mínimo de 16 días. (Ridley y col. 1994)

Poco se sabe acerca del número de larvas que pueden ser encontradas en los tejidos de la perra, la proporción de las larvas tisulares activadas durante la gestación y el tiempo de supervivencia de estas en los tejidos (Lloyd, 1993). La transmisión ocurre en gestaciones consecutivas, aún en ausencia de reinfestaciones entre cada parto. (Burke y Roberson, 1985)

e) TRANSMISIÓN TRANSMAMARIA

Después de la activación de la larva somática de *Toxocara canis* en los perros, también puede ser transmitida por el calostro y la leche (transmisión transmamaria, lactogénica), seguida de la ingestión por la camada la larva continuará su desarrollo sin una migración por tráquea. Las larvas se encuentran en la leche de las perras hasta el día 38 después del parto. (Zimmerman y col. 1985)

La perra lactante puede adquirir una infestación patente por *Toxocara canis* ingiriendo larvas intestinales eliminadas por el vómito o heces de los cachorros

durante la lactación. Un número de esas larvas maduran y se vuelven infestantes. (Sprent, 1958)

Junto con los huevos ingeridos provenientes de las heces de sus cachorros, los perros lactantes pueden, por esta vía, diseminar grandes cantidades de huevos al ambiente. Entre la semana 4-10 después del parto, esta infestación desaparece espontáneamente. (Lloyd y col. 1983)

Se ha sugerido que esa supresión de resistencia de infestación durante la lactación y el desarrollo subsiguiente de *Toxocara canis* en el intestino es explicada por la influencia especial de la lactancia y la relación con la secreción de prolactina (Oshima, 1961). Esto parece que es confirmado por el hallazgo de que tales infestaciones son espontáneamente eliminadas dentro de la primera semana seguida del cese de la lactación. (Lloyd y col. 1983)

Finalmente, los huevos de *Toxocara canis* eliminados en las heces de los cachorros pueden ser ingeridos por la madre, donde ellos pasan a través del tracto digestivo provocando falsos positivos a la infestación por *Toxocara canis* después de un examen coproparasitoscópico. (Schön y Store, 1986)

f) TRANSMISIÓN A TRAVÉS DE HOSPEDEROS PARATÉNICOS

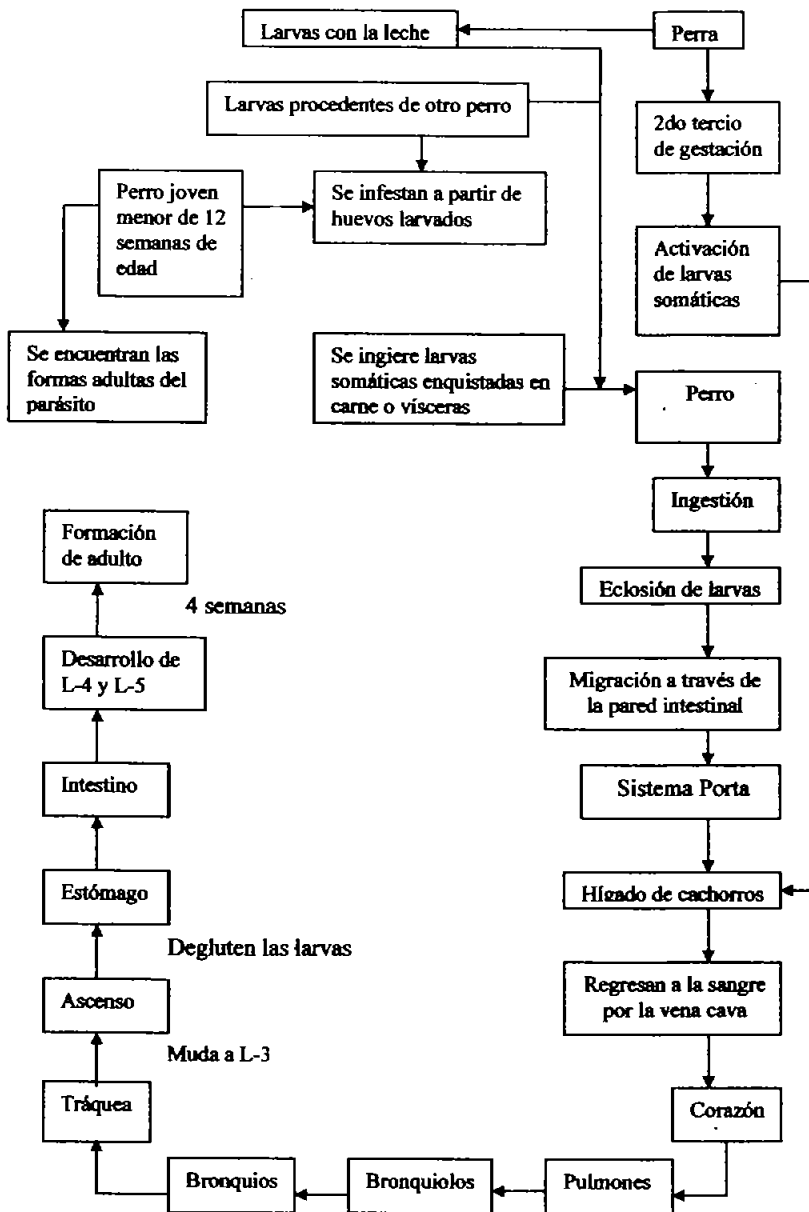
La paratenesis es el modo de infestación de algunas larvas de nematodos tales como *Toxocara canis*, esto asegura su supervivencia continua por su distribución en especies depredadas. (Grieve y col. 1993)

Esta ruta de infestación existe porque el desarrollo de larva somática en hospederos paraténicos incluye a vertebrados tales como roedores y pájaros o invertebrados como gusanos de tierra e insectos (moscas). Mamíferos pequeños juegan un papel importante como hospederos paraténicos en localidades urbanas y rurales. (Dubinsky y col. 1995; Oshima, 1961)

Después de la ingestión de los hospederos paraténicos infestados con la larva de *Toxocara canis* por el perro (Warren, 1969; Kasai, 1995), la larva se desarrolla

directamente en el intestino porque ya ha migrado en el hospedero anterior y se presume que ha llegado a una etapa apropiada de madurez por lo que ella puede desarrollarse en adulto en el intestino. En contraste con estas conclusiones, Warren, 1969 reportó que la larva de *Toxocara canis* en perros lleva a cabo una migración por tráquea llegando a adultos el día 19, seguido de su ingestión por un hospedero paraténico experimental (músculo de ratón).

Figura 6. Ciclo biológico de *Toxocara canis*



(Martínez, 2000)

5. PATOGENIA

La capacidad para dañar depende de la edad del animal, del número, localización y fase del desarrollo de los gusanos. El daño generado por este parásito está determinado en parte, por la migración larvaria que realizan por diferentes tejidos y por otra parte por sus necesidades metabólicas. En el primer caso las larvas ejercen acción traumática provocando hemorragias seguido de procesos inflamatorios agudos y posteriormente crónicos en su recorrido por diferentes tejidos, los cuales incluyen pared intestinal, parénquima hepático y pulmonar, ruptura de capilares y alvéolos, riñón, tejido muscular y cerebro. En forma paralela ejercen acción expoliatriz que en este caso es hematófaga e histófaga y de líquidos tisulares. Concomitantemente a esta se presenta la acción mecánica por obstrucción, que dependiendo la cantidad a nivel pulmonar y hepático puede ser manifiesto. La eliminación de mudas, líquido de mudas, secreciones y excreciones, ejercen acción antigénica que puede, por un parte, causar una respuesta inmune positiva y por otra, ocasionar efectos anafilácticos y alérgicos. (Quiroz, 2002)

Las migraciones que realizan las larvas de *Toxocara canis* corresponden a la vía entero-neumo-traqueo-enteral en cachorros. La migración entero-neumo-somática ocurre en el caso de reinfestaciones y animales adultos. (Quiroz, 2002)

Los nematodos que viven en el intestino, se alimentan de contenido intestinal; sin embargo, esta acción expoliatriz es selectiva, utilizando por ejemplo grandes cantidades de vitamina C y otros nutrientes de naturaleza protéica, lípidos y carbohidratos, además de otros elementos. Otras veces invaden el conducto colédoco y canales biliares produciendo estasis biliar, provocando por una parte mala digestión debido a la deficiente cantidad de bilis que pasa por intestino y por la congestión biliar a nivel hepático. (Quiroz, 2002)

Las infestaciones prenatales en los cachorros son responsables de nacimientos y muertes prematuras (Scothorn y col. 1965). La intensa acción de las larvas de *Toxocara canis* a su paso por el hígado y pulmones puede provocar muertes que suelen presentarse entre la primera y tercera semana de vida. Después del nacimiento, los cachorros pueden sufrir de neumonía asociada a la inflamación

por la migración por tráquea de la larva y la muerte dentro de los 2 a 3 días siguientes. La diarrea, constipación, vómito, tos y descargas nasales pueden ser encontradas en el examen clínico. Distensión del abdomen (animales panzones) (Figura 7) puede ocurrir, probablemente como resultado de la formación de gas causado por la disbacteriosis (variación brusca de la flora intestinal). La mortalidad se presenta debido a la obstrucción de la vesícula biliar, ductos biliares, ducto pancreático y ruptura del intestino. (Parsons, 1987)

Figura 7. Fotografía de un perro con distensión del abdomen



(Mustoe, 1999)

En cachorros con infestación congénita las formas intestinales masivas producen enteritis catarral y ocasionalmente oclusión y perforación intestinal. (Cordero del Campillo y col.1999)

Después de la superinfestación con *Toxocara canis*, el conteo de eosinófilos aumenta hasta llegar al pico máximo al octavo día y perdura por más de 50 días. (Oshima, 1961)

La variabilidad de las características clínicas en la toxocarosis puede estar relacionada con la resistencia de la larva, diferentes rutas de migración, la cantidad de antígenos secretores-excretos (TES) y las diferentes respuestas inmunes de los hospederos. (Kerr-Muir, 1994)

Los signos clínicos en los perros adultos son raros. Durante la migración larvaria somática los perros pueden manifestar signos clínicos de la enfermedad (Barron, 1966). La migración de la larva induce altos niveles de enzimas hepáticas (AST, ALT) con un pico al tercer día después de la infestación con huevos embrionados. Los niveles totales de IgG en suero aumentan el doble durante los 20 días postinfestación. (Zimmerman y col. 1985; Stejkskal y Johansson, 1983)

La habilidad de la larva en estado restringido de *Toxocara canis* para sobrevivir dentro de los tejidos por muchos años, depende de mecanismos muy potentes de inmunoevasión y de mecanismos anti-inflamatorios operados por el parásito. Las macromoléculas secretadas son las candidatas primarias como mediadores evasivos de la respuesta inmune. (Maizels, 1999)

La magnitud de la infestación humana es difícil de determinar: una alta proporción de niños son seropositivos a los anticuerpos contra *Toxocara canis*, pero la infestación somática (larva migrans visceral y ocular) no es frecuente. Desafortunadamente, los resultados de la infestación incluyen invasión del cerebro y ojos y si la evidencia de la función neurológica dañada es correcta, la magnitud de la patología inducida por *Toxocara canis* puede ser mucho mayor que la documentada actualmente. (Maizels y col. 2000)

La migración de la larva de *Toxocara canis* dentro del cerebro de roedores y niños está asociada con el deterioro de las funciones neuropsicológicas y con una conducta alterada. De cualquier manera, la severidad de los cambios de conducta causada por la migración de la larva dentro del cerebro se reduce si al ratón se le proporcionan múltiples infestaciones más que en una dosis única equivalente. (Parsons y Grieve, 1990)

La relación de las manifestaciones neurológicas con las complicaciones cerebrales causadas por la larva de *Toxocara canis* permanece en la oscuridad. En el síndrome de larva migrans visceral causado por *Toxocara canis* en seres humanos, el cuadro clínico varía de un estado asintomático, excepto por la eosinofilia persistente, hasta un síndrome crónico de hipereosinofilia, hepatomegalia, infiltración pulmonar moderada, fiebre, tos e hipergamaglobulinemia. (Tomimura y col. 1976)

Numerosos casos humanos, incluyendo algunos fatales, involucran al ojo, cerebro, corazón y otros órganos. También es bien sabido, que la variedad de síntomas neurológicos, incluyendo convulsiones, delirio, parálisis y meningitis se desarrollan en algunos pacientes. La patogénesis de estas manifestaciones se ha mantenido desconocida. (Tomimura y col. 1976)

6. RESPUESTA DEL HOSPEDADOR

Los parásitos inducen una variedad de alteraciones inmunológicas en los hospederos infestados, las cuales incluyen incremento en la IgE sérica, eosinofilia, depresión de ciertas funciones de las células T y activación policlonal de las células B. (Finkelman y col. 1991)

Después de la administración oral de huevos de *Toxocara canis*, la larva eclosiona y migra al hígado, pulmón, cavidad peritoneal y bazo donde ellas residen y secretan proteínas de excreción (antígenos ES) los cuales activan y/o modulan las respuestas inmunológicas. De hecho, se ha observado que antígenos derivados de la larva de *Toxocara canis* estimulan a los macrófagos a producir IL-1 e IL-6, no siendo así para IL-12 y TNF- α . (Finkelman y col. 1991)

Se ha sugerido que cuando se utilizan animales timectomizados o atímicos congénitamente, la eosinofilia, la producción elevada de IgE y la mastocitosis intestinal en infestaciones helmínticas son dependientes de células T. Se ha reportado que estas respuestas inmunológicas son inducidas por citocinas secretadas por células CD4⁺ cooperadoras de tipo 2 (Th2). La eosinofilia y la producción de IgE son inducidas por la IL-5 e IL-4 respectivamente mientras que la mastocitosis es causada por la IL-3 e IL-4. Cuando hospederos paraténicos como los humanos y ratones son infestados con *Toxocara canis* la larva migra sin madurar, y causa una marcada eosinofilia y elevada producción de IgE. (Hiratochi y col. 2000)

Se ha demostrado que el mRNA de la IL-5 se expresa en los pulmones y en el bazo de los ratones infestados con *Toxocara canis*. Las células pulmonares infestadas con *Toxocara canis* producen niveles significativos de IL-5 cuando son

incubados con antígenos de excreción-secreción de la larva *in vitro*. La IL- 5 se produce principalmente por células T CD4⁺ y parcialmente por células CD4⁻ CD8⁻ (TCR $\gamma\delta$) en los pulmones de ratones infestados con *Toxocara canis*. Recientemente se ha demostrado que la interacción de VCAM-1/VLA-4 es más importante en la producción de IL-4 por las células pulmonares en los ratones infestados que la interacción ICAM-1/LFA-1. Por lo que se piensa que IL-5 e IL-4 son producidas por diferentes mecanismos. (Hiratochi y col. 2000)

7. MANIFESTACIONES DEL SÍNDROME DE LARVA MIGRANS EN HUMANOS

El síndrome de larva migrans visceral es causado en humanos por la migración de las larvas de *Toxocara canis* principalmente, la enfermedad frecuentemente se observa en niños que practican la geofagia e ingieren los huevos embrionados que se encuentran en la tierra, usualmente no causa severos problemas, sin embargo puede persistir por meses o por más de un año (Shore, 2001). Algunos síntomas de la infestación incluyen: anemia, tos, ronquera, infiltración pulmonar, hepatomegalia, esplenomegalia, fiebre y anorexia. (Gillespie y Pearsons, 2001)

En el síndrome de larva migrans ocular la larva migra hacia el ojo provocando la infestación más aguda que puede llegar a provocar ceguera. La reacción a cuerpo extraño y a los antígenos puede causar un daño local o general en la retina y otras estructuras intraoculares, la infestación intraocular usualmente ocurre unilateralmente en niños, pero ocasionalmente los dos ojos son afectados. (Gillespie y Parsons, 2001)

El término toxocariosis encubierta se refiere a un síndrome menos específico que fue reconocido por el uso extenso de ensayos de serodiagnóstico para infestaciones por *Toxocara canis* (Tolan y col. 2001). La toxocariosis encubierta ha sido descrita con una serie de síntomas que son inespecíficos, pero juntos forman una enfermedad reconocible. Los síntomas inducen dolor abdominal, anorexia, sueño y comportamiento alterado, adenitis cervical, ronquera, problemas respiratorios, dolor de cabeza asociado a una normal o ligeramente elevada eosinofilia. Los síntomas de

la toxocariosis encubierta no se manifiestan por sí mismos en forma característica o específica. (Mustoe, 1999; Radman y col. 2000)

8. DIAGNÓSTICO

En los animales se basa en la demostración de huevos en las heces. Sólo los signos pulmonares que afectan a toda la camada 1-2 semanas después del nacimiento hacen sospechar de la infestación. Con frecuencia, los cachorros eliminan gusanos espontáneamente con el vómito o con las deyecciones. La necropsia y la observación de las lesiones hepáticas, pulmonares o renales, junto con la demostración directa de los nematodos en el intestino delgado, confirman el diagnóstico. (Cordero del Campillo y col. 1999)

El hallazgo de laboratorio más significativo es la eosinofilia intensa, que coincide con la fase de migración larvaria y que fácilmente supera el 50% en la primera semana de vida. La actividad enzimática de GLDH y ALT aumenta notablemente durante esta fase de migración, con niveles máximos a los pocos días de nacimiento. (Cordero del Campillo y col. 1999)

Las técnicas serodiagnósticas (ELISA) son utilizadas con una alta especificidad (92-95%) y sensibilidad (73-78%) en títulos diagnosticados de 1:32. ELISA indirecta se utiliza para determinar la presencia de anticuerpos totales de tipo IgG, IgE e IgM contra los antígenos TES. (Jin Luo y col. 1999)

Los métodos para el diagnóstico del síndrome de larva migrans son: el de anticuerpos monoclonales, los cuales reconocen epítopos específicos de antígenos secreción-excreción. El Western Blot para el inmunodiagnóstico de la toxocariosis es utilizado con alta sensibilidad y especificidad, anulando los problemas de reacciones cruzadas con sueros positivos a otras enfermedades helmínticas, por lo que se recomienda como complemento de la técnica de ELISA para la confirmación de resultados. (Overgaauw, 1997c)

9. PREVENCIÓN Y CONTROL

Se recomienda la desparasitación repetida en los cachorros a las 2, 4, 6 y 8 semanas, especialmente ante el riesgo de reinfestación por la leche materna y contaminación ambiental. Las madres deberán someterse a pautas de tratamiento simultáneas a las de la camada y en los perros adultos deberán efectuarse análisis coprológicos previos al tratamiento. (Cordero del Campillo y col. 1999)

La base del control de la toxocariosis es el tratamiento de los perros infestados, en especial cachorros y madres, con la que se reduce la contaminación ambiental con huevos infestantes de parásitos. Además, es necesario eliminar las deyecciones caninas, con limpieza frecuente y a fondo para eliminar los huevos. El control del censo canino conlleva la retirada de perros callejeros o vagabundos, junto con la educación sanitaria sobre el riesgo de transmisión de LMV que, en gran parte, es desconocido. (Cordero del Campillo y col. 1999)

Debido a la alta frecuencia de *Toxocara canis* en el perro, es necesario contribuir de forma inmediata al desarrollo de programas que eliminen de forma eficaz este parásito tanto en su forma adulta como en su fase larvaria y en su transmisión lactogénica como transplacentaria en las perras, por lo que la finalidad de este trabajo es proporcionar un esquema de antiparasitarios de diferentes familias que en combinación nos puedan dar un nivel de eficacia mayor al reportado con otros medicamentos utilizados para este fin.

10. TRATAMIENTO

Son útiles las sales de piperacina (adipato, citrato, difosfato) que son bien toleradas por cachorros, lo que facilita el tratamiento de infestaciones congénitas; su aplicación a dosis de 110-200 mg kg⁻¹, tienen buena eficacia frente a los adultos intestinales, pero menor frente a los estadios inmaduros. El pamoato de pirantel se utiliza a dosis de 5 mg kg⁻¹, es eficaz incluso en cachorros con fases juveniles. La dosificación repetitiva con concentraciones menores, es más eficaz que la concentración alta en una sola dosis. (Cordero del Campillo y col. 1999)

El nitroscanate micronizado en dosis única de 25-50 mg kg⁻¹, es activo contra *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Ancylostoma caninum*, *Echinococcus granulosus*, *Uncinaria sp*, *Dipylidium caninum* en perros; en gatos contra *Ancylostoma tubaeforme* y *Toxocara cati*. Siendo bien tolerado por cachorros y perras gestantes. (Cordero del Campillo y col. 1999; Sumano y col. 2000)

Se ha estudiado el efecto del albendazol en toxocariosis experimental en ratones y se observó que la administración del albendazol reduce el número de larvas que alcanzan el cerebro, el fenbendazol y el oxfendazol matan larvas en el cerebro y en el músculo de ratones infestados experimentalmente. (Bardon y col. 1995)

Se ha encontrado que la eliminación de larvas de *Toxocara canis* en ratones se da con levamisol, ivermectina, albendazol y febendazol, en un máximo de 2-7 días pos infección (no se menciona la dosis utilizada). (Gillespie y Pearson, 2001)

Los antecedentes de la ivermectina usada contra larvas incluyen el estudio de Abo-Shehada y Hebert, en 1984; en un modelo en ratones utilizaron ivermectina a dosis de 200 mcg kg⁻¹ oral y subcutánea, así como levamisol (150 mg kg⁻¹ subcutáneo y 100 mg kg⁻¹ oral), albendazol y febendazol (100 mg kg⁻¹ en ambos casos), al mes de inoculados, reportan que la ivermectina fue la más efectiva con una eficacia del 80%, seguido del levamisol con un 65-70%, albendazol con un 38% y por ultimo el febendazol con el 20%.

Samanta y Ansari en 1990 utilizando a la ivermectina en dosis de 0.2 mg kg⁻¹ subcutáneo, al albendazol y fenbendazol a dosis de 100 mg kg⁻¹ oral y tiabendazol 150 mg kg⁻¹ oral, después de 24 horas de la infestación experimental y continuando por una semana, sugieren que la ivermectina y los bencimidazoles tienen propiedades larvicidas, mientras que el tiabendazol tiene una acción inhibitoria sobre la migración larvaria. Encontrando que el albendazol tiene una efectividad del 51.4%, fenbendazol del 36.6%, tiabendazol del 22.5% y con ivermectina del 54.4% para larvas totales. La efectividad en cerebro es del 89% para el albendazol y del 92% para la ivermectina.

Martínez y col., en 1993; en un ensayo con varios principios detectan que el producto más eficaz a dosis única contra larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones fue la ivermectina (0.2 mg kg^{-1} subcutánea) con un 91% de efectividad, comparado con metrifonato (50 mg kg^{-1} oral) con un 43%, dietilcarbamazina (50 mg kg^{-1} oral) con un 45.5% y nitroscanate (50 mg kg^{-1} oral).

Fok y Kassai, en 1998, trabajando con la ivermectina (0.6 mg kg^{-1} oral en alimento y 6 mg kg^{-1} oral y subcutánea) y albendazol (1.6 g kg^{-1} y 3 g kg^{-1} oral en alimento), encuentra los niveles de remoción más bajos de ivermectina reportados en la literatura con un 7.6-35.5% de efectividad, mientras que para el albendazol encontró un 97.1% de efectividad.

Camilo y Barriga, en 1987, trabajando con levamisol y comparándolo con la ivermectina reporta que a una dosis de 6 mg kg^{-1} (subcutáneo) del primer compuesto una efectividad del 12.54%, a 12 mg kg^{-1} (subcutáneo) tuvo una efectividad del 64.25%, en tanto que la ivermectina (0.4 mg kg^{-1} subcutánea) disminuyó un 43.12% el parasitismo total.

La mayoría de los pacientes humanos se recuperan sin terapia. El tratamiento con agentes antihelmínticos está indicado para complicaciones severas, tales como las cerebrales, pulmonares y cardíacas. Ya que el tratamiento con antihelmínticos puede generar una reacción inflamatoria aumentada, los corticosteroides algunas veces son utilizados con o sin terapia específica. (Tolan y col. 2001)

Como los signos y síntomas de los variados síndromes de la toxocariosis resultan de respuestas inflamatorias crónicas y agudas, dirigidas hacia los productos excretores-secretorios y no necesariamente de las larvas, el tratamiento está inicialmente dirigido hacia los síntomas, por ejemplo, los broncodilatadores, antihistamínicos y ocasionalmente esteroides sistémicos están indicados. (Gillespie, 1987)

El tratamiento de la toxocariosis encubierta debe de ser individualizado. La decisión del tratamiento depende de la edad del paciente, la severidad de los síntomas y de la certeza del diagnóstico. En pacientes con LMO, el tratamiento no

requiere una terapia con antihelmínticos pero se recurre a corticosteroides locales y a cirugía. (Tolan t col. 2001)

Struchler, D. en 1989, recomienda el albendazol para el tratamiento de LMV y LMO administrando una dosis mínima de 10 mg kg⁻¹ diariamente por 5 días.

Velebný y col. (2000) utilizando formulaciones liposomales de albendazol con glucanos y administrándola subcutáneamente a ratones infestados con huevos larvados de *Toxocara canis* a dosis de 25 mg Kg⁻¹ dos veces al día durante 5 días después del día 28 postinfestación, encontraron una eficacia del 62.8% en músculo y en cerebro del 88%. Esta formulación liposomizada incrementa la efectividad, logrando un 92.2%.

Los agentes antihelmínticos utilizados para complicaciones severas de LMV tales como complicaciones cerebrales, pulmonares y cardíacas son los siguientes: dietilcarbamacina (6 mg kg⁻¹ oral), tiabendazol (25 mg kg⁻¹oral), albendazol (10 mg kg⁻¹ oral) y mebendazol (una tableta de 100 mg). Las respuestas terapéuticas de los pacientes con LMV son evaluadas clínicamente por el conteo de eosinófilos en sangre periférica. Los títulos de anticuerpos contra *Toxocara canis* no reflejan la respuesta al tratamiento. (Tolan y col. 2001)

11. ANTIHELMÍNTICOS UTILIZADOS

Los productos antiparasitarios empleados en el presente trabajo son del grupo de las lactonas macrocíclicas (ivermectina) y bencimidazoles (albendazol).

Lactonas macrocíclicas

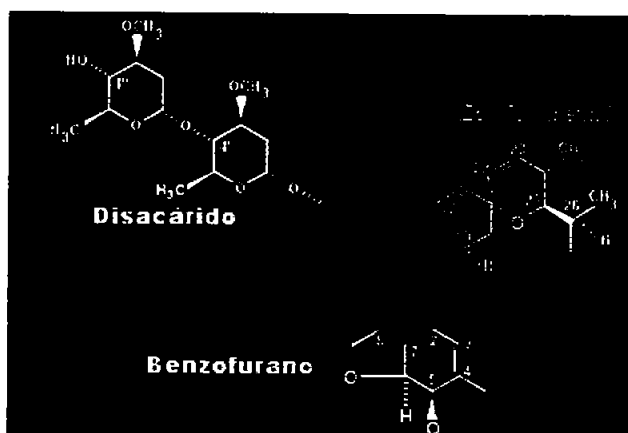
Las lactonas macrocíclicas (Figura 8), representan un grupo de fármacos extremadamente potentes como antinematódicos, insecticidas y acaricidas. Estos a su vez se dividen en dos subgrupos que son: avermectinas y milbemicinas. (Köhler, 2001)

Dentro de las avermectinas tenemos a la ivermectina, doramectina, eprinomectina y selamectina y dentro de las milbemicinas tenemos a la milbemicina y a la moxidectina. (Steele, 1998)

a) Absorción, destino y eliminación

Las lactonas macrocíclicas son compuestos lipofílicos de peso molecular moderado, las cuales subsecuentemente son absorbidas en el torrente sanguíneo y distribuidas ampliamente a través de los tejidos del cuerpo de los animales tratados oralmente, subcutáneamente o tópicamente. En general, siguen un equilibrio, la grasa es la zona de depósito principal de estos fármacos, pero niveles considerables son encontrados en el hígado, en donde las lactonas macrocíclicas son metabolizadas, conjugadas y excretadas en la bilis. La excreción en la orina es baja, generalmente menos de 3% de la dosis y el resto se elimina por heces. (Steele, 1998)

Figura 8. Estructura química de las lactonas macrocíclicas



(Johnstone, 2000)

b) Acción antiparasitaria

Las lactonas macrocíclicas tienen actividad de amplio espectro en contra de un elevado rango de nematodos y artrópodos y esa efectividad en contra de endoparásitos y ectoparásitos les han dado el nombre de endectocidas. (Johnstone, 2000)

Dentro de esta clasificación de las lactonas macrocíclicas utilizamos a una avermectina (ivermectina) que a continuación se describe:

Ivermectina

La ivermectina (Figura 9) es muy eficaz y muy potente contra las fases en desarrollo de muchos nematodos e insectos parásitos que afectan a animales y seres humanos, su origen corresponde a un producto de fermentación del *Streptomyces avermitilis*. (Ryan, 1999) El fármaco inmoviliza a los organismos afectados al inducir parálisis flácida de sus músculos. Los estudios originales sugirieron que las avermectinas ocasionaban dicho efecto más bien al modular la neurotransmisión mediada por ácido gamma-aminobutírico (GABA). (Pong y col. 1980) No obstante, investigaciones recientes señalan que la parálisis en el nematodo *Caenorhabditis elegans* de vida libre, quizás es mediada por potenciación, activación directa o ambos mecanismos de los canales de cloro "regulados" por glutamato. Las avermectinas también tienen avidez por los canales de cloro sensibles a GABA y a otros ligandos, en nematodos como *Ascaris* y en insectos, pero no se han precisado las consecuencias fisiológicas de tal fenómeno. (Arena y col. 1995)

La falta de receptores de avermectina de alta afinidad en cestodos y trematodos puede explicar porqué dichos helmintos no son sensibles al medicamento. (Shoop y col. 1995) Las avermectinas interactúan con los receptores de GABA en el cerebro de vertebrados (mamíferos), pero su afinidad por receptores de invertebrados es 100 veces mayor. (Arena y col. 1995)

c) Dosis

En el perro 200 mcg kg⁻¹ subcutáneo, una sola dosis. Sarna 400 mcg kg⁻¹ subcutáneo, una sola dosis. En gatos se han usado dosis de hasta 200-400 mcg kg⁻¹ subcutáneo, una sola dosis. (Sumano y col. 2000)

d) Toxicidad, efectos adversos.

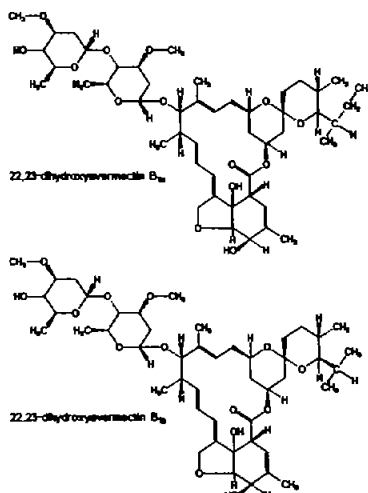
En los animales los signos de toxicidad del sistema nervioso central son letargia, ataxia, midriasis, temblores y al final la muerte, se observan aplicando altísimas dosis del fármaco, por ejemplo en perros a dosis de 2 mg kg⁻¹ diariamente

durante 3 meses se observa este efecto, la DL_{50} es de 30 mg kg^{-1} en ratones. Son especialmente vulnerables los perros y en particular la raza Collie. También hay que tener cuidado al administrar ivermectina junto con otros compuestos que deprimen la actividad del sistema nervioso central. No existen evidencias de que la ivermectina sea teratogena o carcinogena (Goodman & Gilman, 1996). Los ratones son la especie más sensible a los efectos de la ivermectina a dosis de maternotoxicidad de 0.2 mg kg^{-1} al día. (Maizels, 1999)

e) Interacciones.

Los anestésicos y tranquilizantes pueden aumentar su efecto depresor. El amitraz aplicado conjuntamente puede inducir toxicidad (Sumano y col. 2000)

Figura 9. Estructura de la Ivermectina



(Johnstone, 2000)

Bencimidazoles

Los bencimidazoles poseen hidrosolubilidad limitada y, por consecuencia, pequeñas diferencias en la solubilidad tienden a ocasionar un efecto mayor en la absorción. (Goodman & Gilman, 1996)

La absorción del albendazol (Figura 10) es variable e irregular después de ingerido, aunque su absorción puede mejorar si se consume con alimentos grasos. Después de administrar una dosis oral de 400 mg de albendazol, no se detecta el compuesto en plasma porque es metabolizado con rapidez en hígado, hasta la forma de sulfóxido de albendazol. A diferencia de los principales metabolitos de tiabendazol y mebendazol, el sulfóxido de albendazol genera potente actividad antihelmíntica. Dicho metabolito alcanza concentraciones plasmáticas máximas de unos 300 ng/ml, pero con amplias variaciones entre un individuo y otro. (Goodman & Gilman, 1996)

El sulfóxido de albendazol se liga aproximadamente en una proporción de 70% a las proteínas plasmáticas y su vida media en plasma es de ocho a nueve horas. Se distribuye adecuadamente en diversos tejidos. La formación del sulfóxido de albendazol es catalizada más bien por la flavin-monooxigenasa microsómica y, en menor magnitud, por algunas formas de citocromo. Parte del sulfóxido es oxidado todavía hasta generar el metabolito sulfona que es farmacológicamente inactivo. Los metabolitos se excretan principalmente por orina. (Goodman & Gilman, 1996)

Estudios referentes a los efectos del albendazol en helmintos muestran que este fármaco causa alteraciones ultraestructurales tanto en células intestinales de nematodos como en células del tegumento en cestodos, particularmente en la redistribución de las vesículas citoplasmáticas y de otros organelos. Como estos cambios coincidieron con la desaparición de los microtúbulos del citoplasma es posible que los bencimidazólicos actúen inhibiendo el transporte de las vesículas secretoras mediado por microtúbulos en los tejidos de absorción de los helmintos con la liberación de enzimas digestivas las cuales son responsables del daño tisular observado. Actualmente, parece ser que la base bioquímica de la acción de los bencimidazólicos es la habilidad que tienen estos de unirse con gran afinidad de manera pseudo-irreversible en las subunidades de tubulina de los microtúbulos, por lo que alteran la estructura y función de los éstos. (Köhler, 2001)

Los microtúbulos son altamente dinámicos, organelos celulares ubicuos que llevan a cabo una variedad de funciones vitales tales como, mitosis, motilidad y transporte, en todos los eucariontes. La mayoría de estas estructuras existen en un estado dinámico estable en donde el ensamblaje y desensamblaje de las

subunidades solubles está balanceado. En tales sistemas, la interacción fármaco-tubulina resulta en un cambio de este estado estable con la pérdida de microtúbulos y la acumulación de tubulina libre no permitiendo la formación de la red de tubulina. En vista de la importancia crucial de los microtúbulos en la mayoría de los procesos celulares, este fármaco induce la destrucción eventual la cual lleva a la muerte del organismo. (Kóhler, 2001)

El principio de la alta toxicidad selectiva de los antihelmínticos bencimidazólicos no está completamente entendido pero parece ser que es debido a que la unión irreversible es mucho más fuerte con la tubulina de los helmintos que con la tubulina de los mamíferos. (Kóhler, 2001)

a) Acción antihelmíntica.

El albendazol es un antihelmíntico de múltiples usos, sobre todo contra nematodos gastrointestinales, si bien su acción medicamentosa no depende de la concentración que alcanza a nivel sistémico. La eliminación y muerte de los parásitos gastrointestinales sensibles se hace con lentitud y tal vez no sean completamente eliminados, sino después de varios días de aplicar el tratamiento. Los bencimidazoles ocasionan muchos cambios bioquímicos en nematodos sensibles, por ejemplo, la inhibición de la fumarato reductasa de mitocondrias, disminución del transporte de glucosa y desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. (Goodman & Gilman, 1996)

b) Absorción, destino y eliminación.

Los bencimidazoles poseen hidrosolubilidad limitada y por consecuencia pequeñas diferencias en la solubilidad tienden a ocasionar un efecto mayor en la absorción. La absorción del albendazol es variable e irregular después de ingerido, aunque su absorción puede mejorar si se consume con alimentos grasosos. (Goodman & Gilman, 1996)

Interrumpen el metabolismo energético de los parásitos, inhiben a la enzima fumarato reductasa, que induce la polimerización de la tubulina en los microtúbulos celulares. Tiene un excelente margen de seguridad e índice terapéutico. Su vida media es de 10 horas, sus principales metabolitos son derivados sulfóxidos y sulfato. (Sumano y col. 2000)

c) Aplicaciones terapéuticas.

Útil contra nematodos, trematodos, cestodos y larvas de nematodo a nivel intestinal y extraintestinal (Sumano y col. 2000). El albendazol constituye un fármaco inocuo y altamente eficaz contra infestaciones por nematodos en las vías gastrointestinales. (Goodman & Gilman, 1996)

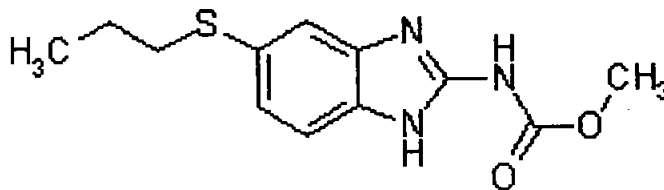
d) Dosis.

En perros 5–10 mg kg⁻¹.

e) Toxicidad, efectos adversos.

El albendazol ocasiona pocos efectos adversos si se utiliza por corto tiempo contra la helmintiasis gastrointestinal, en ocasiones hay dolor abdominal, diarrea, náuseas, mareos y cefalea transitorios. El albendazol es teratogénico y embriotóxico en animales, razón por la cual será mejor no utilizarlo en mujeres embarazadas. (Goodman & Gilman, 1996)

Figura 10. Estructura química del albendazol



(Johnstone, 2000)

12. OBJETIVOS

- ✘ Contribuir al conocimiento en torno a la evaluación de medicamentos para tratar la toxocariosis.

- ✘ Utilizando ratones blancos cepa CD1 inoculados con larvas de *Toxocara canis* como modelo experimental, ensayar la aplicación de una asociación de ivermectina-albendazol para observar un efecto en las larvas de *Toxocara canis* en diferentes órganos.

- ✘ Comparar la eficacia de los tratamientos convencionales para la toxocariosis contra el tratamiento utilizado en este trabajo.

13. MATERIALES Y METODOS

MATERIAL BIOLÓGICO

1. 100 cadáveres de perros de 2 a 3 meses de edad del Control canino de Cuautitlán Izcalli.
2. 60 ratones blancos cepa CD1, machos.

REACTIVOS

1. Ácido clorhídrico
2. Agua destilada
3. Albendazol genérico 100% puro
4. Formol 5%
5. Glicerinformal
6. Ivermectina 1% (IVOMEC)
7. Pepsina
8. Propilenglicol
9. Solución salina formolada 2.5%

MATERIAL DE LABORATORIO

1. Agujas de disección
2. Alimento para ratones (Nutricubos)
3. Cajas de petri
4. Cajas de policarbonato
5. Estuche de disección
6. Jeringas
7. Microscopio óptico
8. Portaobjetos y cubreobjetos
9. Sonda para alimentación de lactantes (tipo Foley)

MÉTODO

1. Se realizaron necropsias a 100 cadáveres de perros de 2 a 3 meses de edad procedentes del control canino de Cuautitlán Izcalli; para obtener gusanos de *Toxocara canis* del intestino delgado.
2. Se separaron los gusanos machos de las hembras. Las hembras se disecaron cortando en la porción media del cuerpo para liberar los úteros grávidos y permitir la salida de los huevos fecundados, los cuales se colocaron en cajas de petri con solución salina formolada al 2.5% y a temperatura ambiente durante 3 semanas aproximadamente con el objeto de esperar el desarrollo del segundo estado larvario.
3. La viabilidad de los huevos larvados se determinó en base al desarrollo de las larvas en su interior y a la motilidad de las mismas; siendo en este caso del 75%.
4. Se formaron 6 grupos de 10 ratones cada uno, los ratones se escogieron al azar.
5. Un lote fue grupo testigo inoculado con 500 huevos larvados, vía oral con una sonda para alimentación de lactantes, sin tratamiento. Un segundo lote fue testigo no inoculado con huevos larvados, pero se le aplicó glicerinfomal y propilenglicol. Estos lotes se sacrificaron al mes posterior a la inoculación.
6. Los cuatro grupos restantes fueron inoculados con 500 huevos larvados por vía oral con una sonda tipo Foley para alimentación de lactantes. Al mes postinfestación fueron tratados con ivermectina-albendazol, a una dosis de 200 mcg kg⁻¹ de ivermectina y 5 mg kg⁻¹ de albendazol, administrándolo mensualmente durante cuatro meses.

La ivermectina se diluyó con 40% de propilenglicol (diluyente) y 60% de glicerín formal (diluyente), se administró por vía subcutánea y el albendazol se diluyó con agua destilada administrándose por vía oral.

7. Se sacrificó un lote cada 30 días, y al realizar la necropsia de los ratones se obtuvo: el cerebro, los pulmones, los riñones, 1 g de músculo esquelético del miembro pélvico derecho que se multiplicó con el total de la carcaza y el hígado.

Estos órganos se cortaron finamente y se envolvieron en una gasa para introducirlo en un tubo de ensaye con jugo gástrico artificial, el cual se preparo con 5 g. de pepsina, 6 ml. de HCl diluidos en 1000 ml. de agua destilada. A las 24 horas se agitó el contenido de los tubos, se dejaron 24 horas más y después se retiraron de la digestión.

8. Se retiraron las gasas y el sedimento se colocó en formol al 5% para su revisión en microscopio óptico, y evaluar la eficacia del tratamiento mediante el conteo de larvas en los órganos.
9. Se contó el número de larvas por órgano, revisando la totalidad del sedimento de cada tubo.
10. Se registraron los datos del número de larvas en una hoja de cálculo y los resultados se sometieron a una prueba estadística de análisis de varianza y organizados en forma de cuadros para su mejor comprensión.

Tabla 3. Calendario de sacrificio

GRUPOS EXPERIMENTALES	DESCRIPCION
1	Testigo, inoculado, no tratado, sacrificado al mes posterior a la inoculación
2	Testigo, no inoculado, no tratado, sacrificado al mes posterior a la inoculación
3	inoculado, con tratamiento, sacrificado a los treinta días posteriores a la inoculación
4	inoculado, con tratamiento, sacrificado a los 60 días posteriores a la inoculación
5	inoculado, con tratamiento, sacrificado a los 90 días posteriores a la inoculación
6	inoculado, con tratamiento, sacrificado a los 120 días posteriores a la inoculación

14. RESULTADOS

Se observó el comportamiento migratorio de las larvas ya descrito, con el mayor asentamiento de larvas en músculo esquelético y cerebro a los 60 días de inoculación. El grupo no inoculado (sin inoculación de huevos de *Toxocara canis* y tratado únicamente con glicerinformal y propilenglicol vehículo empleado para la ivermectina) no presentó larvas y sirvió para verificar que las unidades experimentales estaban libres de larvas de *Toxocara canis*.

El grupo inoculado sin tratamiento (grupo testigo inoculado) fue el que presentó la mayor concentración de larvas con una sumatoria total de 1921 larvas en 10 ratones (tabla 4). En cerebro se encontraron 743 larvas mientras que en músculo esquelético 1051 y una baja proporción de larvas en hígado, pulmón, riñón y corazón, lo que concuerda con el patrón migratorio de los organismos en el período de sacrificio (un mes pos-infestación).

Tabla 4. Larvas de *Toxocara canis* en el grupo inoculado no tratado recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.

RATÓN	HÍGADO	RIÑÓN	PULMÓN	CEREBRO	CORAZÓN	MÚSCULO	Total de larvas por ratón
1	2	8	4	19	1	95	129
2	0	2	0	96	0	140	238
3	0	4	5	92	0	85	186
4	4	2	10	19	2	66	103
5	5	4	4	51	0	136	200
6	2	0	1	119	0	90	212
7	5	6	1	76	1	101	190
8	13	3	4	158	1	112	291
9	4	1	1	86	22	182	296
10	3	0	2	27	0	44	76
Total	38	30	32	743	27	1051	1921

El grupo de animales inoculados y sometidos a un solo tratamiento de la asociación albendazol-ivermectina, aplicado a los 30 días de haber sido inoculados, se observó que la concentración de larvas en cerebro no varió con el tratamiento, pero en músculo esquelético si ocurrió una reducción de 1051 a 864 larvas (18 % de reducción), en los demás órganos no se observó reducción significativa de las larvas, los resultados obtenidos en este grupo pueden ser observados en la tabla 5.

En el grupo de ratones inoculados que se sometieron a dos tratamientos (30 y 60 días postinoculación) con la asociación albendazol-ivermectina, y sacrificados a los 90 días, se observó una reducción en el número de larvas recuperadas en músculo esquelético, comparadas contra el grupo inoculado y no tratado (1,051 larvas en el grupo inoculado y no tratado contra 250 larvas totales del grupo tratado dos veces que corresponde al 76.21 % de reducción), entre los grupos con uno y dos tratamientos (864 larvas totales contra 250 en los que recibieron dos tratamientos corresponde a una reducción del 71.06 % de reducción) aquí también se observó una reducción de la cantidad de larvas en los órganos de paso como hígado, riñón, pulmón y corazón; resalta que en cerebro hubo una reducción de 809 larvas en el grupo que recibió un solo tratamiento contra 560 larvas en el que recibió dos lo cual corresponde a una reducción del 30.77% los resultados pueden verse en la tabla 6.

En el grupo de animales tratados con tres dosis de la asociación albendazol-ivermectina aplicados a los 30, 60 y 90 días de la inoculación y sacrificados a los 120 días postinoculación, se observó que el número de larvas en músculo no variaron significativamente, pero sí se observó una reducción de organismos en cerebro de 809 larvas en los animales que recibieron un solo tratamiento contra 315 larvas en los animales que recibieron tres tratamientos que corresponde a 61.06% de reducción y comparando contra los resultados de los animales que no recibieron los medicamentos corresponde al 55.02% de efectividad en larvas totales, observándose evidencia de actividad migratoria en los órganos de paso que mostraron reducción de larvas al paso del tiempo, los resultados encontrados en los animales de este grupo pueden observarse en la tabla 7.

En el grupo de animales que recibieron cuatro dosis de la asociación de albendazol-ivermectina a los 30, 60, 90 y 120 días de inoculación con una reducción que iba de 105 larvas en promedio por animal en músculo esquelético en el grupo de los inoculados y no tratados contra 4 larvas por animal en el grupo de los que recibieron cuatro tratamientos lo cual corresponde al 98.47% de reducción, en cerebro se observó el mismo comportamiento de reducción de 74 a 37 larvas promedio por animal con una reducción porcentual de 80.08% con la eliminación casi total de las larvas en los órganos de paso, los resultados de la digestión de estos animales se pueden observar en la tabla 8.

Tabla 5. Larvas de *Toxocara canis* en el grupo de ratones que recibió un solo tratamiento de la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.

RATÓN	HÍGADO	RIÑÓN	PULMÓN	CEREBRO	CORAZÓN	MÚSCULO	Total de larvas por ratón
1	11	0	1	131	1	13	157
2	4	4	1	89	1	20	119
3	2	1	24	54	0	36	117
4	16	9	19	45	0	0	89
5	2	2	4	98	1	82	189
6	7	9	6	106	0	71	199
7	4	8	9	42	4	151	218
8	2	0	1	89	0	131	223
9	3	5	3	113	0	83	207
10	1	3	4	42	1	277	328
Total	52	41	72	809	8	864	1846

Se puede observar en esta tabla la tendencia a la acumulación de larvas en el tejido cerebral y la musculatura esquelética, con valores relativamente altos en el hígado y el pulmón que son los órganos en los que se inicia la migración de los estados larvarios, los datos de riñón corresponden a la migración de larvas para su asentamiento definitivo.

Tabla 6. Larvas de *Toxocara canis* en el grupo de ratones que recibieron dos tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.

RATÓN	HIGADO	RINÓN	PULMÓN	CEREBRO	CORAZÓN	MÚSCULO	Total de larvas por ratón
1	0	0	0	34	0	9	43
2	3	1	1	97	2	31	135
3	1	2	0	58	0	44	105
4	3	12	0	99	4	35	153
5	12	1	2	51	0	51	117
6	0	0	0	20	0	11	31
7	2	23	1	25	1	0	52
8	1	0	2	14	2	0	19
9	3	0	1	108	0	10	120
10	0	2	1	56	0	59	118
Total	25	41	8	560	9	250	893

En esta gráfica se puede observar el predominio en asentamiento de larvas en musculatura esquelética y tejido cerebral, con una reducción importante de larvas en hígado y pulmones, en función del papel que desempeñan esos órganos en la migración del parásito para su asentamiento definitivo, se observa también la presencia de cantidades constantes de larvas migratorias por riñón.

Tabla 7. Larvas de *Toxocara canis* en el grupo de ratones sometidos a tres tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.

RATÓN	HIGADO	RINÓN	PULMÓN	CEREBRO	CORAZÓN	MÚSCULO	Total de larvas por ratón
1	2	2	1	34	0	243	282
2	0	2	0	54	0	107	163
3	1	1	1	26	0	26	55
4	0	0	0	22	0	0	22
5	0	0	0	29	0	141	170
6	0	0	0	23	0	0	23
7	0	3	0	127	0	19	149
Total	3	8	2	315	0	536	864

Se puede observar en los tejidos de estos animales el mantenimiento de la concentración de larvas en tejido muscular esquelético y cerebro, con valores muy reducidos en tejidos distintos a los señalados anteriormente, que sin embargo, evidencian el movimiento de larvas hacia los sitios de mayor asentamiento.

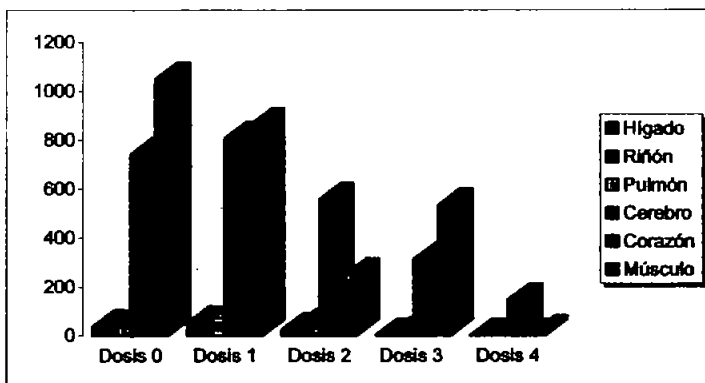
Tabla 8. Larvas de *Toxocara canis* del grupo de ratones sometidos a cuatro tratamientos con la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.

RATÓN	HÍGADO	RIÑÓN	PULMÓN	CEREBRO	CORAZÓN	MÚSCULO	Total de larvas por ratón
1	0	0	0	12	0	0	12
2	0	0	2	71	0	0	73
3	0	0	0	37	0	0	37
4	0	0	0	28	0	16	44
Total	0	0	2	148	0	16	166

En esta tabla se puede observar que se mantiene la tendencia a concentrarse las larvas en tejido muscular esquelético y cerebro pero ya con una notable reducción con respecto a los resultados observados en los demás grupos estudiados.

En la siguiente gráfica (gráfica 1) se compara el número de larvas recuperadas por tratamiento aplicado, siendo visible la reducción en las cuentas de larvas por tratamiento aplicado.

Gráfica 1. Comparación del número de larvas recuperadas de los ratones inoculados con huevos larvados de *Toxocara canis* con los diferentes esquemas de tratamiento a base de albendazol-ivermectina.



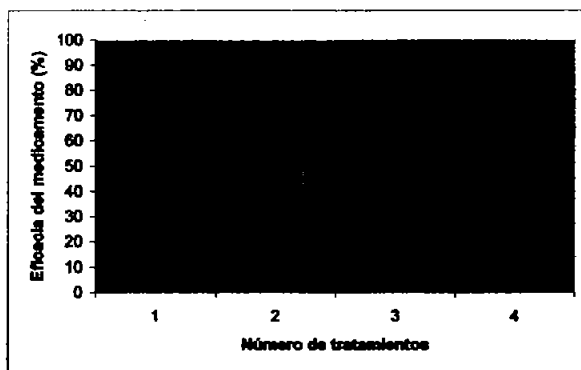
Tomando en cuenta el grupo sin tratamiento (grupo testigo) y haciendo una comparación entre todos los grupos tenemos los siguientes porcentajes de efectividad mostrados en la tabla 9.

Tabla 9. Porcentajes de eficacia por tratamiento en parasitismo total, músculo y cerebro con respecto al grupo control.

Tratamientos	Cerebro	Músculo	Totales
1	8.08%	17.79%	3.90%
2	24.62%	76.21%	53.51%
3	57.60%	49%	55.02%
4	80.08%	98.47%	91.35%

Aunque la efectividad del medicamento va en aumento como se muestra en la gráfica 2, con 4 tratamientos se eleva hasta el 91.35% posiblemente esto sea debido a que el número de unidades experimentales de ese grupo era reducido (4 ratones) por lo que posiblemente sea lo que está afectando a que el patrón de aumento de la efectividad se vea alterado.

Grafica 2. Comparación de la efectividad global de los medicamentos en los diferentes lotes de ratones inoculados con larvas de *Toxocara canis* sometidos a uno, dos, tres y cuatro tratamientos.

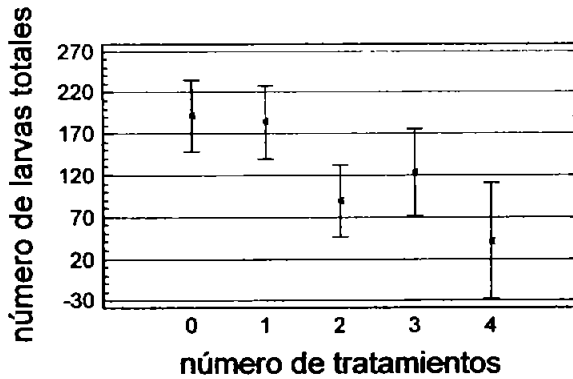


En esta gráfica se presentan los porcentajes de efectividad de la asociación albendazol-ivermectina en los diferentes tratamientos.

Se realizó un análisis de varianza multifactorial para comparar los resultados en cuanto al nivel de reducción de larvas entre los diferentes grupos de tratamientos, se obtuvo una $F_c = 6.0568 > F_t = 2.69$, que presentó significancia estadística $\alpha = 0.05$ lo cual demuestra que la aplicación de este esquema de tratamiento es adecuado para la eliminación de las larvas en los tejidos de los ratones infectados, la tabla de ANOVA de este análisis puede ser consultada en el anexo 1.

Para comparar las diferencias entre medias de grupos con los diferentes tratamientos se elaboró una gráfica en donde se muestra las medias y los intervalos de Tukey a una significancia del 5%. (gráfica 3).

Gráfica 3. Comparación entre la aplicación de diferente número de tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina contra larvas totales de *Toxocara canis* recuperadas mediante el proceso de digestión artificial

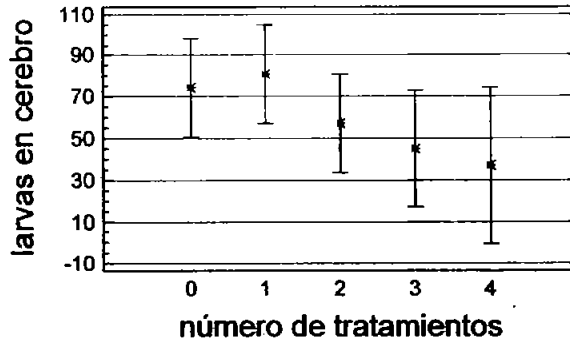


Donde 0 es igual al grupo testigo

En esta gráfica se puede observar que el tratamiento 0 y 1 son iguales, lo mismo que los tratamientos 2, 3, y 4; por lo que solamente hay una diferencia significativa ($\alpha=0.05$) entre los tratamientos 0-2, 0-4, 1-2 y 1-4. Por lo que son los únicos grupos en los que se pueden comparar los resultados de suministrar la asociación ivermectina-albendazol con los demás tratamientos no presentando diferencia significativa por lo que todas esas medias son iguales.

Se realizó también el análisis de varianza para los resultados encontrados en cuanto a cantidad de larvas en los cerebros de los diferentes grupos partiéndose de una H_0 = que no existe actividad contra larvas en cerebro, encontrándose una $F_c = 1.8097 < F_t = 2.69$ ($\alpha=0.05$) que no fue estadísticamente significativo, la tabla de ANOVA puede consultarse en el anexo 1.

Gráfica 4. Comparación del número de tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina contra larvas recuperadas de *Toxocara canis* en cerebro con el proceso de digestión artificial.

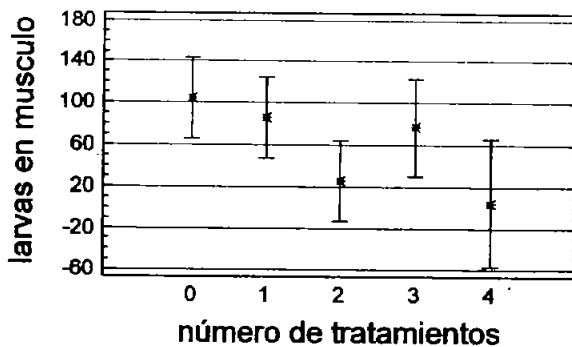


Donde 0 es igual al grupo testigo

Con los datos del ANOVA aplicado a tejido cerebral se elaboró la gráfica 4 la cual muestra que entre los tratamientos no hay diferencia significativa entre ningún grupo por lo que los valores son iguales.

Finalmente los resultados obtenidos de tejido muscular de los diferentes grupos se sometieron a un análisis de varianza partiendo de H_0 = los tratamientos no actúan contra las larvas en músculo esquelético, obteniendo una $F_c = 3.5865 > F_t = 2.69$ ($\alpha = 0.05$) que mostró significancia estadística, lo cual implica que la aplicación de varios tratamientos con la asociación albendazol-ivermectina si produce una disminución de la cantidad de larvas de *Toxocara canis* presentes en la musculatura esquelética, la tabla de ANOVA completa puede ser consultada en el anexo 1 y las diferencias entre medias de los diferentes grupos pueden ser observadas en la gráfica 5.

Gráfica 5. Comparación del número de tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina contra larvas recuperadas de *Toxocara canis* en músculo esquelético con el proceso de digestión artificial.



Donde 0 es igual al grupo testigo

Aquí lo que se puede ver es que el tratamiento 0-2 y 0-4 son significativamente diferentes entre ellos, el resto de los grupos no presentan diferencia significativa ($\alpha=0.05$).

15. DISCUSIÓN

Diferentes antihelmínticos han sido utilizados para eliminar estados larvarios de *Toxocara canis*, con los cuales se han realizado estudios para determinar su efectividad, en ese listado se incluye a la ivermectina, la cual pertenece a la familia de las lactonas macrocíclicas y en años recientes la competencia con los nuevos compuestos de esta misma familia que van cobrando importancia y popularidad por sus propiedades endectocidas que se van extendiendo prácticamente por todas las especies y han alcanzado ya a los seres humanos y por otro lado el albendazol, el cual pertenece al grupo de los bencimidazoles y que es altamente eficaz contra infestaciones por nematodos, por ello se utilizó la asociación de estos medicamentos aprovechando sus propiedades larvicidas con el fin de eliminar la mayor cantidad de los parásitos alojados en músculo y en cerebro, este último sitio de difícil acceso a los medicamentos.

Los resultados obtenidos después del análisis estadístico, mostraron que la asociación ivermectina-albendazol generó una reducción del 79% para el caso de larvas totales, del 50% en cerebro (no significativa) y del 90% para el caso de músculo esquelético. Por lo que la eliminación de larvas de *Toxocara canis* con los dos primeros tratamientos tiene porcentajes de disminución más importantes y las posteriores son de menor impacto invirtiéndose más tiempo y dinero.

Los antecedentes del uso de ivermectina contra larvas de *Toxocara canis* incluyen el estudio de Abo-Shehada y Hebert, en 1984 con un modelo de ratones aplicando ivermectina (0.2 mg kg^{-1} subcutánea y oral), así como levamisol (100 mg kg^{-1} oral y 150 mg kg^{-1} subcutáneo), fenbendazol (100 mg kg^{-1} oral) y albendazol (100 mg kg^{-1} oral). El periodo de tratamiento fue del día 2 al 7 posinfestación con 2000 huevos larvados de *Toxocara canis*, siendo sacrificados el día 8 y 35 posinfestación. Al día 8 de sacrificio con levamisol oral hubo un cambio en la zona de asentamiento de las larvas, recuperando la mayor cantidad en hígado con respecto al grupo control, así también para el levamisol subcutáneo no se produjo reducción larvaria alguna en ambos casos. Al día 35 de sacrificio hubo una disminución del 70% del parasitismo total con levamisol oral, mientras que con el tratamiento subcutáneo se alcanzó una reducción del 65%. En el caso de la ivermectina al día 8 de sacrificio, no hubo una

reducción en larvas recuperadas sin embargo, se encontró una modificación en la distribución de larvas teniendo la mayor cantidad en hígado, tanto para la forma oral como para la forma subcutánea. Mientras que para el día 35 de sacrificio, hubo una reducción del 80% tanto para la forma oral como para la subcutánea, pareciéndose esta reducción a nuestros resultados obtenidos con 4 tratamientos aplicados mensualmente. Para el caso del fenbendazol la reducción fue del 20%, mientras que para el albendazol fue del 38% del parasitismo total con respecto al control

Martínez y col. en 1993; también ensayaron con varios principios detectando que el producto más eficaz a dosis única contra larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones fue la ivermectina (0.2 mg kg^{-1} subcutánea) con un 91% de efectividad (que esta por encima de los valores reportados por Abo-Shehada y col. 1984), comparadas con metrifonato (50 mg kg^{-1} oral) con un 43% de efectividad, dietilcarbamazina (50 mg kg^{-1} oral) con un 45.5% de efectividad. Comparando nuestros resultados se obtiene el mismo porcentaje de efectividad con la ivermectina, sin embargo nosotros la obtuvimos aplicando 4 dosis mensuales. Lo cual nos indica que posiblemente estos 10 últimos años se haya ido reduciendo la actividad del producto.

Fok y Kassai, en 1998 trabajando con ratones inoculados con 1000 huevos larvados de *Toxocara canis*, aplicando ivermectina (0.6 mg kg^{-1} subcutáneo y oral) e ivermectina (6 mg kg^{-1} en el alimento), fenbendazol (1.6 g kg^{-1} , 6 g kg^{-1} y 9.6 g kg^{-1} en el alimento) y albendazol (1.6 g kg^{-1} y 3 g kg^{-1} en el alimento) comenzando el tratamiento el día 87 postinfestación con una duración de 10 días de tratamiento para la ivermectina y albendazol (1.6 g kg^{-1}), de 20 días para fenbendazol (1.6 g kg^{-1} , 6.0 g kg^{-1} y 9.6 g kg^{-1}) y albendazol (1.6 g kg^{-1}) y de 30 días para en fenbendazol (1.6 g kg^{-1} , 6.0 g kg^{-1}) y albendazol (3.0 g kg^{-1}). Obteniendo la mayor reducción de larvas (98%) para el fenbendazol a dosis de 6.0 g kg^{-1} suministrada en el alimento, seguido del albendazol a dosis de 1.6 g kg^{-1} (97.1 % de reducción larvaria), una reducción del 33.5% de larvas para el caso de la ivermectina administrada oralmente (0.6 mg kg^{-1}), 10.5% de reducción de larvas aplicando ivermectina subcutánea (0.6 mg kg^{-1}) y del 7.6% de reducción con ivermectina mezclada en el alimento (6.0 mg kg^{-1}). Lo cual sugiere que la ivermectina aplicada subcutáneamente a dosis muy elevadas (6.0 mg kg^{-1}) y aplicándola 10 días consecutivos no tuvo un efecto significativo en la reducción

de larvas, por lo que nuestra trabajo presenta mejores alternativas y modelos de aplicación para obtener una mejor efectividad aún 6 años después de este estudio.

Carrillo y Barriga en 1987, utilizando ratones inoculados con 1000 huevos larvados de *Toxocara canis* los trataron con levamisol (6 mg kg⁻¹ y 12 mg kg⁻¹ subcutáneamente) y con ivermectina (0.2 mg kg⁻¹ y 0.4 mg kg⁻¹ intramuscular), aplicadas los días 16 al 28 y siendo sacrificados el día 33 posinfestación, obteniendo los siguientes resultados: Utilizando levamisol a 6 mg kg⁻¹ se encontró una reducción en el conteo de larvas del 12.54%, con 12 mg kg⁻¹ (dosis toxica en el perro) encontraron una reducción del 64.25%, con ivermectina a 0.2 mg kg⁻¹ no encontraron reducción alguna ya que el numero de larvas totales fue superior en el tratamiento de ivermectina con respecto al control. Sin embargo la ivermectina a dosis de 0.4 mg kg⁻¹ tuvo una reducción de larvas del 43.12%. Con respecto a nuestro trabajo obtuvimos hasta un 91.35% de eficacia con 4 tratamientos aplicados mensualmente, siendo superior la efectividad a la que ellos encontraron con la dosis de ivermectina de 0.2 mg kg⁻¹.

Samanta y Ansari en 1990 compararon la actividad de la ivermectina en dosis de 0.2 mg kg⁻¹ subcutáneamente, el albendazol, el fenbendazol en dosis de 100 mg kg⁻¹ oral y el tiabendazol en dosis de 150 mg kg⁻¹ oral, los cuales se suministraron a las 24 horas de la infestación con L2 de *Toxocara canis* y diariamente por siete días posteriores y sacrificaron a los animales experimentales a los 10, 20 y 30 días postinfestación y encuentran que el albendazol genera una reducción promedio del 51.4%, con fenbendazol del 36.6%, con tiabendazol del 22.5% y con la ivermectina del 54.4%. En tanto el efecto sobre larvas presentes en cerebro fue del 89% para el albendazol, 92% para la ivermectina, para fenbendazol del 64% y para tiabendazol del 50%. Nuestros resultados presentaron una efectividad superior (92% de efectividad) en la reducción de larvas totales no siendo así para el caso de cerebro donde tuvimos una reducción del 80%, siendo comparados con este estudio.

Velebny y col. en el 2000 utilizando formulaciones liposomales de albendazol con glucanos y administrándolo subcutáneamente a ratones infestados con larvas de *Toxocara canis* usando dosis de 25 mg kg⁻¹, 2 veces al día durante 5 días después del día 28 posinfestación encontraron una eficacia del 62.8% en músculo y del 88%

en cerebro. Esta formulación liposomizada permite una liberación gradual y efectiva del principio logrando un 92.2% de efectividad, los datos previos sugieren que el albendazol si es capaz de eliminar larvas en cerebro, pero se requiere de incrementar la dosis y biodisponibilidad del medicamento en el organismo , la dosis empleada en este trabajo (5 mg kg^{-1}) fue cinco veces menor y aunque se uso ivermectina, esta no tiene capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica y destruir las larvas en el cerebro.

López y Mejía en 2002 encontraron una eficacia del 88.58% de eliminación de larvas de tejidos muscular y cerebral, después de 5 tratamientos mensuales con ivermectina a una dosis de 200 mcg kg^{-1} muy similar al porcentaje de eficacia encontrado en el presente trabajo.

González y Morales en el 2002 encontraron una eficacia del 50.13% para la ivermectina a dosis única de 200 mcg kg^{-1} , sin embargo la eficacia del presente trabajo fue superior debido al uso de la sinergia con albendazol en varias dosis en tanto que ellos suministraron una sola dosis.

Los estudios previos encontrados en la literatura muestran resultados variados con respecto al uso de la ivermectina y del albendazol, en este trabajo se pretendió utilizar las propiedades de estos principios como asociación para atacar la problemática que se tiene en la eliminación eficaz de larvas tanto en músculo esquelético como cerebro en un modelo murino inicialmente, con la intención de llevarlo después a la especie de interés. Los resultados obtenidos en nuestro trabajo muestran una reducción total de larvas (91.35%) que está dentro del rango de efectividad reportado en los últimos 20 años. Sin embargo, el uso del albendazol en este trabajo podría estar siendo un factor importante en esta efectividad, ya que la dosis utilizada de albendazol de 5 mg kg^{-1} no fue la suficiente como para eliminar las larvas alojadas en el cerebro o que la interacción albendazol-ivermectina esté antagonizando el efecto del albendazol. La alternativa más conveniente para los estudios posteriores sería utilizar la misma asociación de principios (albendazol-ivermectina) incrementado la dosis de albendazol, aumentando la frecuencia de aplicaciones de albendazol y aplicando el albendazol junto con glucano liposomizado como adyuvante como refieren Velebny y col. en el 2000.

16. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos sugieren que el uso de la asociación albendazol-ivermectina a las dosis utilizadas en este trabajo no resultan en una eliminación total de los estados larvarios de *Toxocara canis*, debiendo optarse por el uso de otras alternativas de administración del albendazol para provocar una mayor reducción en la carga larvaria de órganos con difícil acceso a los medicamentos, como en el caso de cerebro.

La remoción obtenida con el uso de la asociación usada (albendazol-ivermectina) a una sola dosis es del 3.90%, para la segunda dosis 53.51%, para la tercera dosis del 55.02% y para la cuarta dosis del 91.35% del parasitismo total.

Siendo la mayor remoción de larvas en músculo esquelético, ya que en corazón, pulmones, hígado y riñón casi no se observaron larvas debido a que son órganos de paso y al tiempo de sacrificio en el que se desarrollo este trabajo. Por lo que se sugiere ajustar la dosis de albendazol utilizada en el presente trabajo como una posible alternativa para el tratamiento de la larva migrans visceral.

17. BIBLIOGRAFÍA

1. Abo-Shehada, M.N y Herbert, I.V., Anthelmintic effect of levamisole, ivermectin, albendazole and febendazole on larval *Toxocara canis* infection in mice. Res. Vet. Sci. 36, 87-91. 1984.
2. Arena, J.P., Liu, K.K., Pares, P.S., Frazier, E.G., Culli, D.F., Mrozik, H y Schaeffer, J.M., The mechanism of action of avermectins in *Caenorhabditis elegans*: correlation between activation of glutamate-sensitive chloride current, membrane binding, an biological activity. J. Parasitol. 81, 286-294. 1995.
3. Bardón, R., Cuéllar, C. y Guillén, J., Evaluation by larval recovery of mebendazol activity in experimental murine toxocarosis. Int. J. of Parasitol. 25:5, 587-592. 1995.
4. Barriga, O.O., A critical look at the importance, prevalence and control of toxocarosis and the possibilities of immunological control. Vet. Parasitol. 29, 195-234. 1988.
5. Barron, C.N y Saunders, L.Z., Visceral larva migrans in the dog. Pathol. Vet. 3, 315-30. 1966.
6. Burke, T.M y Roberson, E.L., Prenatal and lactational transmission of *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*: experimental infection of the bitch before pregnancy. Int. J. Parasitol. 15, 71-5. 1985.
7. Carrillo, M. y Barriga, O.O., Anthelmintic effects of levamisole, hydrochloride or ivermectin on tissue: toxocariasis of mice. Am J. Vet Res. 48:21, 281-283. 1987.
8. Conception, J.E y Barriga, O. O., Transfer of infection- induced protection to *Toxocara canis* in a mouse model. Vet. Immunol. Immunopathol. 9, 371-82, 1995.
9. Cordero del Campillo M., Rojo F.A., Martínez A.R., Sánchez M.C., Hernández, S., Navarrete I., Díez P., Quiroz H. y Carvahlo M., Parasitología veterinaria. Editorial Mc. Graw-Hill-Interamericana 1999.
10. Dubey, J.P., Patent *Toxocara canis* infection in ascarid- naïve dogs. J. Parasitol. 64, 1021-3. 1978.
11. Dubinsky, P. Havasiova- Reiterova, K., Petko, B., Havorka, I. y Tomas Ovicova, O., Role of Small mammals in the epidemiology of toxocarosis, Parasitology, 110, 187-93, 1995.
12. Fernández, C.F. y Canto, A.G., Frecuencia de helmintos en intestinos de perros sin dueño sacrificados en la ciudad de Querétaro, Querétaro, México. Vet. Mex 33(3). 2002.
13. Figueroa, C.J., Ramírez, G.A., Ramos, M.E. y Salas, G.B., Imágenes de parásitos, colección original. 2002.

14. Finkelman F.D., Pearce E.J., Urban J.F. y Sher A., Regulation and biological function of helminth cytokine responses. *Immunoparasitol Today*. 12, A62-A66. 1991.
15. Flores A. J., Toxocariosis: zoonosis por nematodos. *Nuestros perros* No. 5. 1992.
16. Fok, E. y Kassai, T., *Toxocara canis* infection in the parasitic host: a study on the chemosusceptibility of the somatic larvae in mice. *Vet. Parasitol.* 74. 243-259. 1998.
17. Gillespie, S. H., Human toxocariasis. *Communicable Disease Report* 3 230-50.1993.
18. Gillespie, S. H., Human toxocariosis, a review, *V. Appl. Bact.* 63. 473-9.1987.
19. Gillespie, S.H. y Pearson, R.D., *Principles and Practice of Clinical Parasitology*. Ed. Wiley Johon. Inglaterra. 2001.
20. Glickman, L.T, Dubey, J.P. y Winslow, L.J., Serological response of ascarid-free dogs to *Toxocara canis* infection. *Parasitology*. 82. 383-7. 1981.
21. González, P. G. y Morales, M. F., Evaluación comparativa de la actividad antiparasitaria de la ivermectina, moxidectina y doramectina contra larvas enquistadas de *Toxocara (T.) canis*. Tesis. FESC-UNAM. 2002.
22. Goodman & Gilman., *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Vol II. Ed. Mc Graw Hill- Interamericana. México. 1996.
23. Grieve , R.B., Stewart, V.A. y Parsons, J.C., Immunobiology of larval toxocariasis (*Toxocara canis*): a summary of recent research in *Toxocara* and Toxocariasis, clinical, epidemiological and molecular perspectives, Lewis, J.W and Maizels R.M, Eds. *British Society for Parasitology and institute of Biology*, 117- 24. 1993.
24. Havasiová-Reiterová K., Tomasovicová O. y Dubinský P. Effect of various doses of infective *Toxocara canis* and *Toxocara cati* eggs on the humoral response and distribution of larvae in mice. *Parasitol. Res.* 81, 13-17. 1995.
25. Hiratochi, M., Takamoto, M., Tatemichi, S. y Sugane, K., Inhibition of interleukin 5 production with no influence on interleukin 4 production by an anti-allergic drug, tranilast, in *Toxocara canis*- infected mice. *Int. J. of Immunopharma.* 22, 463-471. 2000.
26. Jiménez, C. B., Salgado, V. G., Castro, O. L y Cabirol N., Laboratorio de microbiología, grupo tratamiento y reúso, Coordinación de bioprocesos ambientales. Ciudad Universitaria. UNAM.2001
<http://www.cdfound.to.it/HTML/blanca.htm>
27. Jin Luo. Z., Xi-Wang, G., Yang, C., Wen Cheng,S. y Lino, L., Detection of circulating antigens and antibodies in *Toxocara canis* infection among children in Chengdu, China. *J. Parasitol.* 85:2. 252-285. 1999.

28. Johnstone, C., Parasites and Parasitic Disease of Domestic Animals. University of Pennsylvania. 2000.
29. Kasai, T., Chemotherapy of larval toxocariasis: progress and problems. Overview from veterinary aspects. *Helminthologia*. 32, 133-41, 1995.
30. Kerr-Muir M.G., *Toxocara canis* and human health. *British J. Med.* 309, 5-6. 1994.
31. Köhler P., The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *Int. J. of Parasitol.* 31. 336-345. 2001.
32. Lloyd, S., Amersinghe, P.H y Soulsby, E.J.L., Periparturient immunosuppression in the bitch and its influence on infection with *Toxocara canis*. *J. Small. Anim. Pract.* 24, 237-47.1983.
33. Lloyd, S., *Toxocara canis*: the dog in *Toxocara* and toxocariasis, clinical, epidemiological and molecular perspectives. Lewis, J.W and Maizels, R.M, Ed S. British Society for Parasitology and Institute of Biology, 11-24. 1993.
34. López, H. E. y Mejía, M. J., Efecto de dosis repetitivas de ivermectina sobre larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos. Tesis. FESC - UNAM. 2002.
35. Maizels R.M., Tetteh K.A. y Loukas A., *Toxocara canis*: genes expressed by the arrested infective larval stage of a parasitic nematode. *Int. J. of Parasitol.* 30, 495-508. 2000.
36. Maizels, R., Biology of *Toxocara canis*, *Toxocara* page. 1999.
http://helios.bto.ed.ac.uk/icapb/maizels/rmm_ToXocara.html
37. Maizels, R.M y Meghji, M., Repeated patent infection of adult dogs with *Toxocara canis*. *J. Helminthol.* 58, 327-33, 1984.
38. Martínez, B.I., Gutiérrez, Q.M., Fernández, P.A., Pérez, L.M., Vázquez, T.O y García Y.Y., Reactividad serológica a un antígeno de *Toxocara canis* en una población escolar. *Rev. Mex. Patol. Clin.* 44(2) 85-89. 1997.
39. Martínez, L., Apuntes de parasitología humana. FESC-UNAM. 2000.
40. Martínez, L., González, L.C., Carrillo, M.L. y Alba, H.F., Estudio comparativo sobre la eficacia de diferentes antihelmínticos contra larvas enquistadas de *Toxocara canis*. Congreso AMMVEPE, Monterrey, Nvo. León, México. 1993.
41. Mustoe, T., *Toxocara canis*: a review. Stage 3 Biological Imaging. *Independieny studies*.1999.
<http://vertigo.derby.ac.uk/BiologicalImaging/Shows/fvs99/tm/toxocara520canis.pdf>
42. Oshima, T., Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations on the normal migration routes of the larvae. *J. Parasitol.*, 47, 652-61.1961.

43. Overgaauw, P. A. M., Prevalence of intestinal nematodes of dogs and cats in the Netherlands. *Vet. Quart.* 19, 14-7. 1997. (a)
44. Overgaauw, P.A.M., Aspects of *Toxocara* Epidemiology: Toxocarosis in Dogs and Cats. *Crit. Rev. Microbiol.* 23(3), 233-251.1997. (b)
45. Overgaauw, P.A.M., Aspects of *Toxocara* epidemiology, human Toxocarosis., *Crit. Rev. Microbiol.* 23: 215-231. 1997. (c)
<http://www.library.uu.nl/digiarchief/dip/diss/01754824/c2.pdf>
46. Parsons, J. C. y Grieve R. B., Kinetics of liver trapping of infective larvae in murine toxocarosis. *J. Parasitol.* 76:4, 529-536. 1990.
47. Parsons, J.C., Ascarid infections of cats and dogs. *Vet. Clin. N. Am.* 17. 1307-13.1987.
48. Parsons, J.C., Bowman. D.D. y Grieve, R.B., Pathological and haematological responses of cats experimentally infected with *Toxocara canis* larvae. *Int. J. of Parasitol.* 19:5, 474-488. 1989.
49. Pong, S., Wang, C.C. y Fritz, L.C., Studies on the mechanism of action of avermectin B_{1a}: stimulation of release of gamma-aminobutyric acid from brain synaptosomes. *J. Neurochem.* 34, 351-358. 1980.
50. Quiroz, R.H., Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. Noriega editores. México, 2002.
51. Radman, N.E., Archelli, S.M., Fonrouge, R.D., Guardis M del V. y Linzitto, O.R. Human Toxocarosis. Its seroprevalence in the city of La Plata. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* Rio de Janeiro. 95:3. 281-285. 2000.
52. Ridley, R.K., Dryden, M.W., Gabbert, N. H y Schoning, P., Epidemiology and control of helminth parasites in Greyhound breeding farms. *Comp. Con. Educ. Pract.*, 16, 585-99, 1994.
53. Rodríguez-Vivas, R., Cob-Galera, L. y Domínguez-Alpizar, J., Frecuencia de parásitos gastrointestinales en animales domésticos diagnosticados en Yucatán, México. *Rev. Biomed.* 12(1). 2001.
54. Ryan, W.G., Ivermectin/Doramectin/Moxidectin – Structure and Generation. *Vet. Bull.* 1999.
55. Samanta, S. y Ansari, M.Z., Anthelmintic effect of ivermectin, albendazole, fenbendazole and thiabendazole on larval *Toxocara canis* infection in mice. *Ind. J. of Anim. Sci.* 60:10, 1195-1196. 1990.
56. Schön, J. y Stoye, M., Prä- und galaktogene infektionen mit *Toxocara mystax* ZEDER 1800 (Anisakidae) bei der maus. *J. Vet. Med. B.* 33, 397-412. 1986.

57. Scothorn, M.W., Koutz, F.R. y Groves, H.F., Prenatal *Toxocara canis* infection in pups. J. Am. Vet. Med. Assoc. 146, 45-8. 1965.
58. Shoop, W.L., Ostlind, D.A., Roher, S.P., Mickle, G., Haines, H.W., Michael, B.F., Mrozik, H. y Fisher, M.H., Avermectins and milbemycins against *Fasciola hepatica*: in vivo drug efficacy and in vitro receptor binding. Int. J. Parasitol. In press. 1995.
59. Shore, G.L., Diagnostic Medical Parasitology. Ed. ASM Press. Estados Unidos. 2001.
60. Sprent, J.F.A., Observations on the development of *Toxocara canis* (Werner, 1782) in the dog. Parasitology. 48, 184-209, 1958.
61. Steele, J.W., NRA Special Review of Macrocytic lactones. Chemical Review Section. Canberra Australia. 1998. <http://www.nra.gov.au/chemrev/macdac.pdf>
62. Stejkskal, V.M y Johansson, I.G., Immunological aspects of *Toxocara canis* infection in Beagle dogs, Proceedings of the XI Symposium of the Scandinavian Society for parasitology. Stockholm, Sweden, 18-9, august 17 to 19. 1983.
63. Sturchler, D., Schubarth, P., Gualzata, M., Gottstein, B. y Oetti, A., Thiabendazole vs. Albendazole in treatment of toxocarosis: a clinical trial. Ann. Trop. Med. Parasitol. 83:5, 473-8. 1989.
64. Sumano, H., Ocampo, L. y Pulido, E., Manual de Farmacología clínica para pequeñas especies. Ediciones Cuellar. México. 2000.
65. Thienpont, D., Rochette, F. y Vanparijs, O., Diagnóstico de las helmintiasis. Jan. Res. Foun. Bélgica. 1979.
66. Tolan R.W., Konop R., Barton L.L., Raunch D. y Steele R., Toxocarosis. Medicine Journal. 2-5. 2001.
67. Tomimura, T., Yokota, M. y Tokiguchi, H., Experimental visceral larva migrans in monkeys. I. clinical, hematological, biochemical and gross pathological observations on monkeys inoculated with embrionated eggs of the dog ascarid, *Toxocara canis*. Jap. J. Vet. Sci. 38: 533-548. 1976.
68. Velebny, S., Hrcikova, G. y Tomasovicova, O., *Toxocara canis* in mice: effect of stabilised liposomes on the larvicida efficacy of febendazole and albendazole. Helminthologia. 37, 195-198. 2000.
69. Warren, E.G., Infections of *Toxocara canis* in dogs fed infected mouse tissues. Parasitology. 59, 837-41. 1969.
70. Zimmerman, V., Löwenstein, M.D y Stoye, M., Untersuchungen isber die wanderung aund streuung der larven van *Toxocara canis* WERNER 1782 (Anisakidae) im definitiven wirt (be3agle) nach Erst- und reinfection. Z. Vet. Med. B., 32, 1 -28, 1985.

ANEXO 1

Tabla de análisis de varianza para el total de larvas de *Toxocara canis*

FV	g.l	SC	CM	Fc
Tratamientos	4	113410.92	28352.73	6.0568
Error	36	168520.18	4681.12	
Total	40	281931.10		

$$F_t = 2.69 \quad \alpha = 5\%$$

Planteamiento de hipótesis:

H_0 = Los tratamientos no actúan contra las larvas en todo el ratón

H_1 = Los tratamientos actúan contra las larvas en todo el ratón

$F_c > F_t = 6.7338 > 2.69$ por lo tanto: **Se rechaza H_0 .**

Conclusión: El tratamiento actúa contra las larvas en total.

Tabla de análisis de varianza para cerebros

FV	g.l	SC	CM	Fc
Tratamiento	4	9941.44	2485.36	1.8097
Error	36	49439	1373.31	
Total	40	59380.44		

$$F_t = 2.69 \quad \alpha = 5\%$$

Planteamiento de hipótesis:

H_0 = Los tratamientos no actúan contra las larvas en cerebro

H_1 = Los tratamientos actúan contra las larvas en cerebro

$F_c < F_t = 1.2719 < 2.69$ por lo tanto: **Se acepta H_0 .**

Conclusión: Los tratamientos no actúan contra las larvas en cerebro.

Tabla de análisis de varianza para músculos esqueléticos

FV	g.l	SC	CM	Fc
Tratamientos	4	52415.05	13103.76	3.5865
Error	36	131529	3653.58	
Total	40	183944.05		

$$F_t = 2.69 \quad \alpha = 5\%$$

Planteamiento de hipótesis:

H_0 = Los tratamientos no actúan contra las larvas en músculo esquelético

H_1 = Los tratamientos actúan contra las larvas en músculo esquelético

$$F_c > F_t = 4.8469 > 2.69 \quad \text{por lo tanto se rechaza } H_0.$$

Conclusión: Los tratamientos si actúan contra las larvas en el músculo esquelético.



2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA TOXOCARIOSIS

La toxocariosis es una de las más importantes enfermedades parasitarias de perros y otros cánidos. Su distribución geográfica es cosmopolita con alta incidencia, patogenicidad e importancia como problema de salud pública (Quiroz, 2002). Esta reportado que en Europa del Oeste los rangos de infestación varían del 3.5% al 17% y en Estados Unidos es del 2% al 79%. La prevalencia de la infestación por fases adultas de *Toxocara canis* es alta en perros jóvenes y mucho menos en animales adultos. (Overgaaauw, 1997a)

Fernández y Canto, 2002 en Querétaro encontraron una frecuencia de nematodos del 64.60% y de cestodos del 58.20% en perros sin dueño, los géneros y especies más encontrados de nematodos fueron *Ancylostoma caninum* (55.22%), *Toxocara canis* (13.93%) y *Toxascaris leonina* (11.91%). Rodríguez-Vivas y col. 2001 en Yucatán encontraron resultados similares *Ancylostoma sp.* 37.36%, *Toxocara sp.* 7.75% y *Toxascaris leonina* 1.51%.

El comportamiento del parásito incluye no solamente la llamada migración traqueal, que se realiza en perros susceptibles, sino también una interesante variación en la migración en hospederos parcialmente susceptibles, esta migración es somática, con larvas en varios tejidos, migrando y en hipobiosis, y con acumulación por periodos prolongados, que dan origen a la infestación prenatal (trasplacentaria) y poscalostrál (lactogénica) que amplifica la transmisión de esta parasitosis. (Quiroz, 2002)

La fuente de infestación son los perros y otros carnívoros que contaminan con sus heces el suelo, los huevos contaminan el alimento de los propios cánidos, de una serie de hospederos paraténicos, incluyendo al hombre, que sufren la infestación y el desarrollo larvario a cualquier edad denominado larva migrans. (Quiroz, 2002)

La prevalencia de *Toxocara canis* en los perros es muy alta debido, sobre todo, a la eficacia de la transmisión prenatal, por lo que la mayoría de los cachorros recién nacidos tendrán *Toxocara canis*. Numerosos estudios arrojan una positividad desde el 5% hasta más del 80% en los resultados; los cuales dependen de la edad,

procedencia de los animales, condiciones higiénico-sanitarias e incluso de las diferencias en los procedimientos de diagnóstico. (Cordero del Campillo y col. 1999)

Los perros mayores de seis meses suelen tener menos toxocaras adultos en el intestino que los cachorros, en los que son muy frecuentes, particularmente en criaderos cuyas condiciones favorecen la contaminación ambiental con huevos del parásito. (Maizels, 1999)

Las hembras de *Toxocara canis* son muy prolíficas ya que liberan hasta 200,000 huevos por día, de modo que en los estudios coprológicos de cachorros son habituales las eliminaciones de varios miles de huevos por gramo de heces, los cuales resisten bien las condiciones del medio y muchos desinfectantes de uso común. Las condiciones medio ambientales, especialmente la temperatura, humedad y tensión del oxígeno, influyen en el desarrollo de las larvas infestantes que puede durar 2-5 semanas, a 26-30°C, e inmersos en agua. (Cordero del Campillo y col. 1999)

Ocasionalmente intervienen hospedadores paraténicos (roedores, aves, etc.) en los que se encuentra con cierta frecuencia larvas tisulares, lo que presenta otra posibilidad de infestación para el perro. Los huevos de *Toxocara canis* pueden ser ingeridos por una variedad de hospederos paraténicos como gusanos de tierra, ratas, ratones, palomas, pollos, borregos, ovejas, cerdos, tortugas y muy significativamente los humanos. La infestación humana ha sido clásicamente asociada a la geofagia, pero la ingestión de huevos puede ocurrir mediante manos con heces contaminadas, por comer vegetales y productos animales crudos contaminados. (Cordero del Campillo y col. 1999; Parsons y col. 1989; Gillespie y Pearson, 2001)

En México, algunos autores han determinado la presencia y frecuencia de esta enfermedad. (Tabla 1)

Tabla 1. Frecuencia de la toxocariosis en perros en diversas localidades de México

Autor	Año	Muestras fecales	% positivos	Ciudad
Franyutti	1970	300	9.6	Veracruz, Ver.
Sosa	1971	200	13.5	Córdoba, Ver.
Garza	1972	100 necrop.	5	Monterrey, N.L.
De la Mora	1973	450	16.2 (zona urbana) 16 (suburbana) 8 (rural)	Jalisco
Hinojosa	1973	50	30	Tamaulipas
Vargas	1974	719	15	Cuernavaca
Mejía	1973	979	28	Sureste Cd. México
Castillo	1969	50	20	—
Flores	1955	100 necrop.	30	Cd. México

(Quiroz, 2002)

— En el texto no se menciona la ciudad.

Nota: En el estudio no se menciona la edad ni el estado de los perros, por lo que los resultados tan bajos pueden deberse a que el estudio se hizo en base al conteo de huevos en las heces.

La incidencia mundial de *Toxocara canis* muestra que la frecuencia es del 96-100% en cachorros y del 3-81% en perros adultos. (Havasiová-Reiterová y col. 1995)

La tendencia de algunos niños de comer tierra (pica) es el factor principal de riesgo de la infestación. La compulsión de comer tierra por un desorden conductual puede afectar del 2-10% de los niños de entre los 1-6 años de edad. La pica geofágica esta frecuentemente asociada con deficiencias de hierro o zinc. Alrededor del 40% de los pacientes con complicaciones oculares relacionadas con éste parásito mostraron una historia clínica de pica. (Overgaaauw, 1997b)

Martínez y col. en 1997 realizaron un estudio en la Ciudad de México, para detectar antígenos de *Toxocara canis* en niños de 6 a 13 años, obtuvieron que el 7.5% del total de sueros fue positivo con títulos 1:32 o mayor. El 64.3% correspondieron a niños y el 35.7% a niñas. El mayor número de sueros positivos se presentó en niños de 7 y 9 años de edad.

La toxocariosis humana, conocida como el síndrome de larva migrans, es un serio problema epidemiológico en muchos países. Se han descrito tres formas clínicas de la toxocariosis, larva migrans visceral (LMV), larva migrans ocular (LMO) y toxocariosis encubierta. El hombre actúa como hospedero terminal en donde la larva de *Toxocara canis* no continuará con su desarrollo, pero migrará y sobrevivirá por mucho tiempo (Overgaauw, 1997b). Esta enfermedad es predominante en los niños. Los varones son infestados mas a menudo que las mujeres (a razón de 1.5:1); esto refleja una gran probabilidad de infestación asociada al comportamiento en los niños. La enfermedad ocular es más común entre los 5 y 12 años de edad. La enfermedad visceral puede desarrollarse a todas edades, pero es más probable que ocurra en niños menores de 5 años de edad. (Gillespie, 1987)

Las personas que habitan en ambientes contaminados con huevos de *Toxocara spp.* también están expuestos a un gran riesgo de infestación. La seroprevalencia en poblaciones humanas ha sido estimada entre el 2 al 19% en adultos y del 5 al 23% en niños, siendo especialmente relevantes los valores del 86% en Santa Lucía, 83% en el Caribe, 39% en Brasil y 81% en Nepal (Tabla 2). (Havaslová-Reiterová y col. 1995; Gillespie, 1987; Overgaauw, 1997b; Tolan y col. 2001)

Tabla 2. Seroprevalencia de anticuerpos hacia *Toxocara canis*

Área	Muestra de la Población	Seroprevalencia	Referencia
Bedford, Ing.	Niños	14.6%	Josheps DS.
Londres	Sangre de adultos donadores	2.6%	De Savigny DH.
Australia	Sangre de adultos donadores	7%	Nicholas WL.
St. Lucia	Niños	86%	Thompson DE.
Suecia	Adolescentes	7%	Ljungstrom I.
Venezuela	Clase media	1.8%	Lynch NR.
Venezuela	Clase baja	20%	Lynch NR.
Venezuela	Granjeros	25.6%	Lynch NR.
Venezuela	Indios amazónicos	34.9%	Lynch NR.
EUA	niños	4.6-7.3%	Hermann N.
Alemania	niños	2.5%	Lamina J.
El Caribe	niños	83%	Thompson DE.
Países bajos	niños	19%	Tolan R.
Brasil	niños	39%	<i>Idem.</i>
Rep. Checa	niños	5.8-36%	<i>Idem.</i>
España	niños	0-37%	<i>Idem.</i>
Cuba	niños	5.2%	<i>Idem.</i>
Jordania	niños	1.09%	<i>Idem.</i>
Colombia	niños	47.5%	<i>Idem.</i>
Nepal	niños	81%	<i>Idem.</i>
Rep. Eslov.	niños	13%	<i>Idem.</i>

(Tolan y col. 2001; Gillespie, 1993; Overgaauw, 1997c)

Aunque hay casos reportados de muertes repentinas debido a la infestación por *Toxocara canis*, la muerte es muy inusual. La principal alteración es la disminución de la agudeza visual. Algunas evidencias sugieren que la toxocariosis puede ser uno de los factores causantes de asma y su persistencia puede afectar la calidad de vida, esto asociado con el síndrome de fatiga crónica. (Tolan y col. 2001)

3. MORFOLOGÍA

Los adultos (Figura 1) machos de *Toxocara canis* miden de 4 a 10 cm. por 2 a 2.5 mm. de diámetro y las hembras de 5-18 cm de largo por 2.5 a 3 mm. de diámetro. Presentan 3 labios, en el extremo anterior, poseen alas cervicales que les dan aspecto de punta de flecha. En el extremo posterior del macho se observan de 20 a 30 papilas preanales, 5 postanales y un estrechamiento terminal en forma de apéndice. (Cordero del Campillo y col. 1999)

La larva dos (L2) de *Toxocara canis* mide aproximadamente 500 micrómetros (μm) de longitud por 20 μm de ancho, con motilidad activa y algunas características morfológicas que comparte con las formas adultas. (Figura 2) (Flores, 1992)

Figura 1. Fotografía de gusanos adultos hembra y macho de *Toxocara canis*



(University of Wisconsin-Madison)

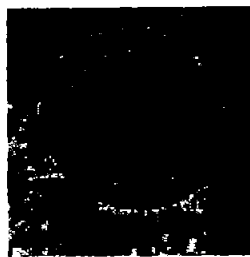
Figura 2. Fotografía de una larva de *Toxocara canis*.



(Thienpont y col, 1979)

Los huevos son subesféricos (Figura 3) con una cubierta gruesa, finamente granulada y miden de 85 a 95 µm por 75 a 90 µm. La cáscara del huevo presenta varias capas, la externa albuminosa, otras tres quitinosas, otra fibrilar e internamente la capa lipoidea, la cual proporciona una fuerte resistencia frente a las agresiones del medio exterior, en cualquier fase del desarrollo. Toleran perfectamente el frío y en condiciones óptimas de humedad y temperatura pueden conservar su vitalidad durante meses. (Flores, 1992)

Figura 3. Fotografía de huevo no larvado (izquierda) y larvado (derecha) de *Toxocara canis*



90 µm

(Thienpont y col, 1979)



45 µm

(Jiménez, 2001)

4. CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico de *Toxocara canis* es complejo (Figura 6), con cuatro posibilidades de transmisión: directa, mediante la ingestión de huevos embrionados; placentaria o congénita; lactogénica, por la leche materna y a través de la ingestión de hospedadores paraténicos. (Cordero del Campillo y col. 1999)

El ciclo biológico de *Toxocara canis* empieza cuando en las heces salen los huevos del parásito y se dispersan; en donde, si las condiciones de temperatura y humedad son óptimas, se desarrollan la segunda larva (infestante) dentro del huevo. Los perros se infestan por ingestión de huevos con la L2; ésta eclosiona en el intestino (Figura 4) y penetra la pared intestinal; la subsecuente migración está determinada por edad, sexo, estado reproductivo e infestaciones previas. En los cachorros menores de tres meses, las larvas pasan por vía linfática o sanguínea a los ganglios linfáticos o al hígado, donde continúan su migración al corazón y pulmones, la mayoría de las larvas pasan por los bronquios, tráquea, faringe y aquí son deglutidas. La muda para el tercer estado larvario es en el pulmón, tráquea y esófago. En el intestino delgado (Figura 5) se realiza la siguiente muda, que da lugar a la cuarta larva, crece y cópula y 4-5 semanas después los huevos salen en las heces. (Quiroz, 2002)

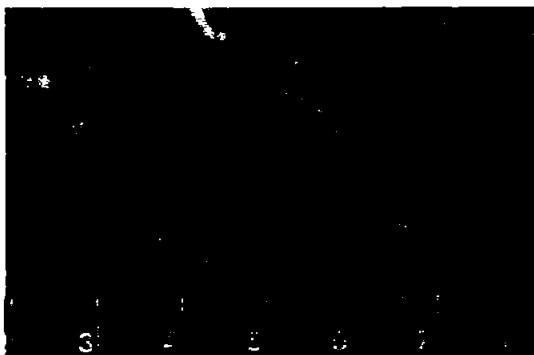
Figura 4. Larvas de *Toxocara canis* (L2) eclosionando del huevo



(Jiménez, 2001)

Algunas larvas cuando están en el pulmón regresan al corazón por la vena pulmonar y luego son distribuidas por la sangre en varios tejidos, donde permanecen en estado latente. En los perros adultos, la mayoría de las larvas no llegan al intestino, sino que pasan a la circulación general y permanecen en diferentes tejidos. Ahora bien, cuando una perra con larvas tisulares inicia una gestación, las larvas emigran hacia la placenta y se produce la infestación fetal. Los cachorros infestados por vía trasplacentaria, después de dos o tres semanas del nacimiento eliminan huevos del parásito en las heces. (Quiroz, 2002)

Figura 5. Fotografía de un gusano de *Toxocara canis* en intestino delgado de perro



(Figueroa y col. 2002)

En hospederos muridos la larva migra rápido después de una inoculación oral de huevos infestantes, encontrándose un pico máximo en número de larvas dentro del lumen del intestino a las 4-6 horas. Las larvas entonces penetran rápidamente a todas las partes de la pared intestinal, especialmente en el fleon, después acceden a los linfáticos aferentes y a las venas portales y migran hacia hígado dispersándose por todo el cuerpo. (Parsons y Grieve, 1990)

Si huevos de *Toxocara canis* son ingeridos por hospederos no cánidos (por ejemplo humanos), las larvas penetran al epitelio mucosal pero tiempo después quedan en una fase de desarrollo restringido en el tejido. No obstante las larvas no

muestran un desarrollo o diferenciación morfológica y no pueden completar su ciclo de desarrollo, pero mantienen un metabolismo activo mostrando un comportamiento migratorio regularmente hacia músculo y tejido nervioso. Sus recorridos por todo el cuerpo en esta fase nos dan el estado clínico de larva migrans visceral y larva migrans ocular. (Maizels y col. 2000)

a) RESISTENCIA POR EDAD

Cuando un cachorro ha cumplido de 1 a 2 meses de edad, la probabilidad de que una nueva larva de *Toxocara canis* eclosione y se desarrolle hacia ascárido adulto es muy baja, mientras que la tendencia a la migración somática progresivamente se incrementa. La falla en producir infestaciones patentes en perros adultos es llamada resistencia por edad, lo cual no es "todo o nada" en la naturaleza, pero un decremento gradual en el grado de recuperación de los ascáridos adultos se observa mientras que la edad del perro avanza. El mecanismo de resistencia en perros adultos opera parcialmente dentro de los pulmones, tal vez como una respuesta de hipersensibilidad de tipo retardada. (Glickman y col. 1981)

El desarrollo de la inmunidad se ha mostrado en ratones infestados con huevos embrionados de *Toxocara canis* y se describe como una inmunosupresión después de una infestación con *Toxocara canis*, mientras que 2 ó 3 infestaciones parecen generar inmunoprotección. (Conception y Barriga, 1995)

Para determinar el origen de la respuesta inmune, ratones libres de parásitos fueron inyectados con linfocitos, suero o ambos, provenientes de ratones infestados con *Toxocara canis* en los días 1 y 100. Los ratones control recibieron el mismo material pero de ratones libres de parásitos. La comparación en las cuentas de las larvas después de la infestación experimental presentó una reducción significativa en su número en hígado y los pulmones después de la transferencia de células, mientras que la transferencia de suero redujo el número de parásitos en el cerebro y la carcaza. La combinación de suero y linfocitos mostró una acción sinérgica en los pulmones y el cerebro, pero una actividad antagonista en el hígado y la carcaza. (Barriga, 1988)

La razón del porque la inmunidad del hospedero no elimina a todos los parásitos de los tejidos, aun no se entiende: dos mecanismos de evasión de la inmunidad del hospedero por el estado larvario han sido sugeridos. Uno es la hipobiosis de las larvas en el tejido que presumiblemente reduce la producción de antígenos que inducen protección, los cuales rodean al parásito haciéndolo menos susceptible a la interferencia con el metabolismo del hospedero. El otro es inmunosupresión por interferencia con la función de células T colaboradoras (Th) las cuales inhiben la respuesta de los antígenos protectores del parásito y la producción de anticuerpos específicos hacia esos antígenos. (Barriga, 1988)

Algunos autores formularon la hipótesis de que el efecto de inmunosupresión en la gestación y lactación puede permitir a la larva tisular o a la larva de una nueva infestación llevar a cabo una migración por tráquea y subsecuentemente un desarrollo intestinal. En general, nuevas infestaciones en perras lactantes podrían ocurrir también por la ingestión de larvas IV inmaduras provenientes del vómito o heces de los cachorros. Las larvas pueden desarrollarse hacia adultos sin una migración por tráquea; esto podría también ser la explicación por la que se encuentran huevos producidos por gusanos de *Toxocara canis* en el intestino. (Barriga, 1988)

El hallazgo de huevos de *Toxocara canis* en las heces de la perra una semana después del parto y antes de la detección de huevos en las heces de sus cachorros, nos conduce a pensar en la hipótesis de la migración por tráquea de las larvas somáticas activadas de la perra. Además, estas perras fueron experimentalmente infestadas durante la gestación con 10,000 huevos, que representan una muy alta dosis, los cuales pueden causar la inmunosupresión o simplemente llevar a la resistencia. (Overgaauw, 1997b)

b) INFESTACIONES PATENTES EN LOS PERROS ADULTOS

Aunque la prevalencia de *Toxocara canis* es más alta en perros jóvenes, una cierta proporción de perros adultos puede ser infestada. (Sprent, 1958)

Los gusanos adultos de *Toxocara canis* se presentan como resultado de una respuesta inmune suprimida, la ingestión de bajas cantidades de huevos infestantes,

o seguido de la ingestión de hospederos paraténicos infestados. (Dubey, 1978; Warren, 1969)

Los perros adultos altamente susceptibles también pueden presentar gusanos adultos de *Toxocara canis*, aún con exposición repetida a los huevos y desarrollo de anticuerpos. Esto puede estar relacionado a ciertas razas, (ejemplo Grey-hounds), además del tamaño de dosis de huevos de *Toxocara canis*. (Maizels y Meghji, 1984)

c) MIGRACION SOMATICA

Los perros adultos pueden ser infestados por la ingestión de huevos larvados de *Toxocara canis* del ambiente, principalmente del suelo contaminado. La larvas eclosionan en el intestino y penetran la mucosa intestinal. La migración ocurre tanto vía linfática y sanguínea o activamente por la penetración de los tejidos y la invasión en todas partes del cuerpo. (Sprent, 1958)

Gradualmente las larvas somáticas se acumulan en los tejidos (migración somática) persistiendo por largos periodos de una manera similar a la que se observa en hospederos paraténicos. La larva de *Toxocara cati* prefiere migrar hacia los músculos, mientras que la larva de *Toxocara canis* se encuentra mas a menudo en el sistema nervioso central. (Sprent, 1958; Schön y Stoyke, 1986)

El tiempo de vaciamiento del tracto gastrointestinal aparece como uno de los más importantes factores. Si los huevos permanecen largo tiempo en el intestino, por ejemplo, con el estómago lleno, eclosionarán del 15 al 20% más de los huevos que normalmente eclosionan. (Oshima, 1961)

d) MIGRACIÓN TRASPLACENTARIA

Algunos estudios han mostrado que cerca del 100% de los cachorros son infestados *in útero* por el día 42 de la gestación por la larva somática, esto es llamado migración trasplacentaria o infestación intrauterina el cual es el modo de transmisión más importante en los perros; el 98.5% de las larvas están activadas. En los gatos, la

infestación prenatal vía placentaria no ocurre. (Scothorn y col. 1965; Lloyd, 1983; Burke y Roberson, 1985; Sprent, 1958)

La larva en perras gestantes es reactivada por uno o más factores desconocidos; el status en el cambio hormonal de la perra durante la gestación ha sido sugerido. Se ha descrito que inyecciones con prolactina gonadotrópica conllevan a una marcada depresión en el número de larvas en los tejidos del ratón que fueron experimentalmente infestados con *Toxocara canis* y sugiere que esta hormona está involucrada con la estimulación de la larva "dormante" reactivando su migración. (Oshima, 1961)

Dentro de las primeras horas de nacimiento, las larvas que estuvieron presentes en el hígado de los neonatos, migran hacia los pulmones siguiendo una ruta migratoria por tráquea. Los gusanos adultos pueden ser encontrados a las dos semanas de edad (Overgaaauw, 1997a) y grandes cantidades de huevos son pasados con las heces después de un periodo mínimo de 16 días. (Ridley y col. 1994)

Poco se sabe acerca del número de larvas que pueden ser encontradas en los tejidos de la perra, la proporción de las larvas tisulares activadas durante la gestación y el tiempo de supervivencia de estas en los tejidos (Lloyd, 1993). La transmisión ocurre en gestaciones consecutivas, aún en ausencia de reinfestaciones entre cada parto. (Burke y Roberson, 1985)

e) TRANSMISIÓN TRANSMAMARIA

Después de la activación de la larva somática de *Toxocara canis* en los perros, también puede ser transmitida por el calostro y la leche (transmisión transmamaria, lactogénica), seguida de la ingestión por la camada la larva continuará su desarrollo sin una migración por tráquea. Las larvas se encuentran en la leche de las perras hasta el día 38 después del parto. (Zimmerman y col. 1985)

La perra lactante puede adquirir una infestación patente por *Toxocara canis* ingiriendo larvas intestinales eliminadas por el vómito o heces de los cachorros

durante la lactación. Un número de esas larvas maduran y se vuelven infestantes. (Sprenst, 1958)

Junto con los huevos ingeridos provenientes de las heces de sus cachorros, los perros lactantes pueden, por esta vía, diseminar grandes cantidades de huevos al ambiente. Entre la semana 4-10 después del parto, esta infestación desaparece espontáneamente. (Lloyd y col. 1983)

Se ha sugerido que esa supresión de resistencia de infestación durante la lactación y el desarrollo subsiguiente de *Toxocara canis* en el intestino es explicada por la influencia especial de la lactancia y la relación con la secreción de prolactina (Oshima, 1961). Esto parece que es confirmado por el hallazgo de que tales infestaciones son espontáneamente eliminadas dentro de la primera semana seguida del cese de la lactación. (Lloyd y col. 1983)

Finalmente, los huevos de *Toxocara canis* eliminados en las heces de los cachorros pueden ser ingeridos por la madre, donde ellos pasan a través del tracto digestivo provocando falsos positivos a la infestación por *Toxocara canis* después de un examen coproparasitoscópico. (Schön y Store, 1986)

f) TRANSMISIÓN A TRAVÉS DE HOSPEDEROS PARATÉNICOS

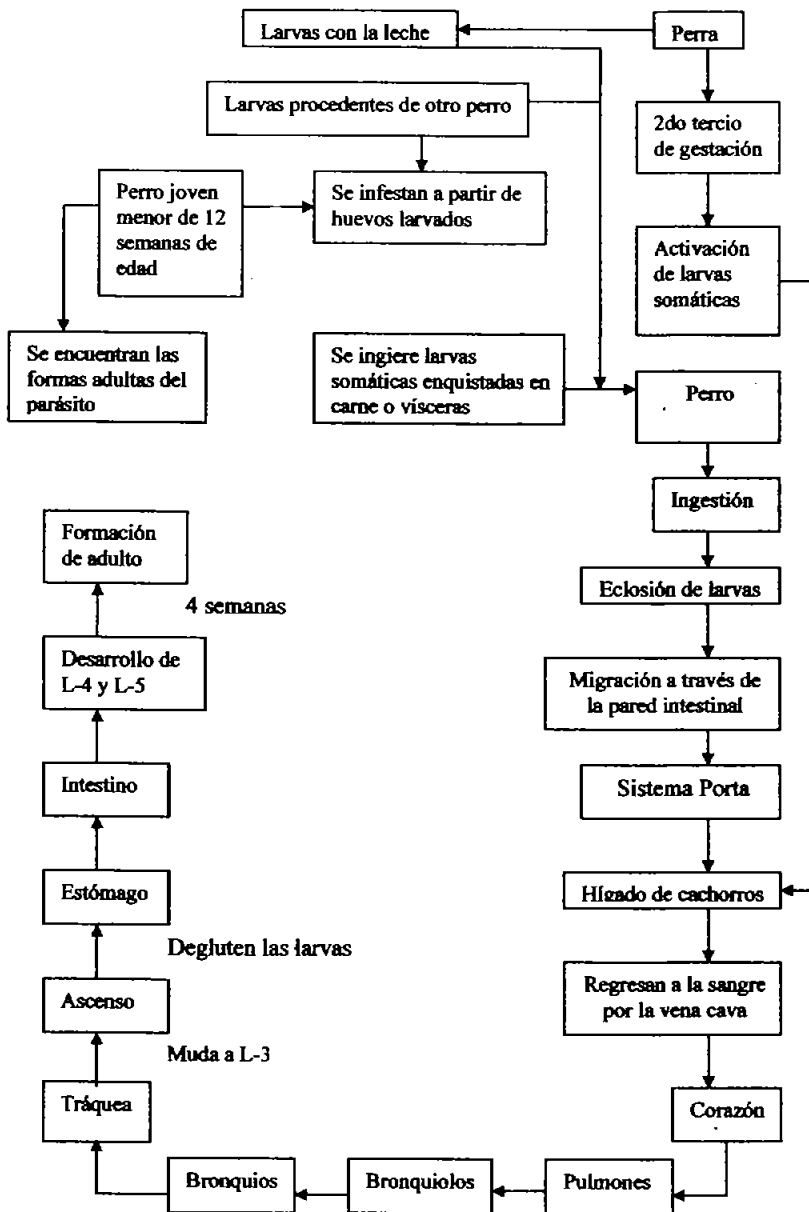
La paratenesis es el modo de infestación de algunas larvas de nematodos tales como *Toxocara canis*, esto asegura su supervivencia continua por su distribución en especies depredadas. (Grieve y col. 1993)

Esta ruta de infestación existe porque el desarrollo de larva somática en hospederos paraténicos incluye a vertebrados tales como roedores y pájaros o invertebrados como gusanos de tierra e insectos (moscas). Mamíferos pequeños juegan un papel importante como hospederos paraténicos en localidades urbanas y rurales. (Dubinsky y col. 1995; Oshima, 1961)

Después de la ingestión de los hospederos paraténicos infestados con la larva de *Toxocara canis* por el perro (Warren, 1969; Kasai, 1995), la larva se desarrolla

directamente en el intestino porque ya ha migrado en el hospedero anterior y se presume que ha llegado a una etapa apropiada de madurez por lo que ella puede desarrollarse en adulto en el intestino. En contraste con estas conclusiones, Warren, 1969 reportó que la larva de *Toxocara canis* en perros lleva a cabo una migración por tráquea llegando a adultos el día 19, seguido de su ingestión por un hospedero paraténico experimental (músculo de ratón).

Figura 6. Ciclo biológico de *Toxocara canis*



(Martínez, 2000)

5. PATOGENIA

La capacidad para dañar depende de la edad del animal, del número, localización y fase del desarrollo de los gusanos. El daño generado por este parásito está determinado en parte, por la migración larvaria que realizan por diferentes tejidos y por otra parte por sus necesidades metabólicas. En el primer caso las larvas ejercen acción traumática provocando hemorragias seguido de procesos inflamatorios agudos y posteriormente crónicos en su recorrido por diferentes tejidos, los cuales incluyen pared intestinal, parénquima hepático y pulmonar, ruptura de capilares y alvéolos, riñón, tejido muscular y cerebro. En forma paralela ejercen acción expoliatriz que en este caso es hematófaga e histófaga y de líquidos tisulares. Concomitantemente a esta se presenta la acción mecánica por obstrucción, que dependiendo la cantidad a nivel pulmonar y hepático puede ser manifiesto. La eliminación de mudas, líquido de mudas, secreciones y excreciones, ejercen acción antigénica que puede, por un parte, causar una respuesta inmune positiva y por otra, ocasionar efectos anafilácticos y alérgicos. (Quiroz, 2002)

Las migraciones que realizan las larvas de *Toxocara canis* corresponden a la vía entero-neumo-traqueo-enteral en cachorros. La migración entero-neumo-somática ocurre en el caso de reinfestaciones y animales adultos. (Quiroz, 2002)

Los nematodos que viven en el intestino, se alimentan de contenido intestinal; sin embargo, esta acción expoliatriz es selectiva, utilizando por ejemplo grandes cantidades de vitamina C y otros nutrientes de naturaleza protéica, lípidos y carbohidratos, además de otros elementos. Otras veces invaden el conducto colédoco y canales biliares produciendo estasis biliar, provocando por una parte mala digestión debido a la deficiente cantidad de bilis que pasa por intestino y por la congestión biliar a nivel hepático. (Quiroz, 2002)

Las infestaciones prenatales en los cachorros son responsables de nacimientos y muertes prematuras (Scothorn y col. 1965). La intensa acción de las larvas de *Toxocara canis* a su paso por el hígado y pulmones puede provocar muertes que suelen presentarse entre la primera y tercera semana de vida. Después del nacimiento, los cachorros pueden sufrir de neumonía asociada a la inflamación

por la migración por tráquea de la larva y la muerte dentro de los 2 a 3 días siguientes. La diarrea, constipación, vómito, tos y descargas nasales pueden ser encontradas en el examen clínico. Distensión del abdomen (animales panzones) (Figura 7) puede ocurrir, probablemente como resultado de la formación de gas causado por la disbacteriosis (variación brusca de la flora intestinal). La mortalidad se presenta debido a la obstrucción de la vesícula biliar, ductos biliares, ducto pancreático y ruptura del intestino. (Parsons, 1987)

Figura 7. Fotografía de un perro con distensión del abdomen



(Mustoe, 1999)

En cachorros con infestación congénita las formas intestinales masivas producen enteritis catarral y ocasionalmente oclusión y perforación intestinal. (Cordero del Campillo y col.1999)

Después de la superinfestación con *Toxocara canis*, el conteo de eosinófilos aumenta hasta llegar al pico máximo al octavo día y perdura por más de 50 días. (Oshima, 1961)

La variabilidad de las características clínicas en la toxocarosis puede estar relacionada con la resistencia de la larva, diferentes rutas de migración, la cantidad de antígenos secretores-excretorios (TES) y las diferentes respuestas inmunes de los hospederos. (Kerr-Muir, 1994)

Los signos clínicos en los perros adultos son raros. Durante la migración larvaria somática los perros pueden manifestar signos clínicos de la enfermedad (Barron, 1966). La migración de la larva induce altos niveles de enzimas hepáticas (AST, ALT) con un pico al tercer día después de la infestación con huevos embrionados. Los niveles totales de IgG en suero aumentan el doble durante los 20 días postinfestación. (Zimmerman y col. 1985; Stejkskal y Johansson, 1983)

La habilidad de la larva en estado restringido de *Toxocara canis* para sobrevivir dentro de los tejidos por muchos años, depende de mecanismos muy potentes de inmunoevasión y de mecanismos anti-inflamatorios operados por el parásito. Las macromoléculas secretadas son las candidatas primarias como mediadores evasivos de la respuesta inmune. (Maizels, 1999)

La magnitud de la infestación humana es difícil de determinar: una alta proporción de niños son seropositivos a los anticuerpos contra *Toxocara canis*, pero la infestación somática (larva migrans visceral y ocular) no es frecuente. Desafortunadamente, los resultados de la infestación incluyen invasión del cerebro y ojos y si la evidencia de la función neurológica dañada es correcta, la magnitud de la patología inducida por *Toxocara canis* puede ser mucho mayor que la documentada actualmente. (Maizels y col. 2000)

La migración de la larva de *Toxocara canis* dentro del cerebro de roedores y niños está asociada con el deterioro de las funciones neuropsicológicas y con una conducta alterada. De cualquier manera, la severidad de los cambios de conducta causada por la migración de la larva dentro del cerebro se reduce si al ratón se le proporcionan múltiples infestaciones más que en una dosis única equivalente. (Parsons y Grieve, 1990)

La relación de las manifestaciones neurológicas con las complicaciones cerebrales causadas por la larva de *Toxocara canis* permanece en la oscuridad. En el síndrome de larva migrans visceral causado por *Toxocara canis* en seres humanos, el cuadro clínico varía de un estado asintomático, excepto por la eosinofilia persistente, hasta un síndrome crónico de hipereosinofilia, hepatomegalia, infiltración pulmonar moderada, fiebre, tos e hipergamaglobulinemia. (Tomimura y col. 1976)

Numerosos casos humanos, incluyendo algunos fatales, involucran al ojo, cerebro, corazón y otros órganos. También es bien sabido, que la variedad de síntomas neurológicos, incluyendo convulsiones, delirio, parálisis y meningitis se desarrollan en algunos pacientes. La patogénesis de estas manifestaciones se ha mantenido desconocida. (Tomimura y col. 1976)

6. RESPUESTA DEL HOSPEDADOR

Los parásitos inducen una variedad de alteraciones inmunológicas en los hospederos infestados, las cuales incluyen incremento en la IgE sérica, eosinofilia, depresión de ciertas funciones de las células T y activación policlonal de las células B. (Finkelman y col. 1991)

Después de la administración oral de huevos de *Toxocara canis*, la larva eclosiona y migra al hígado, pulmón, cavidad peritoneal y bazo donde ellas residen y secretan proteínas de excreción (antígenos ES) los cuales activan y/o modulan las respuestas inmunológicas. De hecho, se ha observado que antígenos derivados de la larva de *Toxocara canis* estimulan a los macrófagos a producir IL-1 e IL-6, no siendo así para IL-12 y TNF- α . (Finkelman y col. 1991)

Se ha sugerido que cuando se utilizan animales timectomizados o atímicos congénitamente, la eosinofilia, la producción elevada de IgE y la mastocitosis intestinal en infestaciones helmínticas son dependientes de células T. Se ha reportado que estas respuestas inmunológicas son inducidas por citocinas secretadas por células CD4⁺ cooperadoras de tipo 2 (Th2). La eosinofilia y la producción de IgE son inducidas por la IL-5 e IL-4 respectivamente mientras que la mastocitosis es causada por la IL-3 e IL-4. Cuando hospederos paraténicos como los humanos y ratones son infestados con *Toxocara canis* la larva migra sin madurar, y causa una marcada eosinofilia y elevada producción de IgE. (Hiratochi y col. 2000)

Se ha demostrado que el mRNA de la IL-5 se expresa en los pulmones y en el bazo de los ratones infestados con *Toxocara canis*. Las células pulmonares infestadas con *Toxocara canis* producen niveles significativos de IL-5 cuando son

incubados con antígenos de excreción-secreción de la larva *in vitro*. La IL- 5 se produce principalmente por células T CD4⁺ y parcialmente por células CD4⁻ CD8⁻ (TCR $\gamma\delta$) en los pulmones de ratones infestados con *Toxocara canis*. Recientemente se ha demostrado que la interacción de VCAM-1/VLA-4 es más importante en la producción de IL-4 por las células pulmonares en los ratones infestados que la interacción ICAM-1/LFA-1. Por lo que se piensa que IL-5 e IL-4 son producidas por diferentes mecanismos. (Hiratochi y col. 2000)

7. MANIFESTACIONES DEL SÍNDROME DE LARVA MIGRANS EN HUMANOS

El síndrome de larva migrans visceral es causado en humanos por la migración de las larvas de *Toxocara canis* principalmente, la enfermedad frecuentemente se observa en niños que practican la geofagia e ingieren los huevos embrionados que se encuentran en la tierra, usualmente no causa severos problemas, sin embargo puede persistir por meses o por más de un año (Shore, 2001). Algunos síntomas de la infestación incluyen: anemia, tos, ronquera, infiltración pulmonar, hepatomegalia, esplenomegalia, fiebre y anorexia. (Gillespie y Pearsons, 2001)

En el síndrome de larva migrans ocular la larva migra hacia el ojo provocando la infestación más aguda que puede llegar a provocar ceguera. La reacción a cuerpo extraño y a los antígenos puede causar un daño local o general en la retina y otras estructuras intraoculares, la infestación intraocular usualmente ocurre unilateralmente en niños, pero ocasionalmente los dos ojos son afectados. (Gillespie y Parsons, 2001)

El término toxocariosis encubierta se refiere a un síndrome menos específico que fue reconocido por el uso extenso de ensayos de serodiagnóstico para infestaciones por *Toxocara canis* (Tolan y col. 2001). La toxocariosis encubierta ha sido descrita con una serie de síntomas que son inespecíficos, pero juntos forman una enfermedad reconocible. Los síntomas inducen dolor abdominal, anorexia, sueño y comportamiento alterado, adenitis cervical, ronquera, problemas respiratorios, dolor de cabeza asociado a una normal o ligeramente elevada eosinofilia. Los síntomas de

la toxocariosis encubierta no se manifiestan por sí mismos en forma característica o específica. (Mustoe, 1999; Radman y col. 2000)

8. DIAGNÓSTICO

En los animales se basa en la demostración de huevos en las heces. Sólo los signos pulmonares que afectan a toda la camada 1-2 semanas después del nacimiento hacen sospechar de la infestación. Con frecuencia, los cachorros eliminan gusanos espontáneamente con el vómito o con las deyecciones. La necropsia y la observación de las lesiones hepáticas, pulmonares o renales, junto con la demostración directa de los nematodos en el intestino delgado, confirman el diagnóstico. (Cordero del Campillo y col. 1999)

El hallazgo de laboratorio más significativo es la eosinofilia intensa, que coincide con la fase de migración larvaria y que fácilmente supera el 50% en la primera semana de vida. La actividad enzimática de GLDH y ALT aumenta notablemente durante esta fase de migración, con niveles máximos a los pocos días de nacimiento. (Cordero del Campillo y col. 1999)

Las técnicas serodiagnósticas (ELISA) son utilizadas con una alta especificidad (92-95%) y sensibilidad (73-78%) en títulos diagnosticados de 1:32. ELISA indirecta se utiliza para determinar la presencia de anticuerpos totales de tipo IgG, IgE e IgM contra los antígenos TES. (Jin Luo y col. 1999)

Los métodos para el diagnóstico del síndrome de larva migrans son: el de anticuerpos monoclonales, los cuales reconocen epítopos específicos de antígenos secreción-excreción. El Western Blot para el inmunodiagnóstico de la toxocariosis es utilizado con alta sensibilidad y especificidad, anulando los problemas de reacciones cruzadas con sueros positivos a otras enfermedades helmínticas, por lo que se recomienda como complemento de la técnica de ELISA para la confirmación de resultados. (Overgaauw, 1997c)

9. PREVENCIÓN Y CONTROL

Se recomienda la desparasitación repetida en los cachorros a las 2, 4, 6 y 8 semanas, especialmente ante el riesgo de reinfestación por la leche materna y contaminación ambiental. Las madres deberán someterse a pautas de tratamiento simultáneas a las de la camada y en los perros adultos deberán efectuarse análisis coprológicos previos al tratamiento. (Cordero del Campillo y col. 1999)

La base del control de la toxocariosis es el tratamiento de los perros infestados, en especial cachorros y madres, con la que se reduce la contaminación ambiental con huevos infestantes de parásitos. Además, es necesario eliminar las deyecciones caninas, con limpieza frecuente y a fondo para eliminar los huevos. El control del censo canino conlleva la retirada de perros callejeros o vagabundos, junto con la educación sanitaria sobre el riesgo de transmisión de LMV que, en gran parte, es desconocido. (Cordero del Campillo y col. 1999)

Debido a la alta frecuencia de *Toxocara canis* en el perro, es necesario contribuir de forma inmediata al desarrollo de programas que eliminen de forma eficaz este parásito tanto en su forma adulta como en su fase larvaria y en su transmisión lactogénica como transplacentaria en las perras, por lo que la finalidad de este trabajo es proporcionar un esquema de antiparasitarios de diferentes familias que en combinación nos puedan dar un nivel de eficacia mayor al reportado con otros medicamentos utilizados para este fin.

10. TRATAMIENTO

Son útiles las sales de piperacina (adipato, citrato, difosfato) que son bien toleradas por cachorros, lo que facilita el tratamiento de infestaciones congénitas; su aplicación a dosis de 110-200 mg kg⁻¹, tienen buena eficacia frente a los adultos intestinales, pero menor frente a los estadios inmaduros. El pamoato de pirantel se utiliza a dosis de 5 mg kg⁻¹, es eficaz incluso en cachorros con fases juveniles. La dosificación repetitiva con concentraciones menores, es más eficaz que la concentración alta en una sola dosis. (Cordero del Campillo y col. 1999)

El nitroscanate micronizado en dosis única de 25-50 mg kg⁻¹, es activo contra *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Ancylostoma caninum*, *Echinococcus granulosus*, *Uncinaria sp*, *Dipylidium caninum* en perros; en gatos contra *Ancylostoma tubaeforme* y *Toxocara cati*. Siendo bien tolerado por cachorros y perras gestantes. (Cordero del Campillo y col. 1999; Sumano y col. 2000)

Se ha estudiado el efecto del albendazol en toxocariosis experimental en ratones y se observó que la administración del albendazol reduce el número de larvas que alcanzan el cerebro, el fenbendazol y el oxfendazol matan larvas en el cerebro y en el músculo de ratones infestados experimentalmente. (Bardon y col. 1995)

Se ha encontrado que la eliminación de larvas de *Toxocara canis* en ratones se da con levamisol, ivermectina, albendazol y febendazol, en un máximo de 2-7 días pos infección (no se menciona la dosis utilizada). (Gillespie y Pearson, 2001)

Los antecedentes de la ivermectina usada contra larvas incluyen el estudio de Abo-Shehada y Hebert, en 1984; en un modelo en ratones utilizaron ivermectina a dosis de 200 mcg kg⁻¹ oral y subcutánea, así como levamisol (150 mg kg⁻¹ subcutáneo y 100 mg kg⁻¹ oral), albendazol y febendazol (100 mg kg⁻¹ en ambos casos), al mes de inoculados, reportan que la ivermectina fue la más efectiva con una eficacia del 80%, seguido del levamisol con un 65-70%, albendazol con un 38% y por ultimo el febendazol con el 20%.

Samanta y Ansari en 1990 utilizando a la ivermectina en dosis de 0.2 mg kg⁻¹ subcutáneo, al albendazol y fenbendazol a dosis de 100 mg kg⁻¹ oral y tiabendazol 150 mg kg⁻¹ oral, después de 24 horas de la infestación experimental y continuando por una semana, sugieren que la ivermectina y los bencimidazoles tienen propiedades larvicidas, mientras que el tiabendazol tiene una acción inhibitoria sobre la migración larvaria. Encontrando que el albendazol tiene una efectividad del 51.4%, fenbendazol del 36.6%, tiabendazol del 22.5% y con ivermectina del 54.4% para larvas totales. La efectividad en cerebro es del 89% para el albendazol y del 92% para la ivermectina.

Martínez y col., en 1993; en un ensayo con varios principios detectan que el producto más eficaz a dosis única contra larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones fue la ivermectina (0.2 mg kg^{-1} subcutánea) con un 91% de efectividad, comparado con metrifonato (50 mg kg^{-1} oral) con un 43%, dietilcarbamazina (50 mg kg^{-1} oral) con un 45.5% y nitroscanate (50 mg kg^{-1} oral).

Fok y Kassai, en 1998, trabajando con la ivermectina (0.6 mg kg^{-1} oral en alimento y 6 mg kg^{-1} oral y subcutánea) y albendazol (1.6 g kg^{-1} y 3 g kg^{-1} oral en alimento), encuentra los niveles de remoción más bajos de ivermectina reportados en la literatura con un 7.6-35.5% de efectividad, mientras que para el albendazol encontró un 97.1% de efectividad.

Camilo y Barriga, en 1987, trabajando con levamisol y comparándolo con la ivermectina reporta que a una dosis de 6 mg kg^{-1} (subcutáneo) del primer compuesto una efectividad del 12.54%, a 12 mg kg^{-1} (subcutáneo) tuvo una efectividad del 64.25%, en tanto que la ivermectina (0.4 mg kg^{-1} subcutánea) disminuyó un 43.12% el parasitismo total.

La mayoría de los pacientes humanos se recuperan sin terapia. El tratamiento con agentes antihelmínticos está indicado para complicaciones severas, tales como las cerebrales, pulmonares y cardíacas. Ya que el tratamiento con antihelmínticos puede generar una reacción inflamatoria aumentada, los corticosteroides algunas veces son utilizados con o sin terapia específica. (Tolan y col. 2001)

Como los signos y síntomas de los variados síndromes de la toxocariosis resultan de respuestas inflamatorias crónicas y agudas, dirigidas hacia los productos excretores-secretorios y no necesariamente de las larvas, el tratamiento está inicialmente dirigido hacia los síntomas, por ejemplo, los broncodilatadores, antihistamínicos y ocasionalmente esteroides sistémicos están indicados. (Gillespie, 1987)

El tratamiento de la toxocariosis encubierta debe de ser individualizado. La decisión del tratamiento depende de la edad del paciente, la severidad de los síntomas y de la certeza del diagnóstico. En pacientes con LMO, el tratamiento no

requiere una terapia con antihelmínticos pero se recurre a corticosteroides locales y a cirugía. (Tolan t col. 2001)

Struchler, D. en 1989, recomienda el albendazol para el tratamiento de LMV y LMO administrando una dosis mínima de 10 mg kg⁻¹ diariamente por 5 días.

Velebny y col. (2000) utilizando formulaciones liposomales de albendazol con glucanos y administrándola subcutáneamente a ratones infestados con huevos larvados de *Toxocara canis* a dosis de 25 mg Kg⁻¹ dos veces al día durante 5 días después del día 28 postinfestación, encontraron una eficacia del 62.8% en músculo y en cerebro del 88%. Esta formulación liposomizada incrementa la efectividad, logrando un 92.2%.

Los agentes antihelmínticos utilizados para complicaciones severas de LMV tales como complicaciones cerebrales, pulmonares y cardíacas son los siguientes: dietilcarbamacina (6 mg kg⁻¹ oral), tiabendazol (25 mg kg⁻¹oral), albendazol (10 mg kg⁻¹ oral) y mebendazol (una tableta de 100 mg). Las respuestas terapéuticas de los pacientes con LMV son evaluadas clínicamente por el conteo de eosinófilos en sangre periférica. Los títulos de anticuerpos contra *Toxocara canis* no reflejan la respuesta al tratamiento. (Tolan y col. 2001)

11. ANTIHELMÍNTICOS UTILIZADOS

Los productos antiparasitarios empleados en el presente trabajo son del grupo de las lactonas macrocíclicas (ivermectina) y bencimidazoles (albendazol).

Lactonas macrocíclicas

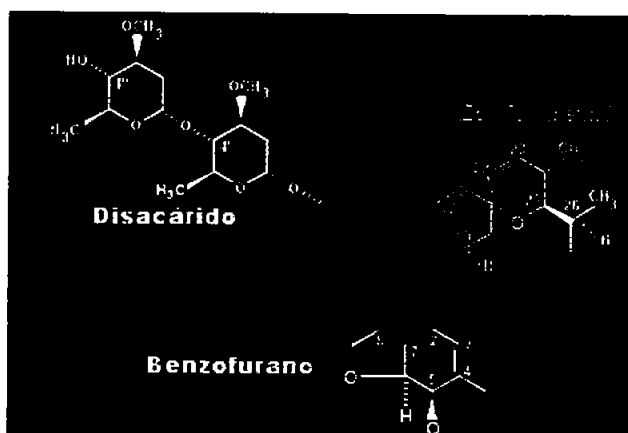
Las lactonas macrocíclicas (Figura 8), representan un grupo de fármacos extremadamente potentes como antinematódicos, insecticidas y acaricidas. Estos a su vez se dividen en dos subgrupos que son: avermectinas y milbemicinas. (Köhler, 2001)

Dentro de las avermectinas tenemos a la ivermectina, doramectina, eprinomectina y selamectina y dentro de las milbemicinas tenemos a la milbemicina y a la moxidectina. (Steele, 1998)

a) Absorción, destino y eliminación

Las lactonas macrocíclicas son compuestos lipofílicos de peso molecular moderado, las cuales subsecuentemente son absorbidas en el torrente sanguíneo y distribuidas ampliamente a través de los tejidos del cuerpo de los animales tratados oralmente, subcutáneamente o tópicamente. En general, siguen un equilibrio, la grasa es la zona de depósito principal de estos fármacos, pero niveles considerables son encontrados en el hígado, en donde las lactonas macrocíclicas son metabolizadas, conjugadas y excretadas en la bilis. La excreción en la orina es baja, generalmente menos de 3% de la dosis y el resto se elimina por heces. (Steele, 1998)

Figura 8. Estructura química de las lactonas macrocíclicas



(Johnstone, 2000)

b) Acción antiparasitaria

Las lactonas macrocíclicas tienen actividad de amplio espectro en contra de un elevado rango de nematodos y artrópodos y esa efectividad en contra de endoparásitos y ectoparásitos les han dado el nombre de endectocidas. (Johnstone, 2000)

Dentro de esta clasificación de las lactonas macrocíclicas utilizamos a una avermectina (ivermectina) que a continuación se describe:

Ivermectina

La ivermectina (Figura 9) es muy eficaz y muy potente contra las fases en desarrollo de muchos nematodos e insectos parásitos que afectan a animales y seres humanos, su origen corresponde a un producto de fermentación del *Streptomyces avermitilis*. (Ryan, 1999) El fármaco inmoviliza a los organismos afectados al inducir parálisis flácida de sus músculos. Los estudios originales sugirieron que las avermectinas ocasionaban dicho efecto más bien al modular la neurotransmisión mediada por ácido gamma-aminobutírico (GABA). (Pong y col. 1980) No obstante, investigaciones recientes señalan que la parálisis en el nematodo *Caenorhabditis elegans* de vida libre, quizás es mediada por potenciación, activación directa o ambos mecanismos de los canales de cloro "regulados" por glutamato. Las avermectinas también tienen avidez por los canales de cloro sensibles a GABA y a otros ligandos, en nematodos como *Ascaris* y en insectos, pero no se han precisado las consecuencias fisiológicas de tal fenómeno. (Arena y col. 1995)

La falta de receptores de avermectina de alta afinidad en cestodos y trematodos puede explicar porqué dichos helmintos no son sensibles al medicamento. (Shoop y col. 1995) Las avermectinas interactúan con los receptores de GABA en el cerebro de vertebrados (mamíferos), pero su afinidad por receptores de invertebrados es 100 veces mayor. (Arena y col. 1995)

c) Dosis

En el perro 200 mcg kg⁻¹ subcutáneo, una sola dosis. Sarna 400 mcg kg⁻¹ subcutáneo, una sola dosis. En gatos se han usado dosis de hasta 200-400 mcg kg⁻¹ subcutáneo, una sola dosis. (Sumano y col. 2000)

d) Toxicidad, efectos adversos.

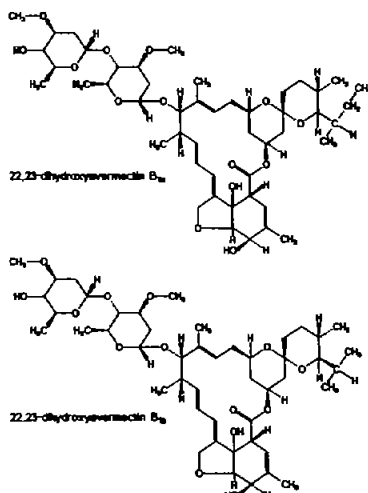
En los animales los signos de toxicidad del sistema nervioso central son letargia, ataxia, midriasis, temblores y al final la muerte, se observan aplicando altas dosis del fármaco, por ejemplo en perros a dosis de 2 mg kg⁻¹ diariamente

durante 3 meses se observa este efecto, la DL_{50} es de 30 mg kg^{-1} en ratones. Son especialmente vulnerables los perros y en particular la raza Collie. También hay que tener cuidado al administrar ivermectina junto con otros compuestos que deprimen la actividad del sistema nervioso central. No existen evidencias de que la ivermectina sea teratogena o carcinogena (Goodman & Gilman, 1996). Los ratones son la especie más sensible a los efectos de la ivermectina a dosis de maternotoxicidad de 0.2 mg kg^{-1} al día. (Maizels, 1999)

e) Interacciones.

Los anestésicos y tranquilizantes pueden aumentar su efecto depresor. El amitraz aplicado conjuntamente puede inducir toxicidad (Sumano y col. 2000)

Figura 9. Estructura de la Ivermectina



(Johnstone, 2000)

Bencimidazoles

Los bencimidazoles poseen hidrosolubilidad limitada y, por consecuencia, pequeñas diferencias en la solubilidad tienden a ocasionar un efecto mayor en la absorción. (Goodman & Gilman, 1996)

La absorción del albendazol (Figura 10) es variable e irregular después de ingerido, aunque su absorción puede mejorar si se consume con alimentos grasos. Después de administrar una dosis oral de 400 mg de albendazol, no se detecta el compuesto en plasma porque es metabolizado con rapidez en hígado, hasta la forma de sulfóxido de albendazol. A diferencia de los principales metabolitos de tiabendazol y mebendazol, el sulfóxido de albendazol genera potente actividad antihelmíntica. Dicho metabolito alcanza concentraciones plasmáticas máximas de unos 300 ng/ml, pero con amplias variaciones entre un individuo y otro. (Goodman & Gilman, 1996)

El sulfóxido de albendazol se liga aproximadamente en una proporción de 70% a las proteínas plasmáticas y su vida media en plasma es de ocho a nueve horas. Se distribuye adecuadamente en diversos tejidos. La formación del sulfóxido de albendazol es catalizada más bien por la flavin-monooxigenasa microsómica y, en menor magnitud, por algunas formas de citocromo. Parte del sulfóxido es oxidado todavía hasta generar el metabolito sulfona que es farmacológicamente inactivo. Los metabolitos se excretan principalmente por orina. (Goodman & Gilman, 1996)

Estudios referentes a los efectos del albendazol en helmintos muestran que este fármaco causa alteraciones ultraestructurales tanto en células intestinales de nematodos como en células del tegumento en cestodos, particularmente en la redistribución de las vesículas citoplasmáticas y de otros organelos. Como estos cambios coincidieron con la desaparición de los microtúbulos del citoplasma es posible que los bencimidazólicos actúen inhibiendo el transporte de las vesículas secretoras mediado por microtúbulos en los tejidos de absorción de los helmintos con la liberación de enzimas digestivas las cuales son responsables del daño tisular observado. Actualmente, parece ser que la base bioquímica de la acción de los bencimidazólicos es la habilidad que tienen estos de unirse con gran afinidad de manera pseudo-irreversible en las subunidades de tubulina de los microtúbulos, por lo que alteran la estructura y función de los éstos. (Köhler, 2001)

Los microtúbulos son altamente dinámicos, organelos celulares ubicuos que llevan a cabo una variedad de funciones vitales tales como, mitosis, motilidad y transporte, en todos los eucariontes. La mayoría de estas estructuras existen en un estado dinámico estable en donde el ensamblaje y desensamblaje de las

subunidades solubles está balanceado. En tales sistemas, la interacción fármaco-tubulina resulta en un cambio de este estado estable con la pérdida de microtúbulos y la acumulación de tubulina libre no permitiendo la formación de la red de tubulina. En vista de la importancia crucial de los microtúbulos en la mayoría de los procesos celulares, este fármaco induce la destrucción eventual la cual lleva a la muerte del organismo. (Kóhler, 2001)

El principio de la alta toxicidad selectiva de los antihelmínticos bencimidazólicos no está completamente entendido pero parece ser que es debido a que la unión irreversible es mucho más fuerte con la tubulina de los helmintos que con la tubulina de los mamíferos. (Kóhler, 2001)

a) Acción antihelmíntica.

El albendazol es un antihelmíntico de múltiples usos, sobre todo contra nematodos gastrointestinales, si bien su acción medicamentosa no depende de la concentración que alcanza a nivel sistémico. La eliminación y muerte de los parásitos gastrointestinales sensibles se hace con lentitud y tal vez no sean completamente eliminados, sino después de varios días de aplicar el tratamiento. Los bencimidazoles ocasionan muchos cambios bioquímicos en nematodos sensibles, por ejemplo, la inhibición de la fumarato reductasa de mitocondrias, disminución del transporte de glucosa y desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. (Goodman & Gilman, 1996)

b) Absorción, destino y eliminación.

Los bencimidazoles poseen hidrosolubilidad limitada y por consecuencia pequeñas diferencias en la solubilidad tienden a ocasionar un efecto mayor en la absorción. La absorción del albendazol es variable e irregular después de ingerido, aunque su absorción puede mejorar si se consume con alimentos grasosos. (Goodman & Gilman, 1996)

Interrumpen el metabolismo energético de los parásitos, inhiben a la enzima fumarato reductasa, que induce la polimerización de la tubulina en los microtúbulos celulares. Tiene un excelente margen de seguridad e índice terapéutico. Su vida media es de 10 horas, sus principales metabolitos son derivados sulfóxidos y sulfato. (Sumano y col. 2000)

c) Aplicaciones terapéuticas.

Útil contra nematodos, trematodos, cestodos y larvas de nematodo a nivel intestinal y extraintestinal (Sumano y col. 2000). El albendazol constituye un fármaco inocuo y altamente eficaz contra infestaciones por nematodos en las vías gastrointestinales. (Goodman & Gilman, 1996)

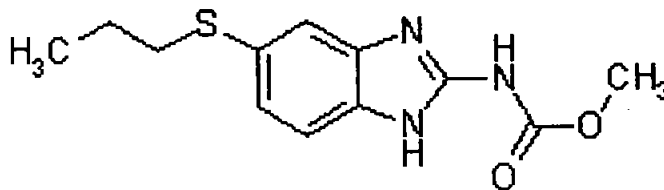
d) Dosis.

En perros 5–10 mg kg⁻¹.

e) Toxicidad, efectos adversos.

El albendazol ocasiona pocos efectos adversos si se utiliza por corto tiempo contra la helmintiasis gastrointestinal, en ocasiones hay dolor abdominal, diarrea, náuseas, mareos y cefalea transitorios. El albendazol es teratogénico y embriotóxico en animales, razón por la cual será mejor no utilizarlo en mujeres embarazadas. (Goodman & Gilman, 1996)

Figura 10. Estructura química del albendazol



(Johnstone, 2000)

12. OBJETIVOS

- ✘ Contribuir al conocimiento en torno a la evaluación de medicamentos para tratar la toxocariosis.

- ✘ Utilizando ratones blancos cepa CD1 inoculados con larvas de *Toxocara canis* como modelo experimental, ensayar la aplicación de una asociación de ivermectina-albendazol para observar un efecto en las larvas de *Toxocara canis* en diferentes órganos.

- ✘ Comparar la eficacia de los tratamientos convencionales para la toxocariosis contra el tratamiento utilizado en este trabajo.

13. MATERIALES Y METODOS

MATERIAL BIOLÓGICO

1. 100 cadáveres de perros de 2 a 3 meses de edad del Control canino de Cuautitlán Izcalli.
2. 60 ratones blancos cepa CD1, machos.

REACTIVOS

1. Ácido clorhídrico
2. Agua destilada
3. Albendazol genérico 100% puro
4. Formol 5%
5. Glicerinformal
6. Ivermectina 1% (IVOMEC)
7. Pepsina
8. Propilenglicol
9. Solución salina formolada 2.5%

MATERIAL DE LABORATORIO

1. Agujas de disección
2. Alimento para ratones (Nutricubos)
3. Cajas de petri
4. Cajas de policarbonato
5. Estuche de disección
6. Jeringas
7. Microscopio óptico
8. Portaobjetos y cubreobjetos
9. Sonda para alimentación de lactantes (tipo Foley)

MÉTODO

1. Se realizaron necropsias a 100 cadáveres de perros de 2 a 3 meses de edad procedentes del control canino de Cuautitlán Izcalli; para obtener gusanos de *Toxocara canis* del intestino delgado.
2. Se separaron los gusanos machos de las hembras. Las hembras se disecaron cortando en la porción media del cuerpo para liberar los úteros grávidos y permitir la salida de los huevos fecundados, los cuales se colocaron en cajas de petri con solución salina formolada al 2.5% y a temperatura ambiente durante 3 semanas aproximadamente con el objeto de esperar el desarrollo del segundo estado larvario.
3. La viabilidad de los huevos larvados se determinó en base al desarrollo de las larvas en su interior y a la motilidad de las mismas; siendo en este caso del 75%.
4. Se formaron 6 grupos de 10 ratones cada uno, los ratones se escogieron al azar.
5. Un lote fue grupo testigo inoculado con 500 huevos larvados, vía oral con una sonda para alimentación de lactantes, sin tratamiento. Un segundo lote fue testigo no inoculado con huevos larvados, pero se le aplicó glicerinfomal y propilenglicol. Estos lotes se sacrificaron al mes posterior a la inoculación.
6. Los cuatro grupos restantes fueron inoculados con 500 huevos larvados por vía oral con una sonda tipo Foley para alimentación de lactantes. Al mes postinfestación fueron tratados con ivermectina-albendazol, a una dosis de 200 mcg kg⁻¹ de ivermectina y 5 mg kg⁻¹ de albendazol, administrándolo mensualmente durante cuatro meses.

La ivermectina se diluyó con 40% de propilenglicol (diluyente) y 60% de glicerín formal (diluyente), se administró por vía subcutánea y el albendazol se diluyó con agua destilada administrándose por vía oral.

7. Se sacrificó un lote cada 30 días, y al realizar la necropsia de los ratones se obtuvo: el cerebro, los pulmones, los riñones, 1 g de músculo esquelético del miembro pélvico derecho que se multiplicó con el total de la carcaza y el hígado.

Estos órganos se cortaron finamente y se envolvieron en una gasa para introducirlo en un tubo de ensaye con jugo gástrico artificial, el cual se preparo con 5 g. de pepsina, 6 ml. de HCl diluidos en 1000 ml. de agua destilada. A las 24 horas se agitó el contenido de los tubos, se dejaron 24 horas más y después se retiraron de la digestión.

8. Se retiraron las gasas y el sedimento se colocó en formol al 5% para su revisión en microscopio óptico, y evaluar la eficacia del tratamiento mediante el conteo de larvas en los órganos.
9. Se contó el número de larvas por órgano, revisando la totalidad del sedimento de cada tubo.
10. Se registraron los datos del número de larvas en una hoja de cálculo y los resultados se sometieron a una prueba estadística de análisis de varianza y organizados en forma de cuadros para su mejor comprensión.

Tabla 3. Calendario de sacrificio

GRUPOS EXPERIMENTALES	DESCRIPCION
1	Testigo, inoculado, no tratado, sacrificado al mes posterior a la inoculación
2	Testigo, no inoculado, no tratado, sacrificado al mes posterior a la inoculación
3	inoculado, con tratamiento, sacrificado a los treinta días posteriores a la inoculación
4	inoculado, con tratamiento, sacrificado a los 60 días posteriores a la inoculación
5	inoculado, con tratamiento, sacrificado a los 90 días posteriores a la inoculación
6	inoculado, con tratamiento, sacrificado a los 120 días posteriores a la inoculación

14. RESULTADOS

Se observó el comportamiento migratorio de las larvas ya descrito, con el mayor asentamiento de larvas en músculo esquelético y cerebro a los 60 días de inoculación. El grupo no inoculado (sin inoculación de huevos de *Toxocara canis* y tratado únicamente con glicerinfomal y propilenglicol vehículo empleado para la ivermectina) no presentó larvas y sirvió para verificar que las unidades experimentales estaban libres de larvas de *Toxocara canis*.

El grupo inoculado sin tratamiento (grupo testigo inoculado) fue el que presentó la mayor concentración de larvas con una sumatoria total de 1921 larvas en 10 ratones (tabla 4). En cerebro se encontraron 743 larvas mientras que en músculo esquelético 1051 y una baja proporción de larvas en hígado, pulmón, riñón y corazón, lo que concuerda con el patrón migratorio de los organismos en el período de sacrificio (un mes pos-infestación).

Tabla 4. Larvas de *Toxocara canis* en el grupo inoculado no tratado recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.

RATÓN	HÍGADO	RIÑÓN	PULMÓN	CEREBRO	CORAZÓN	MÚSCULO	Total de larvas por ratón
1	2	8	4	19	1	95	129
2	0	2	0	96	0	140	238
3	0	4	5	92	0	85	186
4	4	2	10	19	2	66	103
5	5	4	4	51	0	136	200
6	2	0	1	119	0	90	212
7	5	6	1	76	1	101	190
8	13	3	4	158	1	112	291
9	4	1	1	86	22	182	296
10	3	0	2	27	0	44	76
Total	38	30	32	743	27	1051	1921

El grupo de animales inoculados y sometidos a un solo tratamiento de la asociación albendazol-ivermectina, aplicado a los 30 días de haber sido inoculados, se observó que la concentración de larvas en cerebro no varió con el tratamiento, pero en músculo esquelético si ocurrió una reducción de 1051 a 864 larvas (18 % de reducción), en los demás órganos no se observó reducción significativa de las larvas, los resultados obtenidos en este grupo pueden ser observados en la tabla 5.

En el grupo de ratones inoculados que se sometieron a dos tratamientos (30 y 60 días postinoculación) con la asociación albendazol-ivermectina, y sacrificados a los 90 días, se observó una reducción en el número de larvas recuperadas en músculo esquelético, comparadas contra el grupo inoculado y no tratado (1,051 larvas en el grupo inoculado y no tratado contra 250 larvas totales del grupo tratado dos veces que corresponde al 76.21 % de reducción), entre los grupos con uno y dos tratamientos (864 larvas totales contra 250 en los que recibieron dos tratamientos corresponde a una reducción del 71.06 % de reducción) aquí también se observó una reducción de la cantidad de larvas en los órganos de paso como hígado, riñón, pulmón y corazón; resalta que en cerebro hubo una reducción de 809 larvas en el grupo que recibió un solo tratamiento contra 560 larvas en el que recibió dos lo cual corresponde a una reducción del 30.77% los resultados pueden verse en la tabla 6.

En el grupo de animales tratados con tres dosis de la asociación albendazol-ivermectina aplicados a los 30, 60 y 90 días de la inoculación y sacrificados a los 120 días postinoculación, se observó que el número de larvas en músculo no variaron significativamente, pero sí se observó una reducción de organismos en cerebro de 809 larvas en los animales que recibieron un solo tratamiento contra 315 larvas en los animales que recibieron tres tratamientos que corresponde a 61.06% de reducción y comparando contra los resultados de los animales que no recibieron los medicamentos corresponde al 55.02% de efectividad en larvas totales, observándose evidencia de actividad migratoria en los órganos de paso que mostraron reducción de larvas al paso del tiempo, los resultados encontrados en los animales de este grupo pueden observarse en la tabla 7.

En el grupo de animales que recibieron cuatro dosis de la asociación de albendazol-ivermectina a los 30, 60, 90 y 120 días de inoculación con una reducción que iba de 105 larvas en promedio por animal en músculo esquelético en el grupo de los inoculados y no tratados contra 4 larvas por animal en el grupo de los que recibieron cuatro tratamientos lo cual corresponde al 98.47% de reducción, en cerebro se observó el mismo comportamiento de reducción de 74 a 37 larvas promedio por animal con una reducción porcentual de 80.08% con la eliminación casi total de las larvas en los órganos de paso, los resultados de la digestión de estos animales se pueden observar en la tabla 8.

Tabla 5. Larvas de *Toxocara canis* en el grupo de ratones que recibió un solo tratamiento de la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.

RATÓN	HÍGADO	RIÑÓN	PULMÓN	CEREBRO	CORAZÓN	MÚSCULO	Total de larvas por ratón
1	11	0	1	131	1	13	157
2	4	4	1	89	1	20	119
3	2	1	24	54	0	36	117
4	16	9	19	45	0	0	89
5	2	2	4	98	1	82	189
6	7	9	6	106	0	71	199
7	4	8	9	42	4	151	218
8	2	0	1	89	0	131	223
9	3	5	3	113	0	83	207
10	1	3	4	42	1	277	328
Total	52	41	72	809	8	864	1846

Se puede observar en esta tabla la tendencia a la acumulación de larvas en el tejido cerebral y la musculatura esquelética, con valores relativamente altos en el hígado y el pulmón que son los órganos en los que se inicia la migración de los estados larvarios, los datos de riñón corresponden a la migración de larvas para su asentamiento definitivo.

Tabla 6. Larvas de *Toxocara canis* en el grupo de ratones que recibieron dos tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.

RATÓN	HIGADO	RINÓN	PULMÓN	CEREBRO	CORAZÓN	MÚSCULO	Total de larvas por ratón
1	0	0	0	34	0	9	43
2	3	1	1	97	2	31	135
3	1	2	0	58	0	44	105
4	3	12	0	99	4	35	153
5	12	1	2	51	0	51	117
6	0	0	0	20	0	11	31
7	2	23	1	25	1	0	52
8	1	0	2	14	2	0	19
9	3	0	1	108	0	10	120
10	0	2	1	56	0	59	118
Total	25	41	8	560	9	250	893

En esta gráfica se puede observar el predominio en asentamiento de larvas en musculatura esquelética y tejido cerebral, con una reducción importante de larvas en hígado y pulmones, en función del papel que desempeñan esos órganos en la migración del parásito para su asentamiento definitivo, se observa también la presencia de cantidades constantes de larvas migratorias por riñón.

Tabla 7. Larvas de *Toxocara canis* en el grupo de ratones sometidos a tres tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.

RATÓN	HIGADO	RINÓN	PULMÓN	CEREBRO	CORAZÓN	MÚSCULO	Total de larvas por ratón
1	2	2	1	34	0	243	282
2	0	2	0	54	0	107	163
3	1	1	1	26	0	26	55
4	0	0	0	22	0	0	22
5	0	0	0	29	0	141	170
6	0	0	0	23	0	0	23
7	0	3	0	127	0	19	149
Total	3	8	2	315	0	536	864

Se puede observar en los tejidos de estos animales el mantenimiento de la concentración de larvas en tejido muscular esquelético y cerebro, con valores muy reducidos en tejidos distintos a los señalados anteriormente, que sin embargo, evidencian el movimiento de larvas hacia los sitios de mayor asentamiento.

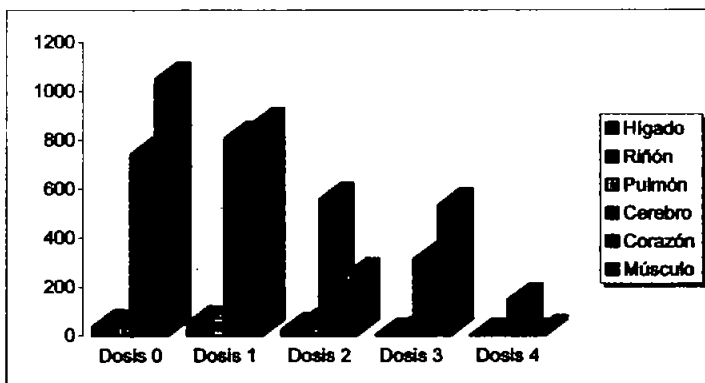
Tabla 8. Larvas de *Toxocara canis* del grupo de ratones sometidos a cuatro tratamientos con la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.

RATÓN	HÍGADO	RIÑÓN	PULMÓN	CEREBRO	CORAZÓN	MÚSCULO	Total de larvas por ratón
1	0	0	0	12	0	0	12
2	0	0	2	71	0	0	73
3	0	0	0	37	0	0	37
4	0	0	0	28	0	16	44
Total	0	0	2	148	0	16	166

En esta tabla se puede observar que se mantiene la tendencia a concentrarse las larvas en tejido muscular esquelético y cerebro pero ya con una notable reducción con respecto a los resultados observados en los demás grupos estudiados.

En la siguiente gráfica (gráfica 1) se compara el número de larvas recuperadas por tratamiento aplicado, siendo visible la reducción en las cuentas de larvas por tratamiento aplicado.

Gráfica 1. Comparación del número de larvas recuperadas de los ratones inoculados con huevos larvados de *Toxocara canis* con los diferentes esquemas de tratamiento a base de albendazol-ivermectina.



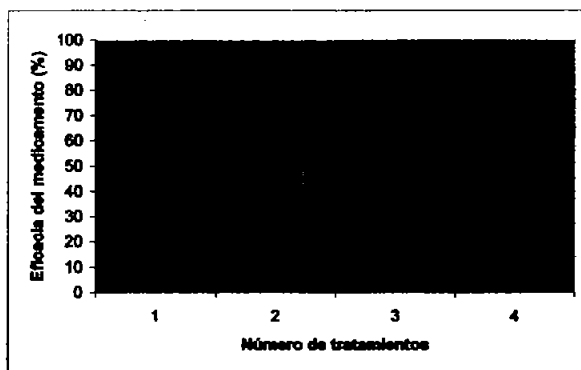
Tomando en cuenta el grupo sin tratamiento (grupo testigo) y haciendo una comparación entre todos los grupos tenemos los siguientes porcentajes de efectividad mostrados en la tabla 9.

Tabla 9. Porcentajes de eficacia por tratamiento en parasitismo total, músculo y cerebro con respecto al grupo control.

Tratamientos	Cerebro	Músculo	Totales
1	8.08%	17.79%	3.90%
2	24.62%	76.21%	53.51%
3	57.60%	49%	55.02%
4	80.08%	98.47%	91.35%

Aunque la efectividad del medicamento va en aumento como se muestra en la gráfica 2, con 4 tratamientos se eleva hasta el 91.35% posiblemente esto sea debido a que el número de unidades experimentales de ese grupo era reducido (4 ratones) por lo que posiblemente sea lo que está afectando a que el patrón de aumento de la efectividad se vea alterado.

Grafica 2. Comparación de la efectividad global de los medicamentos en los diferentes lotes de ratones inoculados con larvas de *Toxocara canis* sometidos a uno, dos, tres y cuatro tratamientos.

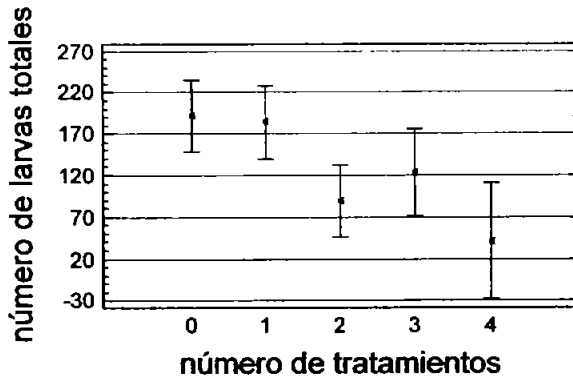


En esta gráfica se presentan los porcentajes de efectividad de la asociación albendazol-ivermectina en los diferentes tratamientos.

Se realizó un análisis de varianza multifactorial para comparar los resultados en cuanto al nivel de reducción de larvas entre los diferentes grupos de tratamientos, se obtuvo una $F_c = 6.0568 > F_t = 2.69$, que presentó significancia estadística $\alpha = 0.05$ lo cual demuestra que la aplicación de este esquema de tratamiento es adecuado para la eliminación de las larvas en los tejidos de los ratones infectados, la tabla de ANOVA de este análisis puede ser consultada en el anexo 1.

Para comparar las diferencias entre medias de grupos con los diferentes tratamientos se elaboró una gráfica en donde se muestra las medias y los intervalos de Tukey a una significancia del 5%. (gráfica 3).

Gráfica 3. Comparación entre la aplicación de diferente número de tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina contra larvas totales de *Toxocara canis* recuperadas mediante el proceso de digestión artificial

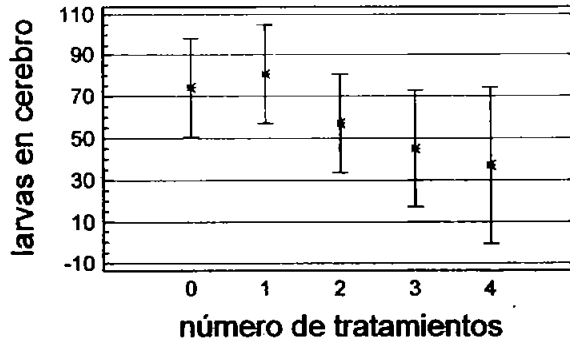


Donde 0 es igual al grupo testigo

En esta gráfica se puede observar que el tratamiento 0 y 1 son iguales, lo mismo que los tratamientos 2, 3, y 4; por lo que solamente hay una diferencia significativa ($\alpha=0.05$) entre los tratamientos 0-2, 0-4, 1-2 y 1-4. Por lo que son los únicos grupos en los que se pueden comparar los resultados de suministrar la asociación ivermectina-albendazol con los demás tratamientos no presentando diferencia significativa por lo que todas esas medias son iguales.

Se realizó también el análisis de varianza para los resultados encontrados en cuanto a cantidad de larvas en los cerebros de los diferentes grupos partiéndose de una $H_0 =$ que no existe actividad contra larvas en cerebro, encontrándose una $F_c = 1.8097 < F_t = 2.69$ ($\alpha=0.05$) que no fue estadísticamente significativo, la tabla de ANOVA puede consultarse en el anexo 1.

Gráfica 4. Comparación del número de tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina contra larvas recuperadas de *Toxocara canis* en cerebro con el proceso de digestión artificial.

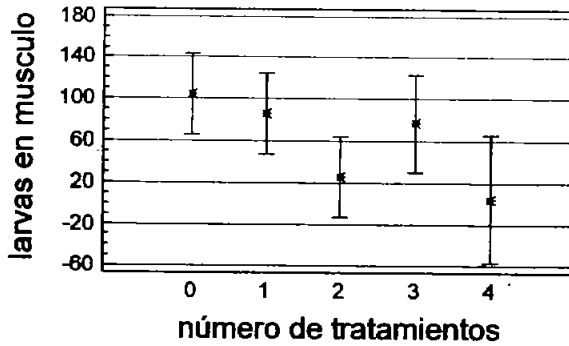


Donde 0 es igual al grupo testigo

Con los datos del ANOVA aplicado a tejido cerebral se elaboró la gráfica 4 la cual muestra que entre los tratamientos no hay diferencia significativa entre ningún grupo por lo que los valores son iguales.

Finalmente los resultados obtenidos de tejido muscular de los diferentes grupos se sometieron a un análisis de varianza partiendo de $H_0 =$ los tratamientos no actúan contra las larvas en músculo esquelético, obteniendo una $F_c = 3.5865 > F_t = 2.69$ ($\alpha = 0.05$) que mostró significancia estadística, lo cual implica que la aplicación de varios tratamientos con la asociación albendazol-ivermectina si produce una disminución de la cantidad de larvas de *Toxocara canis* presentes en la musculatura esquelética, la tabla de ANOVA completa puede ser consultada en el anexo 1 y las diferencias entre medias de los diferentes grupos pueden ser observadas en la gráfica 5.

Gráfica 5. Comparación del número de tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina contra larvas recuperadas de *Toxocara canis* en músculo esquelético con el proceso de digestión artificial.



Donde 0 es igual al grupo testigo

Aquí lo que se puede ver es que el tratamiento 0-2 y 0-4 son significativamente diferentes entre ellos, el resto de los grupos no presentan diferencia significativa ($\alpha=0.05$).

15. DISCUSIÓN

Diferentes antihelmínticos han sido utilizados para eliminar estados larvarios de *Toxocara canis*, con los cuales se han realizado estudios para determinar su efectividad, en ese listado se incluye a la ivermectina, la cual pertenece a la familia de las lactonas macrocíclicas y en años recientes la competencia con los nuevos compuestos de esta misma familia que van cobrando importancia y popularidad por sus propiedades endectocidas que se van extendiendo prácticamente por todas las especies y han alcanzado ya a los seres humanos y por otro lado el albendazol, el cual pertenece al grupo de los bencimidazoles y que es altamente eficaz contra infestaciones por nematodos, por ello se utilizó la asociación de estos medicamentos aprovechando sus propiedades larvicidas con el fin de eliminar la mayor cantidad de los parásitos alojados en músculo y en cerebro, este último sitio de difícil acceso a los medicamentos.

Los resultados obtenidos después del análisis estadístico, mostraron que la asociación ivermectina-albendazol generó una reducción del 79% para el caso de larvas totales, del 50% en cerebro (no significativa) y del 90% para el caso de músculo esquelético. Por lo que la eliminación de larvas de *Toxocara canis* con los dos primeros tratamientos tiene porcentajes de disminución más importantes y las posteriores son de menor impacto invirtiéndose más tiempo y dinero.

Los antecedentes del uso de ivermectina contra larvas de *Toxocara canis* incluyen el estudio de Abo-Shehada y Hebert, en 1984 con un modelo de ratones aplicando ivermectina (0.2 mg kg^{-1} subcutánea y oral), así como levamisol (100 mg kg^{-1} oral y 150 mg kg^{-1} subcutáneo), fenbendazol (100 mg kg^{-1} oral) y albendazol (100 mg kg^{-1} oral). El periodo de tratamiento fue del día 2 al 7 posinfestación con 2000 huevos larvados de *Toxocara canis*, siendo sacrificados el día 8 y 35 posinfestación. Al día 8 de sacrificio con levamisol oral hubo un cambio en la zona de asentamiento de las larvas, recuperando la mayor cantidad en hígado con respecto al grupo control, así también para el levamisol subcutáneo no se produjo reducción larvaria alguna en ambos casos. Al día 35 de sacrificio hubo una disminución del 70% del parasitismo total con levamisol oral, mientras que con el tratamiento subcutáneo se alcanzó una reducción del 65%. En el caso de la ivermectina al día 8 de sacrificio, no hubo una

reducción en larvas recuperadas sin embargo, se encontró una modificación en la distribución de larvas teniendo la mayor cantidad en hígado, tanto para la forma oral como para la forma subcutánea. Mientras que para el día 35 de sacrificio, hubo una reducción del 80% tanto para la forma oral como para la subcutánea, pareciéndose esta reducción a nuestros resultados obtenidos con 4 tratamientos aplicados mensualmente. Para el caso del fenbendazol la reducción fue del 20%, mientras que para el albendazol fue del 38% del parasitismo total con respecto al control

Martínez y col. en 1993; también ensayaron con varios principios detectando que el producto más eficaz a dosis única contra larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones fue la ivermectina (0.2 mg kg^{-1} subcutánea) con un 91% de efectividad (que esta por encima de los valores reportados por Abo-Shehada y col. 1984), comparadas con metrifonato (50 mg kg^{-1} oral) con un 43% de efectividad, dietilcarbamazina (50 mg kg^{-1} oral) con un 45.5% de efectividad. Comparando nuestros resultados se obtiene el mismo porcentaje de efectividad con la ivermectina, sin embargo nosotros la obtuvimos aplicando 4 dosis mensuales. Lo cual nos indica que posiblemente estos 10 últimos años se haya ido reduciendo la actividad del producto.

Fok y Kassai, en 1998 trabajando con ratones inoculados con 1000 huevos larvados de *Toxocara canis*, aplicando ivermectina (0.6 mg kg^{-1} subcutáneo y oral) e ivermectina (6 mg kg^{-1} en el alimento), fenbendazol (1.6 g kg^{-1} , 6 g kg^{-1} y 9.6 g kg^{-1} en el alimento) y albendazol (1.6 g kg^{-1} y 3 g kg^{-1} en el alimento) comenzando el tratamiento el día 87 postinfestación con una duración de 10 días de tratamiento para la ivermectina y albendazol (1.6 g kg^{-1}), de 20 días para fenbendazol (1.6 g kg^{-1} , 6.0 g kg^{-1} y 9.6 g kg^{-1}) y albendazol (1.6 g kg^{-1}) y de 30 días para en fenbendazol (1.6 g kg^{-1} , 6.0 g kg^{-1}) y albendazol (3.0 g kg^{-1}). Obteniendo la mayor reducción de larvas (98%) para el fenbendazol a dosis de 6.0 g kg^{-1} suministrada en el alimento, seguido del albendazol a dosis de 1.6 g kg^{-1} (97.1 % de reducción larvaria), una reducción del 33.5% de larvas para el caso de la ivermectina administrada oralmente (0.6 mg kg^{-1}), 10.5% de reducción de larvas aplicando ivermectina subcutánea (0.6 mg kg^{-1}) y del 7.6% de reducción con ivermectina mezclada en el alimento (6.0 mg kg^{-1}). Lo cual sugiere que la ivermectina aplicada subcutáneamente a dosis muy elevadas (6.0 mg kg^{-1}) y aplicándola 10 días consecutivos no tuvo un efecto significativo en la reducción

de larvas, por lo que nuestra trabajo presenta mejores alternativas y modelos de aplicación para obtener una mejor efectividad aún 6 años después de este estudio.

Carrillo y Barriga en 1987, utilizando ratones inoculados con 1000 huevos larvados de *Toxocara canis* los trataron con levamisol (6 mg kg⁻¹ y 12 mg kg⁻¹ subcutáneamente) y con ivermectina (0.2 mg kg⁻¹ y 0.4 mg kg⁻¹ intramuscular), aplicadas los días 16 al 28 y siendo sacrificados el día 33 posinfestación, obteniendo los siguientes resultados: Utilizando levamisol a 6 mg kg⁻¹ se encontró una reducción en el conteo de larvas del 12.54%, con 12 mg kg⁻¹ (dosis toxica en el perro) encontraron una reducción del 64.25%, con ivermectina a 0.2 mg kg⁻¹ no encontraron reducción alguna ya que el numero de larvas totales fue superior en el tratamiento de ivermectina con respecto al control. Sin embargo la ivermectina a dosis de 0.4 mg kg⁻¹ tuvo una reducción de larvas del 43.12%. Con respecto a nuestro trabajo obtuvimos hasta un 91.35% de eficacia con 4 tratamientos aplicados mensualmente, siendo superior la efectividad a la que ellos encontraron con la dosis de ivermectina de 0.2 mg kg⁻¹.

Samanta y Ansari en 1990 compararon la actividad de la ivermectina en dosis de 0.2 mg kg⁻¹ subcutáneamente, el albendazol, el fenbendazol en dosis de 100 mg kg⁻¹ oral y el tiabendazol en dosis de 150 mg kg⁻¹ oral, los cuales se suministraron a las 24 horas de la infestación con L2 de *Toxocara canis* y diariamente por siete días posteriores y sacrificaron a los animales experimentales a los 10, 20 y 30 días postinfestación y encuentran que el albendazol genera una reducción promedio del 51.4%, con fenbendazol del 36.6%, con tiabendazol del 22.5% y con la ivermectina del 54.4%. En tanto el efecto sobre larvas presentes en cerebro fue del 89% para el albendazol, 92% para la ivermectina, para fenbendazol del 64% y para tiabendazol del 50%. Nuestros resultados presentaron una efectividad superior (92% de efectividad) en la reducción de larvas totales no siendo así para el caso de cerebro donde tuvimos una reducción del 80%, siendo comparados con este estudio.

Velebny y col. en el 2000 utilizando formulaciones liposomales de albendazol con glucanos y administrándolo subcutáneamente a ratones infestados con larvas de *Toxocara canis* usando dosis de 25 mg kg⁻¹, 2 veces al día durante 5 días después del día 28 posinfestación encontraron una eficacia del 62.8% en músculo y del 88%

en cerebro. Esta formulación liposomizada permite una liberación gradual y efectiva del principio logrando un 92.2% de efectividad, los datos previos sugieren que el albendazol si es capaz de eliminar larvas en cerebro, pero se requiere de incrementar la dosis y biodisponibilidad del medicamento en el organismo , la dosis empleada en este trabajo (5 mg kg^{-1}) fue cinco veces menor y aunque se uso ivermectina, esta no tiene capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica y destruir las larvas en el cerebro.

López y Mejía en 2002 encontraron una eficacia del 88.58% de eliminación de larvas de tejidos muscular y cerebral, después de 5 tratamientos mensuales con ivermectina a una dosis de 200 mcg kg^{-1} muy similar al porcentaje de eficacia encontrado en el presente trabajo.

González y Morales en el 2002 encontraron una eficacia del 50.13% para la ivermectina a dosis única de 200 mcg kg^{-1} , sin embargo la eficacia del presente trabajo fue superior debido al uso de la sinergia con albendazol en varias dosis en tanto que ellos suministraron una sola dosis.

Los estudios previos encontrados en la literatura muestran resultados variados con respecto al uso de la ivermectina y del albendazol, en este trabajo se pretendió utilizar las propiedades de estos principios como asociación para atacar la problemática que se tiene en la eliminación eficaz de larvas tanto en músculo esquelético como cerebro en un modelo murino inicialmente, con la intención de llevarlo después a la especie de interés. Los resultados obtenidos en nuestro trabajo muestran una reducción total de larvas (91.35%) que está dentro del rango de efectividad reportado en los últimos 20 años. Sin embargo, el uso del albendazol en este trabajo podría estar siendo un factor importante en esta efectividad, ya que la dosis utilizada de albendazol de 5 mg kg^{-1} no fue la suficiente como para eliminar las larvas alojadas en el cerebro o que la interacción albendazol-ivermectina esté antagonizando el efecto del albendazol. La alternativa más conveniente para los estudios posteriores sería utilizar la misma asociación de principios (albendazol-ivermectina) incrementado la dosis de albendazol, aumentando la frecuencia de aplicaciones de albendazol y aplicando el albendazol junto con glucano liposomizado como adyuvante como refieren Velebny y col. en el 2000.

16. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos sugieren que el uso de la asociación albendazol-ivermectina a las dosis utilizadas en este trabajo no resultan en una eliminación total de los estados larvarios de *Toxocara canis*, debiendo optarse por el uso de otras alternativas de administración del albendazol para provocar una mayor reducción en la carga larvaria de órganos con difícil acceso a los medicamentos, como en el caso de cerebro.

La remoción obtenida con el uso de la asociación usada (albendazol-ivermectina) a una sola dosis es del 3.90%, para la segunda dosis 53.51%, para la tercera dosis del 55.02% y para la cuarta dosis del 91.35% del parasitismo total.

Siendo la mayor remoción de larvas en músculo esquelético, ya que en corazón, pulmones, hígado y riñón casi no se observaron larvas debido a que son órganos de paso y al tiempo de sacrificio en el que se desarrollo este trabajo. Por lo que se sugiere ajustar la dosis de albendazol utilizada en el presente trabajo como una posible alternativa para el tratamiento de la larva migrans visceral.

17. BIBLIOGRAFÍA

1. Abo-Shehada, M.N y Herbert, I.V., Anthelmintic effect of levamisole, ivermectin, albendazole and febendazole on larval *Toxocara canis* infection in mice. Res. Vet. Sci. 36, 87-91. 1984.
2. Arena, J.P., Liu, K.K., Pares, P.S., Frazier, E.G., Culli, D.F., Mrozik, H y Schaeffer, J.M., The mechanism of action of avermectins in *Caenorhabditis elegans*: correlation between activation of glutamate-sensitive chloride current, membrane binding, an biological activity. J. Parasitol. 81, 286-294. 1995.
3. Bardón, R., Cuéllar, C. y Guillén, J., Evaluation by larval recovery of mebendazol activity in experimental murine toxocarosis. Int. J. of Parasitol. 25:5, 587-592. 1995.
4. Barriga, O.O., A critical look at the importance, prevalence and control of toxocarosis and the possibilities of immunological control. Vet. Parasitol. 29, 195-234. 1988.
5. Barron, C.N y Saunders, L.Z., Visceral larva migrans in the dog. Pathol. Vet. 3, 315-30. 1966.
6. Burke, T.M y Roberson, E.L., Prenatal and lactational transmission of *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*: experimental infection of the bitch before pregnancy. Int. J. Parasitol. 15, 71-5. 1985.
7. Carrillo, M. y Barriga, O.O., Anthelmintic effects of levamisole, hydrochloride or ivermectin on tissue: toxocariasis of mice. Am J. Vet Res. 48:21, 281-283. 1987.
8. Conception, J.E y Barriga, O. O., Transfer of infection- induced protection to *Toxocara canis* in a mouse model. Vet. Immunol. Immunopathol. 9, 371-82, 1995.
9. Cordero del Campillo M., Rojo F.A., Martínez A.R., Sánchez M.C., Hernández, S., Navarrete I., Díez P., Quiroz H. y Carvahlo M., Parasitología veterinaria. Editorial Mc. Graw-Hill-Interamericana 1999.
10. Dubey, J.P., Patent *Toxocara canis* infection in ascarid- naïve dogs. J. Parasitol. 64, 1021-3. 1978.
11. Dubinsky, P. Havasiova- Reiterova, K., Petko, B., Havorka, I. y Tomas Ovicova, O., Role of Small mammals in the epidemiology of toxocarosis, Parasitology, 110, 187-93, 1995.
12. Fernández, C.F. y Canto, A.G., Frecuencia de helmintos en intestinos de perros sin dueño sacrificados en la ciudad de Querétaro, Querétaro, México. Vet. Mex 33(3). 2002.
13. Figueroa, C.J., Ramírez, G.A., Ramos, M.E. y Salas, G.B., Imágenes de parásitos, colección original. 2002.

14. Finkelman F.D., Pearce E.J., Urban J.F. y Sher A., Regulation and biological function of helminth cytokine responses. *Immunoparasitol Today*. 12, A62-A66. 1991.
15. Flores A. J., Toxocariosis: zoonosis por nematodos. *Nuestros perros* No. 5. 1992.
16. Fok, E. y Kassai, T., *Toxocara canis* infection in the parasitic host: a study on the chemosusceptibility of the somatic larvae in mice. *Vet. Parasitol.* 74. 243-259. 1998.
17. Gillespie, S. H., Human toxocariasis. *Communicable Disease Report* 3 230-50.1993.
18. Gillespie, S. H., Human toxocariosis, a review, *V. Appl. Bact.* 63. 473-9.1987.
19. Gillespie, S.H. y Pearson, R.D., *Principles and Practice of Clinical Parasitology*. Ed. Wiley Johon. Inglaterra. 2001.
20. Glickman, L.T, Dubey, J.P. y Winslow, L.J., Serological response of ascarid-free dogs to *Toxocara canis* infection. *Parasitology*. 82. 383-7. 1981.
21. González, P. G. y Morales, M. F., Evaluación comparativa de la actividad antiparasitaria de la ivermectina, moxidectina y doramectina contra larvas enquistadas de *Toxocara (T.) canis*. Tesis. FESC-UNAM. 2002.
22. Goodman & Gilman., *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Vol II. Ed. Mc Graw Hill- Interamericana. México. 1996.
23. Grieve , R.B., Stewart, V.A. y Parsons, J.C., Immunobiology of larval toxocariasis (*Toxocara canis*): a summary of recent research in *Toxocara* and Toxocariasis, clinical, epidemiological and molecular perspectives, Lewis, J.W and Maizels R.M, Eds. *British Society for Parasitology and institute of Biology*, 117- 24. 1993.
24. Havasiová-Reiterová K., Tomasovicová O. y Dubinský P. Effect of various doses of infective *Toxocara canis* and *Toxocara cati* eggs on the humoral response and distribution of larvae in mice. *Parasitol. Res.* 81, 13-17. 1995.
25. Hiratochi, M., Takamoto, M., Tatemichi, S. y Sugane, K., Inhibition of interleukin 5 production with no influence on interleukin 4 production by an anti-allergic drug, tranilast, in *Toxocara canis*- infected mice. *Int. J. of Immunopharma.* 22, 463-471. 2000.
26. Jiménez, C. B., Salgado, V. G., Castro, O. L y Cabirol N., Laboratorio de microbiología, grupo tratamiento y reúso, Coordinación de bioprocesos ambientales. Ciudad Universitaria. UNAM.2001
<http://www.cdfound.to.it/HTML/blanca.htm>
27. Jin Luo. Z., Xi-Wang, G., Yang, C., Wen Cheng,S. y Lino, L., Detection of circulating antigens and antibodies in *Toxocara canis* infection among children in Chengdu, China. *J. Parasitol.* 85:2. 252-285. 1999.

28. Johnstone, C., Parasites and Parasitic Disease of Domestic Animals. University of Pennsylvania. 2000.
29. Kasai, T., Chemotherapy of larval toxocariasis: progress and problems. Overview from veterinary aspects. *Helminthologia*. 32, 133-41, 1995.
30. Kerr-Muir M.G., *Toxocara canis* and human health. *British J. Med.* 309, 5-6. 1994.
31. Köhler P., The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *Int. J. of Parasitol.* 31. 336-345. 2001.
32. Lloyd, S., Amersinghe, P.H y Soulsby, E.J.L., Periparturient immunosuppression in the bitch and its influence on infection with *Toxocara canis*. *J. Small. Anim. Pract.* 24, 237-47.1983.
33. Lloyd, S., *Toxocara canis*: the dog in *Toxocara* and toxocariasis, clinical, epidemiological and molecular perspectives. Lewis, J.W and Maizels, R.M, Ed S. British Society for Parasitology and Institute of Biology, 11-24. 1993.
34. López, H. E. y Mejía, M. J., Efecto de dosis repetitivas de ivermectina sobre larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos. Tesis. FESC - UNAM. 2002.
35. Maizels R.M., Tetteh K.A. y Loukas A., *Toxocara canis*: genes expressed by the arrested infective larval stage of a parasitic nematode. *Int. J. of Parasitol.* 30, 495-508. 2000.
36. Maizels, R., Biology of *Toxocara canis*, *Toxocara* page. 1999.
http://helios.bto.ed.ac.uk/icapb/maizels/rmm_ToXocara.html
37. Maizels, R.M y Meghji, M., Repeated patent infection of adult dogs with *Toxocara canis*. *J. Helminthol.* 58, 327-33, 1984.
38. Martínez, B.I., Gutiérrez, Q.M., Fernández, P.A., Pérez, L.M., Vázquez, T.O y García Y.Y., Reactividad serológica a un antígeno de *Toxocara canis* en una población escolar. *Rev. Mex. Patol. Clin.* 44(2) 85-89. 1997.
39. Martínez, L., Apuntes de parasitología humana. FESC-UNAM. 2000.
40. Martínez, L., González, L.C., Carrillo, M.L. y Alba, H.F., Estudio comparativo sobre la eficacia de diferentes antihelmínticos contra larvas enquistadas de *Toxocara canis*. Congreso AMMVEPE, Monterrey, Nvo. León, México. 1993.
41. Mustoe, T., *Toxocara canis*: a review. Stage 3 Biological Imaging. Independieny studies.1999.
<http://vertigo.derby.ac.uk/BiologicalImaging/Shows/fvs99/tm/toxocara520canis.pdf>
42. Oshima, T., Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations on the normal migration routes of the larvae. *J. Parasitol.*, 47, 652-61.1961.

43. Overgaauw, P. A. M., Prevalence of intestinal nematodes of dogs and cats in the Netherlands. *Vet. Quart.* 19, 14-7. 1997. (a)
44. Overgaauw, P.A.M., Aspects of *Toxocara* Epidemiology: Toxocarosis in Dogs and Cats. *Crit. Rev. Microbiol.* 23(3), 233-251.1997. (b)
45. Overgaauw, P.A.M., Aspects of *Toxocara* epidemiology, human Toxocarosis., *Crit. Rev. Microbiol.* 23: 215-231. 1997. (c)
<http://www.library.uu.nl/digiarchief/dip/diss/01754824/c2.pdf>
46. Parsons, J. C. y Grieve R. B., Kinetics of liver trapping of infective larvae in murine toxocarosis. *J. Parasitol.* 76:4, 529-536. 1990.
47. Parsons, J.C., Ascarid infections of cats and dogs. *Vet. Clin. N. Am.* 17. 1307-13.1987.
48. Parsons, J.C., Bowman. D.D. y Grieve, R.B., Pathological and haematological responses of cats experimentally infected with *Toxocara canis* larvae. *Int. J. of Parasitol.* 19:5, 474-488. 1989.
49. Pong, S., Wang, C.C. y Fritz, L.C., Studies on the mechanism of action of avermectin B_{1a}: stimulation of release of gamma-aminobutyric acid from brain synaptosomes. *J. Neurochem.* 34, 351-358. 1980.
50. Quiroz, R.H., Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. Noriega editores. México, 2002.
51. Radman, N.E., Archelli, S.M., Fonrouge, R.D., Guardis M del V. y Linzitto, O.R. Human Toxocarosis. Its seroprevalence in the city of La Plata. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* Rio de Janeiro. 95:3. 281-285. 2000.
52. Ridley, R.K., Dryden, M.W., Gabbert, N. H y Schoning, P., Epidemiology and control of helminth parasites in Greyhound breeding farms. *Comp. Con. Educ. Pract.*, 16, 585-99, 1994.
53. Rodríguez-Vivas, R., Cob-Galera, L. y Domínguez-Alpizar, J., Frecuencia de parásitos gastrointestinales en animales domésticos diagnosticados en Yucatán, México. *Rev. Biomed.* 12(1). 2001.
54. Ryan, W.G., Ivermectin/Doramectin/Moxidectin – Structure and Generation. *Vet. Bull.* 1999.
55. Samanta, S. y Ansari, M.Z., Anthelmintic effect of ivermectin, albendazole, fenbendazole and thiabendazole on larval *Toxocara canis* infection in mice. *Ind. J. of Anim. Sci.* 60:10, 1195-1196. 1990.
56. Schön, J. y Stoye, M., Prä- und galaktogene infektionen mit *Toxocara mystax* ZEDER 1800 (Anisakidae) bei der maus. *J. Vet. Med. B.* 33, 397-412. 1986.

57. Scothorn, M.W., Koutz, F.R. y Groves, H.F., Prenatal *Toxocara canis* infection in pups. J. Am. Vet. Med. Assoc. 146, 45-8. 1965.
58. Shoop, W.L., Ostlind, D.A., Roher, S.P., Mickle, G., Haines, H.W., Michael, B.F., Mrozik, H. y Fisher, M.H., Avermectins and milbemycins against *Fasciola hepatica*: in vivo drug efficacy and in vitro receptor binding. Int. J. Parasitol. In press. 1995.
59. Shore, G.L., Diagnostic Medical Parasitology. Ed. ASM Press. Estados Unidos. 2001.
60. Sprent, J.F.A., Observations on the development of *Toxocara canis* (Werner, 1782) in the dog. Parasitology. 48, 184-209, 1958.
61. Steele, J.W., NRA Special Review of Macrocytic lactones. Chemical Review Section. Canberra Australia. 1998. <http://www.nra.gov.au/chemrev/macdac.pdf>
62. Stejkskal, V.M y Johansson, I.G., Immunological aspects of *Toxocara canis* infection in Beagle dogs, Proceedings of the XI Symposium of the Scandinavian Society for parasitology. Stockholm, Sweden, 18-9, august 17 to 19. 1983.
63. Sturchler, D., Schubarth, P., Gualzata, M., Gottstein, B. y Oetti, A., Thiabendazole vs. Albendazole in treatment of toxocarosis: a clinical trial. Ann. Trop. Med. Parasitol. 83:5, 473-8. 1989.
64. Sumano, H., Ocampo, L. y Pulido, E., Manual de Farmacología clínica para pequeñas especies. Ediciones Cuellar. México. 2000.
65. Thienpont, D., Rochette, F. y Vanparijs, O., Diagnóstico de las helmintiasis. Jan. Res. Foun. Bélgica. 1979.
66. Tolan R.W., Konop R., Barton L.L., Raunch D. y Steele R., Toxocarosis. Medicine Journal. 2-5. 2001.
67. Tomimura, T., Yokota, M. y Tokiguchi, H., Experimental visceral larva migrans in monkeys. I. clinical, hematological, biochemical and gross pathological observations on monkeys inoculated with embrionated eggs of the dog ascarid, *Toxocara canis*. Jap. J. Vet. Sci. 38: 533-548. 1976.
68. Velebny, S., Hrcckova, G. y Tomasovicova, O., *Toxocara canis* in mice: effect of stabilised liposomes on the larvicida efficacy of febendazole and albendazole. Helminthologia. 37, 195-198. 2000.
69. Warren, E.G., Infections of *Toxocara canis* in dogs fed infected mouse tissues. Parasitology. 59, 837-41. 1969.
70. Zimmerman, V., Löwenstein, M.D y Stoye, M., Untersuchungen isber die wanderung aund streuung der larven van *Toxocara canis* WERNER 1782 (Anisakidae) im definitiven wirt (be3agle) nach Erst- und reinfection. Z. Vet. Med. B., 32, 1 -28, 1985.

ANEXO 1

Tabla de análisis de varianza para el total de larvas de *Toxocara canis*

FV	g.l	SC	CM	Fc
Tratamientos	4	113410.92	28352.73	6.0568
Error	36	168520.18	4681.12	
Total	40	281931.10		

$$F_t = 2.69 \quad \alpha = 5\%$$

Planteamiento de hipótesis:

H_0 = Los tratamientos no actúan contra las larvas en todo el ratón

H_1 = Los tratamientos actúan contra las larvas en todo el ratón

$F_c > F_t = 6.7338 > 2.69$ por lo tanto: **Se rechaza H_0 .**

Conclusión: El tratamiento actúa contra las larvas en total.

Tabla de análisis de varianza para cerebros

FV	g.l	SC	CM	Fc
Tratamiento	4	9941.44	2485.36	1.8097
Error	36	49439	1373.31	
Total	40	59380.44		

$$F_t = 2.69 \quad \alpha = 5\%$$

Planteamiento de hipótesis:

H_0 = Los tratamientos no actúan contra las larvas en cerebro

H_1 = Los tratamientos actúan contra las larvas en cerebro

$F_c < F_t = 1.2719 < 2.69$ por lo tanto: **Se acepta H_0 .**

Conclusión: Los tratamientos no actúan contra las larvas en cerebro.

Tabla de análisis de varianza para músculos esqueléticos

FV	g.l	SC	CM	Fc
Tratamientos	4	52415.05	13103.76	3.5865
Error	36	131529	3653.58	
Total	40	183944.05		

$$F_t = 2.69 \quad \alpha = 5\%$$

Planteamiento de hipótesis:

H_0 = Los tratamientos no actúan contra las larvas en músculo esquelético

H_1 = Los tratamientos actúan contra las larvas en músculo esquelético

$$F_c > F_t = 4.8469 > 2.69 \quad \text{por lo tanto se rechaza } H_0.$$

Conclusión: Los tratamientos si actúan contra las larvas en el músculo esquelético.

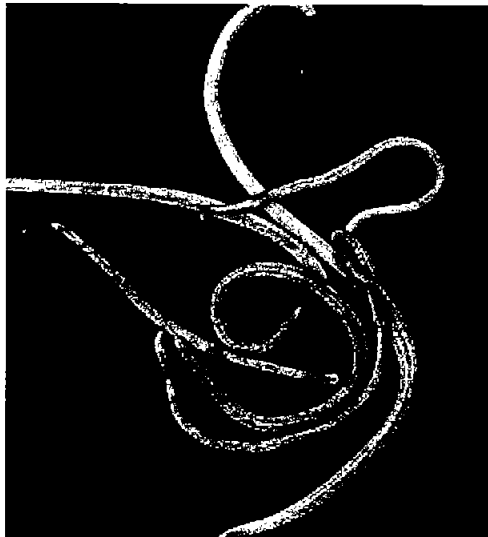


3. MORFOLOGÍA

Los adultos (Figura 1) machos de *Toxocara canis* miden de 4 a 10 cm. por 2 a 2.5 mm. de diámetro y las hembras de 5-18 cm de largo por 2.5 a 3 mm. de diámetro. Presentan 3 labios, en el extremo anterior, poseen alas cervicales que les dan aspecto de punta de flecha. En el extremo posterior del macho se observan de 20 a 30 papilas preanales, 5 postanales y un estrechamiento terminal en forma de apéndice. (Cordero del Campillo y col. 1999)

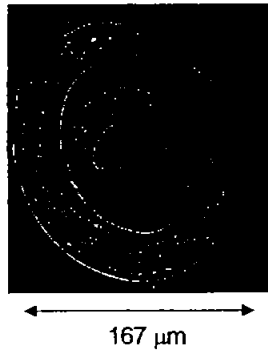
La larva dos (L2) de *Toxocara canis* mide aproximadamente 500 micrómetros (μm) de longitud por 20 μm de ancho, con motilidad activa y algunas características morfológicas que comparte con las formas adultas. (Figura 2) (Flores, 1992)

Figura 1. Fotografía de gusanos adultos hembra y macho de *Toxocara canis*



(University of Wisconsin-Madison)

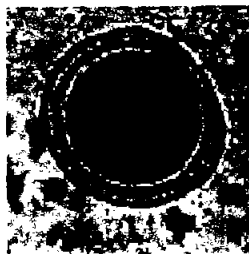
Figura 2. Fotografía de una larva de *Toxocara canis*.



(Thienpont y col, 1979)

Los huevos son subesféricos (Figura 3) con una cubierta gruesa, finamente granulada y miden de 85 a 95 μm por 75 a 90 μm . La cáscara del huevo presenta varias capas, la externa albuminosa, otras tres quitinosas, otra fibrilar e internamente la capa lipoidea, la cual proporciona una fuerte resistencia frente a las agresiones del medio exterior, en cualquier fase del desarrollo. Toleran perfectamente el frío y en condiciones óptimas de humedad y temperatura pueden conservar su vitalidad durante meses. (Flores, 1992)

Figura 3. Fotografía de huevo no larvado (izquierda) y larvado (derecha) de *Toxocara canis*



90 μm

(Thienpont y col, 1979)



45 μm

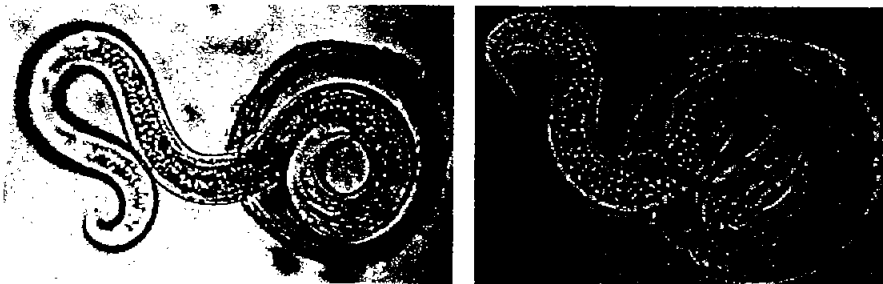
(Jiménez, 2001)

4. CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico de *Toxocara canis* es complejo (Figura 6), con cuatro posibilidades de transmisión: directa, mediante la ingestión de huevos embrionados; placentaria o congénita; lactogénica, por la leche materna y a través de la ingestión de hospedadores paraténicos. (Cordero del Campillo y col. 1999)

El ciclo biológico de *Toxocara canis* empieza cuando en las heces salen los huevos del parásito y se dispersan; en donde, si las condiciones de temperatura y humedad son óptimas, se desarrollan la segunda larva (infestante) dentro del huevo. Los perros se infestan por ingestión de huevos con la L2; ésta eclosiona en el intestino (Figura 4) y penetra la pared intestinal; la subsecuente migración está determinada por edad, sexo, estado reproductivo e infestaciones previas. En los cachorros menores de tres meses, las larvas pasan por vía linfática o sanguínea a los ganglios linfáticos o al hígado, donde continúan su migración al corazón y pulmones, la mayoría de las larvas pasan por los bronquios, tráquea, faringe y aquí son deglutidas. La muda para el tercer estado larvario es en el pulmón, tráquea y esófago. En el intestino delgado (Figura 5) se realiza la siguiente muda, que da lugar a la cuarta larva, crece y cópula y 4-5 semanas después los huevos salen en las heces. (Quiroz, 2002)

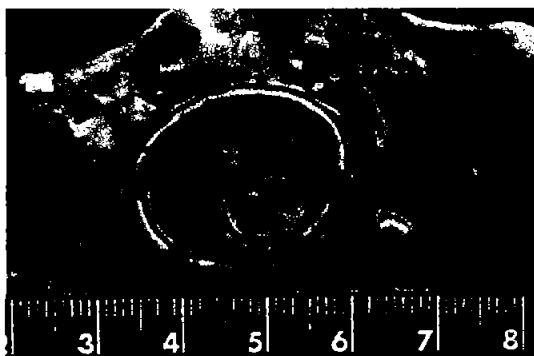
Figura 4. Larvas de *Toxocara canis* (L2) eclosionando del huevo



(Jiménez, 2001)

Algunas larvas cuando están en el pulmón regresan al corazón por la vena pulmonar y luego son distribuidas por la sangre en varios tejidos, donde permanecen en estado latente. En los perros adultos, la mayoría de las larvas no llegan al intestino, sino que pasan a la circulación general y permanecen en diferentes tejidos. Ahora bien, cuando una perra con larvas tisulares inicia una gestación, las larvas emigran hacia la placenta y se produce la infestación fetal. Los cachorros infestados por vía trasplacentaria, después de dos o tres semanas del nacimiento eliminan huevos del parásito en las heces. (Quiroz, 2002)

Figura 5. Fotografía de un gusano de *Toxocara canis* en Intestino delgado de perro



(Figueroa y col. 2002)

En hospederos móridos la larva migra rápido después de una inoculación oral de huevos infestantes, encontrándose un pico máximo en número de larvas dentro del lumen del intestino a las 4-6 horas. Las larvas entonces penetran rápidamente a todas las partes de la pared intestinal, especialmente en el ileon, después acceden a los linfáticos aferentes y a las venas portales y migran hacia hígado dispersándose por todo el cuerpo. (Parsons y Grieve, 1990)

Si huevos de *Toxocara canis* son ingeridos por hospederos no cánidos (por ejemplo humanos), las larvas penetran al epitelio mucosal pero tiempo después quedan en una fase de desarrollo restringido en el tejido. No obstante las larvas no

muestran un desarrollo o diferenciación morfológica y no pueden completar su ciclo de desarrollo, pero mantienen un metabolismo activo mostrando un comportamiento migratorio regularmente hacia músculo y tejido nervioso. Sus recorridos por todo el cuerpo en esta fase nos dan el estado clínico de larva migrans visceral y larva migrans ocular. (Maizels y col. 2000)

a) RESISTENCIA POR EDAD

Cuando un cachorro ha cumplido de 1 a 2 meses de edad, la probabilidad de que una nueva larva de *Toxocara canis* eclosione y se desarrolle hacia ascárido adulto es muy baja, mientras que la tendencia a la migración somática progresivamente se incrementa. La falla en producir infestaciones patentes en perros adultos es llamada resistencia por edad, lo cual no es "todo o nada" en la naturaleza, pero un decremento gradual en el grado de recuperación de los ascáridos adultos se observa mientras que la edad del perro avanza. El mecanismo de resistencia en perros adultos opera parcialmente dentro de los pulmones, tal vez como una respuesta de hipersensibilidad de tipo retardada. (Glickman y col. 1981)

El desarrollo de la inmunidad se ha mostrado en ratones infestados con huevos embrionados de *Toxocara canis* y se describe como una inmunosupresión después de una infestación con *Toxocara canis*, mientras que 2 ó 3 infestaciones parecen generar inmunoprotección. (Conception y Barriga, 1995)

Para determinar el origen de la respuesta inmune, ratones libres de parásitos fueron inyectados con linfocitos, suero o ambos, provenientes de ratones infestados con *Toxocara canis* en los días 1 y 100. Los ratones control recibieron el mismo material pero de ratones libres de parásitos. La comparación en las cuentas de las larvas después de la infestación experimental presentó una reducción significativa en su número en hígado y los pulmones después de la transferencia de células, mientras que la transferencia de suero redujo el número de parásitos en el cerebro y la carcaza. La combinación de suero y linfocitos mostró una acción sinérgica en los pulmones y el cerebro, pero una actividad antagonista en el hígado y la carcaza. (Barriga, 1988)

La razón del porque la inmunidad del hospedero no elimina a todos los parásitos de los tejidos, aun no se entiende: dos mecanismos de evasión de la inmunidad del hospedero por el estado larvario han sido sugeridos. Uno es la hipobiosis de las larvas en el tejido que presumiblemente reduce la producción de antígenos que inducen protección, los cuales rodean al parásito haciéndolo menos susceptible a la interferencia con el metabolismo del hospedero. El otro es inmunosupresión por interferencia con la función de células T colaboradoras (Th) las cuales inhiben la respuesta de los antígenos protectores del parásito y la producción de anticuerpos específicos hacia esos antígenos. (Barriga, 1988)

Algunos autores formularon la hipótesis de que el efecto de inmunosupresión en la gestación y lactación puede permitir a la larva tisular o a la larva de una nueva infestación llevar a cabo una migración por tráquea y subsecuentemente un desarrollo intestinal. En general, nuevas infestaciones en perras lactantes podrían ocurrir también por la ingestión de larvas IV inmaduras provenientes del vómito o heces de los cachorros. Las larvas pueden desarrollarse hacia adultos sin una migración por tráquea; esto podría también ser la explicación por la que se encuentran huevos producidos por gusanos de *Toxocara canis* en el intestino. (Barriga, 1988)

El hallazgo de huevos de *Toxocara canis* en las heces de la perra una semana después del parto y antes de la detección de huevos en las heces de sus cachorros, nos conduce a pensar en la hipótesis de la migración por tráquea de las larvas somáticas activadas de la perra. Además, estas perras fueron experimentalmente infestadas durante la gestación con 10,000 huevos, que representan una muy alta dosis, los cuales pueden causar la inmunosupresión o simplemente llevar a la resistencia. (Overgaauw, 1997b)

b) INFESTACIONES PATENTES EN LOS PERROS ADULTOS

Aunque la prevalencia de *Toxocara canis* es más alta en perros jóvenes, una cierta proporción de perros adultos puede ser infestada. (Sprent, 1958)

Los gusanos adultos de *Toxocara canis* se presentan como resultado de una respuesta inmune suprimida, la ingestión de bajas cantidades de huevos infestantes,

o seguido de la ingestión de hospederos paraténicos infestados. (Dubey, 1978; Warren, 1969)

Los perros adultos altamente susceptibles también pueden presentar gusanos adultos de *Toxocara canis*, aún con exposición repetida a los huevos y desarrollo de anticuerpos. Esto puede estar relacionado a ciertas razas, (ejemplo Grey-hounds), además del tamaño de dosis de huevos de *Toxocara canis*. (Maizels y Meghji, 1984)

c) MIGRACION SOMATICA

Los perros adultos pueden ser infestados por la ingestión de huevos larvados de *Toxocara canis* del ambiente, principalmente del suelo contaminado. La larvas eclosionan en el intestino y penetran la mucosa intestinal. La migración ocurre tanto vía linfática y sanguínea o activamente por la penetración de los tejidos y la invasión en todas partes del cuerpo. (Sprent, 1958)

Gradualmente las larvas somáticas se acumulan en los tejidos (migración somática) persistiendo por largos periodos de una manera similar a la que se observa en hospederos paraténicos. La larva de *Toxocara cati* prefiere migrar hacia los músculos, mientras que la larva de *Toxocara canis* se encuentra mas a menudo en el sistema nervioso central. (Sprent, 1958; Schön y Stoyale, 1986)

El tiempo de vaciamiento del tracto gastrointestinal aparece como uno de los más importantes factores. Si los huevos permanecen largo tiempo en el intestino, por ejemplo, con el estómago lleno, eclosionarán del 15 al 20% más de los huevos que normalmente eclosionan. (Oshima, 1961)

d) MIGRACIÓN TRASPLACENTARIA

Algunos estudios han mostrado que cerca del 100% de los cachorros son infestados *in útero* por el día 42 de la gestación por la larva somática, esto es llamado migración trasplacentaria o infestación intrauterina el cual es el modo de transmisión más importante en los perros; el 98.5% de las larvas están activadas. En los gatos, la

infestación prenatal vía placentaria no ocurre. (Scothorn y col. 1965; Lloyd, 1983; Burke y Roberson, 1985; Sprent, 1958)

La larva en perras gestantes es reactivada por uno o más factores desconocidos; el status en el cambio hormonal de la perra durante la gestación ha sido sugerido. Se ha descrito que inyecciones con prolactina gonadotrópica conllevan a una marcada depresión en el número de larvas en los tejidos del ratón que fueron experimentalmente infestados con *Toxocara canis* y sugiere que esta hormona está involucrada con la estimulación de la larva "dormante" reactivando su migración. (Oshima, 1961)

Dentro de las primeras horas de nacimiento, las larvas que estuvieron presentes en el hígado de los neonatos, migran hacia los pulmones siguiendo una ruta migratoria por tráquea. Los gusanos adultos pueden ser encontrados a las dos semanas de edad (Overgaauw, 1997a) y grandes cantidades de huevos son pasados con las heces después de un periodo mínimo de 16 días. (Ridley y col. 1994)

Poco se sabe acerca del número de larvas que pueden ser encontradas en los tejidos de la perra, la proporción de las larvas tisulares activadas durante la gestación y el tiempo de supervivencia de estas en los tejidos (Lloyd, 1993). La transmisión ocurre en gestaciones consecutivas, aún en ausencia de reinfestaciones entre cada parto. (Burke y Roberson, 1985)

e) TRANSMISIÓN TRANSMAMARIA

Después de la activación de la larva somática de *Toxocara canis* en los perros, también puede ser transmitida por el calostro y la leche (transmisión transmamaria, lactogénica), seguida de la ingestión por la camada la larva continuará su desarrollo sin una migración por tráquea. Las larvas se encuentran en la leche de las perras hasta el día 38 después del parto. (Zimmerman y col. 1985)

La perra lactante puede adquirir una infestación patente por *Toxocara canis* ingiriendo larvas intestinales eliminadas por el vómito o heces de los cachorros

durante la lactación. Un número de esas larvas maduran y se vuelven infestantes. (Sprenst, 1958)

Junto con los huevos ingeridos provenientes de las heces de sus cachorros, los perros lactantes pueden, por esta vía, diseminar grandes cantidades de huevos al ambiente. Entre la semana 4-10 después del parto, esta infestación desaparece espontáneamente. (Lloyd y col. 1983)

Se ha sugerido que esa supresión de resistencia de infestación durante la lactación y el desarrollo subsiguiente de *Toxocara canis* en el intestino es explicada por la influencia especial de la lactancia y la relación con la secreción de prolactina (Oshima, 1961). Esto parece que es confirmado por el hallazgo de que tales infestaciones son espontáneamente eliminadas dentro de la primera semana seguida del cese de la lactación. (Lloyd y col. 1983)

Finalmente, los huevos de *Toxocara canis* eliminados en las heces de los cachorros pueden ser ingeridos por la madre, donde ellos pasan a través del tracto digestivo provocando falsos positivos a la infestación por *Toxocara canis* después de un examen coproparasitológico. (Schön y Store, 1986)

f) TRANSMISIÓN A TRAVÉS DE HOSPEDEROS PARATÉNICOS

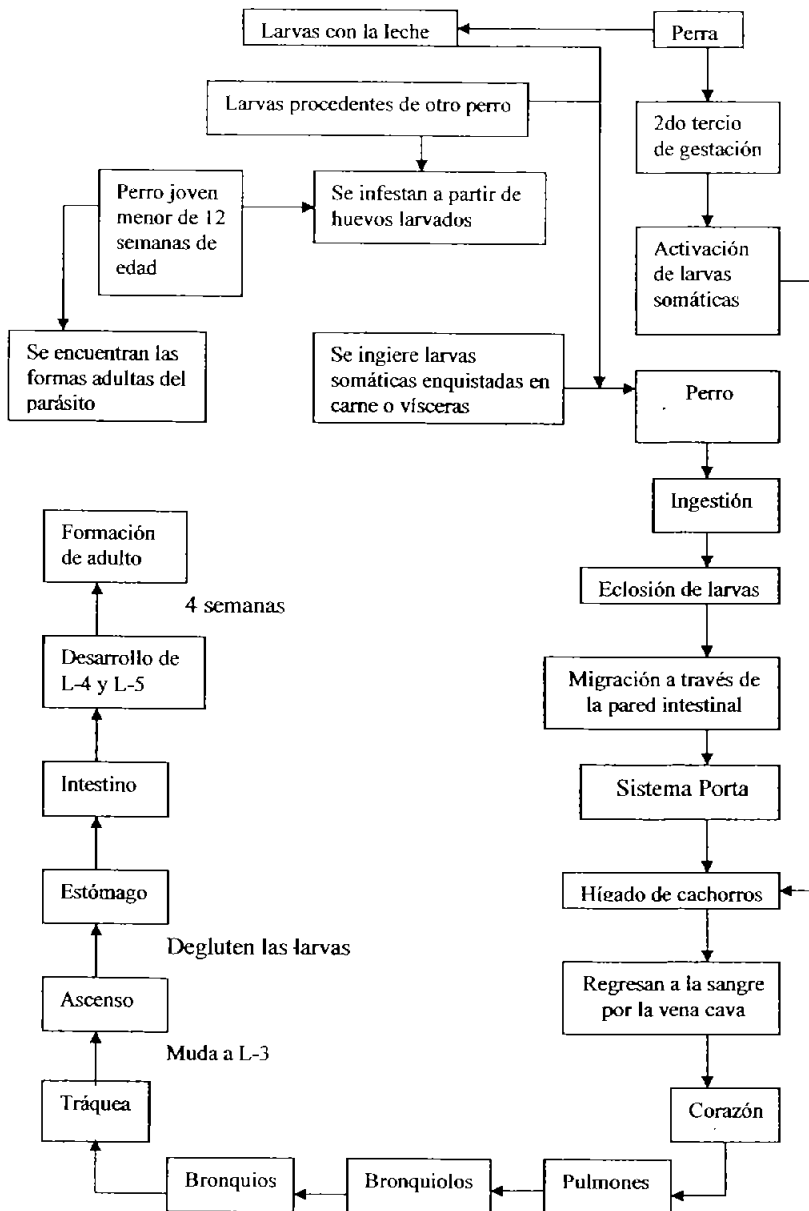
La paratenesis es el modo de infestación de algunas larvas de nematodos tales como *Toxocara canis*, esto asegura su supervivencia continua por su distribución en especies depredadas. (Grieve y col. 1993)

Esta ruta de infestación existe porque el desarrollo de larva somática en hospederos paraténicos incluye a vertebrados tales como roedores y pájaros o invertebrados como gusanos de tierra e insectos (moscas). Mamíferos pequeños juegan un papel importante como hospederos paraténicos en localidades urbanas y rurales. (Dubinsky y col. 1995; Oshima, 1961)

Después de la ingestión de los hospederos paraténicos infestados con la larva de *Toxocara canis* por el perro (Warren, 1969; Kasai, 1995), la larva se desarrolla

directamente en el intestino porque ya ha migrado en el hospedero anterior y se presume que ha llegado a una etapa apropiada de madurez por lo que ella puede desarrollarse en adulto en el intestino. En contraste con estas conclusiones, Warren, 1969 reportó que la larva de *Toxocara canis* en perros lleva a cabo una migración por tráquea llegando a adultos el día 19, seguido de su ingestión por un hospedero paraténico experimental (músculo de ratón).

Figura 6. Ciclo biológico de *Toxocara canis*



(Martínez, 2000)

5. PATOGENIA

La capacidad para dañar depende de la edad del animal, del número, localización y fase del desarrollo de los gusanos. El daño generado por este parásito está determinado en parte, por la migración larvaria que realizan por diferentes tejidos y por otra parte por sus necesidades metabólicas. En el primer caso las larvas ejercen acción traumática provocando hemorragias seguido de procesos inflamatorios agudos y posteriormente crónicos en su recorrido por diferentes tejidos, los cuales incluyen pared intestinal, parénquima hepático y pulmonar, ruptura de capilares y alvéolos, riñón, tejido muscular y cerebro. En forma paralela ejercen acción expoliatriz que en este caso es hematófaga e histófaga y de líquidos tisulares. Concomitantemente a esta se presenta la acción mecánica por obstrucción, que dependiendo la cantidad a nivel pulmonar y hepático puede ser manifiesto. La eliminación de mudas, líquido de mudas, secreciones y excreciones, ejercen acción antigénica que puede, por un parte, causar una respuesta inmune positiva y por otra, ocasionar efectos anafilácticos y alérgicos. (Quiroz, 2002)

Las migraciones que realizan las larvas de *Toxocara canis* corresponden a la vía entero-neumo-traqueo-enteral en cachorros. La migración entero-neumo-somática ocurre en el caso de reinfestaciones y animales adultos. (Quiroz, 2002)

Los nematodos que viven en el intestino, se alimentan de contenido intestinal; sin embargo, esta acción expoliatriz es selectiva, utilizando por ejemplo grandes cantidades de vitamina C y otros nutrientes de naturaleza protéica, lípidos y carbohidratos, además de otros elementos. Otras veces invaden el conducto colédoco y canales biliares produciendo estasis biliar, provocando por una parte mala digestión debido a la deficiente cantidad de bilis que pasa por intestino y por la congestión biliar a nivel hepático. (Quiroz, 2002)

Las infestaciones prenatales en los cachorros son responsables de nacimientos y muertes prematuras (Scothorn y col. 1965). La intensa acción de las larvas de *Toxocara canis* a su paso por el hígado y pulmones puede provocar muertes que suelen presentarse entre la primera y tercera semana de vida. Después del nacimiento, los cachorros pueden sufrir de neumonía asociada a la inflamación

por la migración por tráquea de la larva y la muerte dentro de los 2 a 3 días siguientes. La diarrea, constipación, vómito, tos y descargas nasales pueden ser encontradas en el examen clínico. Distensión del abdomen (animales panzones) (Figura 7) puede ocurrir, probablemente como resultado de la formación de gas causado por la disbacteriosis (variación brusca de la flora intestinal). La mortalidad se presenta debido a la obstrucción de la vesícula biliar, ductos biliares, ducto pancreático y ruptura del intestino. (Parsons, 1987)

Figura 7. Fotografía de un perro con distensión del abdomen



(Mustoe, 1999)

En cachorros con infestación congénita las formas intestinales masivas producen enteritis catarral y ocasionalmente oclusión y perforación intestinal. (Cordero del Campillo y col.1999)

Después de la superinfestación con *Toxocara canis*, el conteo de eosinófilos aumenta hasta llegar al pico máximo al octavo día y perdura por más de 50 días. (Oshima, 1961)

La variabilidad de las características clínicas en la toxocariosis puede estar relacionada con la resistencia de la larva, diferentes rutas de migración, la cantidad de antígenos secretores-excretorios (TES) y las diferentes respuestas inmunes de los hospederos. (Kerr-Muir, 1994)

Los signos clínicos en los perros adultos son raros. Durante la migración larvaria somática los perros pueden manifestar signos clínicos de la enfermedad (Barron, 1966). La migración de la larva induce altos niveles de enzimas hepáticas (AST, ALT) con un pico al tercer día después de la infestación con huevos embrionados. Los niveles totales de IgG en suero aumentan el doble durante los 20 días postinfestación. (Zimmerman y col. 1985; Stejkskal y Johansson, 1983)

La habilidad de la larva en estado restringido de *Toxocara canis* para sobrevivir dentro de los tejidos por muchos años, depende de mecanismos muy potentes de inmunoevasión y de mecanismos anti-inflamatorios operados por el parásito. Las macromoléculas secretadas son las candidatas primarias como mediadores evasivos de la respuesta inmune. (Maizels, 1999)

La magnitud de la infestación humana es difícil de determinar: una alta proporción de niños son seropositivos a los anticuerpos contra *Toxocara canis*, pero la infestación somática (larva migrans visceral y ocular) no es frecuente. Desafortunadamente, los resultados de la infestación incluyen invasión del cerebro y ojos y si la evidencia de la función neurológica dañada es correcta, la magnitud de la patología inducida por *Toxocara canis* puede ser mucho mayor que la documentada actualmente. (Maizels y col. 2000)

La migración de la larva de *Toxocara canis* dentro del cerebro de roedores y niños está asociada con el deterioro de las funciones neuropsicológicas y con una conducta alterada. De cualquier manera, la severidad de los cambios de conducta causada por la migración de la larva dentro del cerebro se reduce si al ratón se le proporcionan múltiples infestaciones más que en una dosis única equivalente. (Parsons y Grieve, 1990)

La relación de las manifestaciones neurológicas con las complicaciones cerebrales causadas por la larva de *Toxocara canis* permanece en la oscuridad. En el síndrome de larva migrans visceral causado por *Toxocara canis* en seres humanos, el cuadro clínico varía de un estado asintomático, excepto por la eosinofilia persistente, hasta un síndrome crónico de hipereosinofilia, hepatomegalia, infiltración pulmonar moderada, fiebre, tos e hipergamaglobulinemia. (Tomimura y col. 1976)

Numerosos casos humanos, incluyendo algunos fatales, involucran al ojo, cerebro, corazón y otros órganos. También es bien sabido, que la variedad de síntomas neurológicos, incluyendo convulsiones, delirio, parálisis y meningitis se desarrollan en algunos pacientes. La patogénesis de estas manifestaciones se ha mantenido desconocida. (Tomimura y col. 1976)

6. RESPUESTA DEL HOSPEDADOR

Los parásitos inducen una variedad de alteraciones inmunológicas en los hospederos infestados, las cuales incluyen incremento en la IgE sérica, eosinofilia, depresión de ciertas funciones de las células T y activación policlonal de las células B. (Finkelman y col. 1991)

Después de la administración oral de huevos de *Toxocara canis*, la larva eclosiona y migra al hígado, pulmón, cavidad peritoneal y bazo donde ellas residen y secretan proteínas de excreción (antígenos ES) los cuales activan y/o modulan las respuestas inmunológicas. De hecho, se ha observado que antígenos derivados de la larva de *Toxocara canis* estimulan a los macrófagos a producir IL-1 e IL-6, no siendo así para IL-12 y TNF- α . (Finkelman y col. 1991)

Se ha sugerido que cuando se utilizan animales timectomizados o atímicos congénitamente, la eosinofilia, la producción elevada de IgE y la mastocitosis intestinal en infestaciones helmínticas son dependientes de células T. Se ha reportado que estas respuestas inmunológicas son inducidas por citocinas secretadas por células CD4⁺ cooperadoras de tipo 2 (Th2). La eosinofilia y la producción de IgE son inducidas por la IL-5 e IL-4 respectivamente mientras que la mastocitosis es causada por la IL-3 e IL-4. Cuando hospederos paraténicos como los humanos y ratones son infestados con *Toxocara canis* la larva migra sin madurar, y causa una marcada eosinofilia y elevada producción de IgE. (Hiratochi y col. 2000)

Se ha demostrado que el mRNA de la IL-5 se expresa en los pulmones y en el bazo de los ratones infestados con *Toxocara canis*. Las células pulmonares infestadas con *Toxocara canis* producen niveles significativos de IL-5 cuando son

incubados con antígenos de excreción-secreción de la larva *in vitro*. La IL- 5 se produce principalmente por células T CD4⁺ y parcialmente por células CD4⁺ CD8⁻ (TCR $\gamma\delta$) en los pulmones de ratones infestados con *Toxocara canis*. Recientemente se ha demostrado que la interacción de VCAM-1/VA-4 es más importante en la producción de IL-4 por las células pulmonares en los ratones infestados que la interacción ICAM-1/LFA-1. Por lo que se piensa que IL-5 e IL-4 son producidas por diferentes mecanismos. (Hiratochi y col. 2000)

7. MANIFESTACIONES DEL SÍNDROME DE LARVA MIGRANS EN HUMANOS

El síndrome de larva migrans visceral es causado en humanos por la migración de las larvas de *Toxocara canis* principalmente, la enfermedad frecuentemente se observa en niños que practican la geofagia e ingieren los huevos embrionados que se encuentran en la tierra, usualmente no causa severos problemas, sin embargo puede persistir por meses o por más de un año (Shore, 2001). Algunos síntomas de la infestación incluyen: anemia, tos, ronquera, infiltración pulmonar, hepatomegalia, esplenomegalia, fiebre y anorexia. (Gillespie y Parsons, 2001)

En el síndrome de larva migrans ocular la larva migra hacia el ojo provocando la infestación más aguda que puede llegar a provocar ceguera. La reacción a cuerpo extraño y a los antígenos puede causar un daño local o general en la retina y otras estructuras intraoculares, la infestación intraocular usualmente ocurre unilateralmente en niños, pero ocasionalmente los dos ojos son afectados. (Gillespie y Parsons, 2001)

El término toxocariosis encubierta se refiere a un síndrome menos específico que fue reconocido por el uso extenso de ensayos de serodiagnóstico para infestaciones por *Toxocara canis* (Tolan y col. 2001). La toxocariosis encubierta ha sido descrita con una serie de síntomas que son inespecíficos, pero juntos forman una enfermedad reconocible. Los síntomas inducen dolor abdominal, anorexia, sueño y comportamiento alterado, adenitis cervical, ronquera, problemas respiratorios, dolor de cabeza asociado a una normal o ligeramente elevada eosinofilia. Los síntomas de

la toxocariosis encubierta no se manifiestan por sí mismos en forma característica o específica. (Mustoe, 1999; Radman y col. 2000)

8. DIAGNÓSTICO

En los animales se basa en la demostración de huevos en las heces. Sólo los signos pulmonares que afectan a toda la camada 1-2 semanas después del nacimiento hacen sospechar de la infestación. Con frecuencia, los cachorros eliminan gusanos espontáneamente con el vómito o con las deyecciones. La necropsia y la observación de las lesiones hepáticas, pulmonares o renales, junto con la demostración directa de los nematodos en el intestino delgado, confirman el diagnóstico. (Cordero del Campillo y col. 1999)

El hallazgo de laboratorio más significativo es la eosinofilia intensa, que coincide con la fase de migración larvaria y que fácilmente supera el 50% en la primera semana de vida. La actividad enzimática de GLDH y ALT aumenta notablemente durante esta fase de migración, con niveles máximos a los pocos días de nacimiento. (Cordero del Campillo y col. 1999)

Las técnicas serodiagnósticas (ELISA) son utilizadas con una alta especificidad (92-95%) y sensibilidad (73-78%) en títulos diagnosticados de 1:32. ELISA indirecta se utiliza para determinar la presencia de anticuerpos totales de tipo IgG, IgE e IgM contra los antígenos TES. (Jin Luo y col. 1999)

Los métodos para el diagnóstico del síndrome de larva migrans son: el de anticuerpos monoclonales, los cuales reconocen epítomos específicos de antígenos secreción-excreción. El Western Blot para el inmunodiagnóstico de la toxocariosis es utilizado con alta sensibilidad y especificidad, anulando los problemas de reacciones cruzadas con sueros positivos a otras enfermedades helmínticas, por lo que se recomienda como complemento de la técnica de ELISA para la confirmación de resultados. (Overgaauw, 1997c)

9. PREVENCIÓN Y CONTROL

Se recomienda la desparasitación repetida en los cachorros a las 2, 4, 6 y 8 semanas, especialmente ante el riesgo de reinfestación por la leche materna y contaminación ambiental. Las madres deberán someterse a pautas de tratamiento simultáneas a las de la camada y en los perros adultos deberán efectuarse análisis coprológicos previos al tratamiento. (Cordero del Campillo y col. 1999)

La base del control de la toxocariosis es el tratamiento de los perros infestados, en especial cachorros y madres, con la que se reduce la contaminación ambiental con huevos infestantes de parásitos. Además, es necesario eliminar las deyecciones caninas, con limpieza frecuente y a fondo para eliminar los huevos. El control del censo canino conlleva la retirada de perros callejeros o vagabundos, junto con la educación sanitaria sobre el riesgo de transmisión de LMV que, en gran parte, es desconocido. (Cordero del Campillo y col. 1999)

Debido a la alta frecuencia de *Toxocara canis* en el perro, es necesario contribuir de forma inmediata al desarrollo de programas que eliminen de forma eficaz este parásito tanto en su forma adulta como en su fase larvaria y en su transmisión lactogénica como transplacentaria en las perras, por lo que la finalidad de este trabajo es proporcionar un esquema de antiparasitarios de diferentes familias que en combinación nos puedan dar un nivel de eficacia mayor al reportado con otros medicamentos utilizados para este fin.

10. TRATAMIENTO

Son útiles las sales de piperacina (adipato, citrato, difosfato) que son bien toleradas por cachorros, lo que facilita el tratamiento de infestaciones congénitas; su aplicación a dosis de 110-200 mg kg⁻¹, tienen buena eficacia frente a los adultos intestinales, pero menor frente a los estadios inmaduros. El pamoato de pirantel se utiliza a dosis de 5 mg kg⁻¹, es eficaz incluso en cachorros con fases juveniles. La dosificación repetitiva con concentraciones menores, es más eficaz que la concentración alta en una sola dosis. (Cordero del Campillo y col. 1999)

El nitroscanate micronizado en dosis única de 25-50 mg kg⁻¹, es activo contra *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Ancylostoma caninum*, *Echinococcus granulosus*, *Uncinaria sp*, *Dipylidium caninum* en perros; en gatos contra *Ancylostoma tubaeforme* y *Toxocara cati*. Siendo bien tolerado por cachorros y perras gestantes. (Cordero del Campillo y col. 1999; Sumano y col. 2000)

Se ha estudiado el efecto del albendazol en toxocariosis experimental en ratones y se observó que la administración del albendazol reduce el número de larvas que alcanzan el cerebro, el fenbendazol y el oxfendazol matan larvas en el cerebro y en el músculo de ratones infestados experimentalmente. (Bardon y col. 1995)

Se ha encontrado que la eliminación de larvas de *Toxocara canis* en ratones se da con levamisol, ivermectina, albendazol y febendazol, en un máximo de 2-7 días pos infección (no se menciona la dosis utilizada). (Gillespie y Pearson, 2001)

Los antecedentes de la ivermectina usada contra larvas incluyen el estudio de Abo-Shehada y Hebert, en 1984; en un modelo en ratones utilizaron ivermectina a dosis de 200 mcg kg⁻¹ oral y subcutánea, así como levamisol (150 mg kg⁻¹ subcutáneo y 100 mg kg⁻¹ oral), albendazol y febendazol (100 mg kg⁻¹ en ambos casos), al mes de inoculados, reportan que la ivermectina fue la más efectiva con una eficacia del 80%, seguido del levamisol con un 65-70%, albendazol con un 38% y por ultimo el febendazol con el 20%.

Samanta y Ansari en 1990 utilizando a la ivermectina en dosis de 0.2 mg kg⁻¹ subcutáneo, al albendazol y febendazol a dosis de 100 mg kg⁻¹ oral y tiabendazol 150 mg kg⁻¹ oral, después de 24 horas de la infestación experimental y continuando por una semana, sugieren que la ivermectina y los bencimidazoles tienen propiedades larvicidas, mientras que el tiabendazol tiene una acción inhibitoria sobre la migración larvaria. Encontrando que el albendazol tiene una efectividad del 51.4%, febendazol del 36.6%, tiabendazol del 22.5% y con ivermectina del 54.4% para larvas totales. La efectividad en cerebro es del 89% para el albendazol y del 92% para la ivermectina.

Martínez y col., en 1993; en un ensayo con varios principios detectan que el producto más eficaz a dosis única contra larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones fue la ivermectina (0.2 mg kg^{-1} subcutánea) con un 91% de efectividad, comparado con metrifonato (50 mg kg^{-1} oral) con un 43%, dietilcarbamazina (50 mg kg^{-1} oral) con un 45.5% y nitroscanate (50 mg kg^{-1} oral).

Fok y Kassai, en 1998, trabajando con la ivermectina (0.6 mg kg^{-1} oral en alimento y 6 mg kg^{-1} oral y subcutánea) y albendazol (1.6 g kg^{-1} y 3 g kg^{-1} oral en alimento), encuentra los niveles de remoción más bajos de ivermectina reportados en la literatura con un 7.6-35.5% de efectividad, mientras que para el albendazol encontró un 97.1% de efectividad.

Carrillo y Barriga, en 1987, trabajando con levamisol y comparándolo con la ivermectina reporta que a una dosis de 6 mg kg^{-1} (subcutáneo) del primer compuesto una efectividad del 12.54%, a 12 mg kg^{-1} (subcutáneo) tuvo una efectividad del 64.25%, en tanto que la ivermectina (0.4 mg kg^{-1} subcutánea) disminuyó un 43.12% el parasitismo total.

La mayoría de los pacientes humanos se recuperan sin terapia. El tratamiento con agentes antihelmínticos está indicado para complicaciones severas, tales como las cerebrales, pulmonares y cardíacas. Ya que el tratamiento con antihelmínticos puede generar una reacción inflamatoria aumentada, los corticosteroides algunas veces son utilizados con o sin terapia específica. (Tolan y col. 2001)

Como los signos y síntomas de los variados síndromes de la toxocariosis resultan de respuestas inflamatorias crónicas y agudas, dirigidas hacia los productos excretores-secretorios y no necesariamente de las larvas, el tratamiento está inicialmente dirigido hacia los síntomas, por ejemplo, los broncodilatadores, antihistamínicos y ocasionalmente esteroides sistémicos están indicados. (Gillespie, 1987)

El tratamiento de la toxocariosis encubierta debe de ser individualizado. La decisión del tratamiento depende de la edad del paciente, la severidad de los síntomas y de la certeza del diagnóstico. En pacientes con LMO, el tratamiento no

requiere una terapia con antihelmínticos pero se recurre a corticosteroides locales y a cirugía. (Tolan y col. 2001)

Struchler, D. en 1989, recomienda el albendazol para el tratamiento de LMV y LMO administrando una dosis mínima de 10 mg kg⁻¹ diariamente por 5 días.

Veľebny y col. (2000) utilizando formulaciones liposomales de albendazol con glucanos y administrándola subcutáneamente a ratones infestados con huevos larvados de *Toxocara canis* a dosis de 25 mg Kg⁻¹ dos veces al día durante 5 días después del día 28 postinfestación, encontraron una eficacia del 62.8% en músculo y en cerebro del 88%. Esta formulación liposomizada incrementa la efectividad, logrando un 92.2%.

Los agentes antihelmínticos utilizados para complicaciones severas de LMV tales como complicaciones cerebrales, pulmonares y cardíacas son los siguientes: dietilcarbamacina (6 mg kg⁻¹ oral), tiabendazol (25 mg kg⁻¹oral), albendazol (10 mg kg⁻¹ oral) y mebendazol (una tableta de 100 mg). Las respuestas terapéuticas de los pacientes con LMV son evaluadas clínicamente por el conteo de eosinófilos en sangre periférica. Los títulos de anticuerpos contra *Toxocara canis* no reflejan la respuesta al tratamiento. (Tolan y col. 2001)

11. ANTIHELMÍNTICOS UTILIZADOS

Los productos antiparasitarios empleados en el presente trabajo son del grupo de las lactonas macrocíclicas (ivermectina) y bencimidazoles (albendazol).

Lactonas macrocíclicas

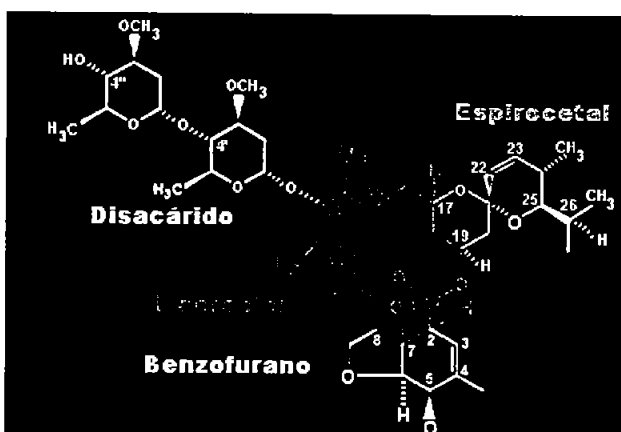
Las lactonas macrocíclicas (Figura 8), representan un grupo de fármacos extremadamente potentes como antinematódicos, insecticidas y acaricidas. Estos a su vez se dividen en dos subgrupos que son: avermectinas y milbemicinas. (Köhler, 2001)

Dentro de las avermectinas tenemos a la ivermectina, doramectina, eprinomectina y selamectina y dentro de las milbemicinas tenemos a la milbemicina y a la moxidectina. (Steele, 1998)

a) Absorción, destino y eliminación

Las lactonas macrocíclicas son compuestos lipofílicos de peso molecular moderado, las cuales subsecuentemente son absorbidas en el torrente sanguíneo y distribuidas ampliamente a través de los tejidos del cuerpo de los animales tratados oralmente, subcutáneamente o tópicamente. En general, siguen un equilibrio, la grasa es la zona de depósito principal de estos fármacos, pero niveles considerables son encontrados en el hígado, en donde las lactonas macrocíclicas son metabolizadas, conjugadas y excretadas en la bilis. La excreción en la orina es baja, generalmente menos de 3% de la dosis y el resto se elimina por heces. (Steele, 1998)

Figura 8. Estructura química de las lactonas macrocíclicas



(Johnstone, 2000)

b) Acción antiparasitaria

Las lactonas macrocíclicas tienen actividad de amplio espectro en contra de un elevado rango de nematodos y artrópodos y esa efectividad en contra de endoparásitos y ectoparásitos les han dado el nombre de endectocidas. (Johnstone, 2000)

Dentro de esta clasificación de las lactonas macrocíclicas utilizamos a una avermectina (ivermectina) que a continuación se describe:

Ivermectina

La ivermectina (Figura 9) es muy eficaz y muy potente contra las fases en desarrollo de muchos nematodos e insectos parásitos que afectan a animales y seres humanos, su origen corresponde a un producto de fermentación del *Streptomyces avermitilis*. (Ryan, 1999) El fármaco inmoviliza a los organismos afectados al inducir parálisis flácida de sus músculos. Los estudios originales sugirieron que las avermectinas ocasionaban dicho efecto más bien al modular la neurotransmisión mediada por ácido gamma-aminobutírico (GABA). (Pong y col. 1980) No obstante, investigaciones recientes señalan que la parálisis en el nematodo *Caenorhabditis elegans* de vida libre, quizás es mediada por potenciación, activación directa o ambos mecanismos de los canales de cloro "regulados" por glutamato. Las avermectinas también tienen afección por los canales de cloro sensibles a GABA y a otros ligandos, en nematodos como *Ascaris* y en insectos, pero no se han precisado las consecuencias fisiológicas de tal fenómeno. (Arena y col. 1995)

La falta de receptores de avermectina de alta afinidad en cestodos y trematodos puede explicar porqué dichos helmintos no son sensibles al medicamento. (Shoop y col. 1995) Las avermectinas interactúan con los receptores de GABA en el cerebro de vertebrados (mamíferos), pero su afinidad por receptores de invertebrados es 100 veces mayor. (Arena y col. 1995)

c) Dosis

En el perro 200 mcg kg⁻¹ subcutáneo, una sola dosis. Sarna 400 mcg kg⁻¹ subcutáneo, una sola dosis. En gatos se han usado dosis de hasta 200-400 mcg kg⁻¹ subcutáneo, una sola dosis. (Sumano y col. 2000)

d) Toxicidad, efectos adversos.

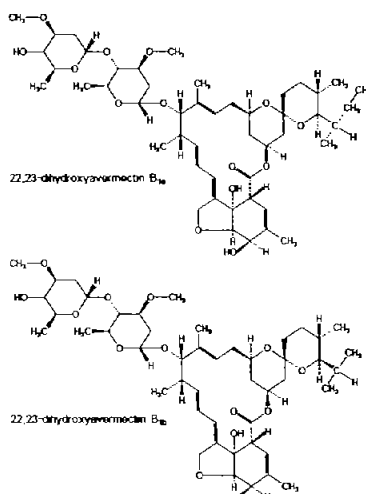
En los animales los signos de toxicidad del sistema nervioso central son letargia, ataxia, midriasis, temblores y al final la muerte, se observan aplicando altísimas dosis del fármaco, por ejemplo en perros a dosis de 2 mg kg⁻¹ diariamente

durante 3 meses se observa este efecto, la DL_{50} es de 30 mg kg^{-1} en ratones. Son especialmente vulnerables los perros y en particular la raza Collie. También hay que tener cuidado al administrar ivermectina junto con otros compuestos que deprimen la actividad del sistema nervioso central. No existen evidencias de que la ivermectina sea teratógena o carcinógena (Goodman & Gilman, 1996). Los ratones son la especie más sensible a los efectos de la ivermectina a dosis de maternotoxicidad de 0.2 mg kg^{-1} al día. (Maizels, 1999)

e) Interacciones.

Los anestésicos y tranquilizantes pueden aumentar su efecto depresor. El amitraz aplicado conjuntamente puede inducir toxicidad (Sumano y col. 2000)

Figura 9. Estructura de la ivermectina



(Johnstone, 2000)

Bencimidazoles

Los bencimidazoles poseen hidrosolubilidad limitada y, por consecuencia, pequeñas diferencias en la solubilidad tienden a ocasionar un efecto mayor en la absorción. (Goodman & Gilman, 1996)

La absorción del albendazol (Figura 10) es variable e irregular después de ingerido, aunque su absorción puede mejorar si se consume con alimentos grasos. Después de administrar una dosis oral de 400 mg de albendazol, no se detecta el compuesto en plasma porque es metabolizado con rapidez en hígado, hasta la forma de sulfóxido de albendazol. A diferencia de los principales metabolitos de tiabendazol y mebendazol, el sulfóxido de albendazol genera potente actividad antihelmíntica. Dicho metabolito alcanza concentraciones plasmáticas máximas de unos 300 ng/ml, pero con amplias variaciones entre un individuo y otro. (Goodman & Gilman, 1996)

El sulfóxido de albendazol se liga aproximadamente en una proporción de 70% a las proteínas plasmáticas y su vida media en plasma es de ocho a nueve horas. Se distribuye adecuadamente en diversos tejidos. La formación del sulfóxido de albendazol es catalizada más bien por la flavin-monooxigenasa microsómica y, en menor magnitud, por algunas formas de citocromo. Parte del sulfóxido es oxidado todavía hasta generar el metabolito sulfona que es farmacológicamente inactivo. Los metabolitos se excretan principalmente por orina. (Goodman & Gilman, 1996)

Estudios referentes a los efectos del albendazol en helmintos muestran que este fármaco causa alteraciones ultraestructurales tanto en células intestinales de nematodos como en células del tegumento en cestodos, particularmente en la redistribución de las vesículas citoplasmáticas y de otros organelos. Como estos cambios coincidieron con la desaparición de los microtúbulos del citoplasma es posible que los bencimidazólicos actúen inhibiendo el transporte de las vesículas secretoras mediado por microtúbulos en los tejidos de absorción de los helmintos con la liberación de enzimas digestivas las cuales son responsables del daño tisular observado. Actualmente, parece ser que la base bioquímica de la acción de los bencimidazólicos es la habilidad que tienen estos de unirse con gran afinidad de manera pseudo-irreversible en las subunidades de tubulina de los microtúbulos, por lo que alteran la estructura y función de los éstos. (Köhler, 2001)

Los microtúbulos son altamente dinámicos, organelos celulares ubicuos que llevan a cabo una variedad de funciones vitales tales como, mitosis, motilidad y transporte, en todos los eucariontes. La mayoría de estas estructuras existen en un estado dinámico estable en donde el ensamblaje y desensamblaje de las

subunidades solubles está balanceado. En tales sistemas, la interacción fármaco-tubulina resulta en un cambio de este estado estable con la pérdida de microtúbulos y la acumulación de tubulina libre no permitiendo la formación de la red de tubulina. En vista de la importancia crucial de los microtúbulos en la mayoría de los procesos celulares, este fármaco induce la destrucción eventual la cual lleva a la muerte del organismo. (Kóhler, 2001)

El principio de la alta toxicidad selectiva de los antihelmínticos bencimidazólicos no está completamente entendido pero parece ser que es debido a que la unión irreversible es mucho más fuerte con la tubulina de los helmintos que con la tubulina de los mamíferos. (Kóhler, 2001)

a) Acción antihelmíntica.

El albendazol es un antihelmíntico de múltiples usos, sobre todo contra nematodos gastrointestinales, si bien su acción medicamentosa no depende de la concentración que alcanza a nivel sistémico. La eliminación y muerte de los parásitos gastrointestinales sensibles se hace con lentitud y tal vez no sean completamente eliminados, sino después de varios días de aplicar el tratamiento. Los bencimidazoles ocasionan muchos cambios bioquímicos en nematodos sensibles, por ejemplo, la inhibición de la fumarato reductasa de mitocondrias, disminución del transporte de glucosa y desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. (Goodman & Gilman, 1996)

b) Absorción, destino y eliminación.

Los bencimidazoles poseen hidrosolubilidad limitada y por consecuencia pequeñas diferencias en la solubilidad tienden a ocasionar un efecto mayor en la absorción. La absorción del albendazol es variable e irregular después de ingerido, aunque su absorción puede mejorar si se consume con alimentos grasos. (Goodman & Gilman, 1996)

Interrumpen el metabolismo energético de los parásitos, inhiben a la enzima fumarato reductasa, que induce la polimerización de la tubulina en los microtúbulos celulares. Tiene un excelente margen de seguridad e índice terapéutico. Su vida media es de 10 horas, sus principales metabolitos son derivados sulfóxidos y sulfato. (Sumano y col. 2000)

c) Aplicaciones terapéuticas.

Útil contra nematodos, trematodos, cestodos y larvas de nematodo a nivel intestinal y extraintestinal (Sumano y col. 2000). El albendazol constituye un fármaco inocuo y altamente eficaz contra infestaciones por nematodos en las vías gastrointestinales. (Goodman & Gilman, 1996)

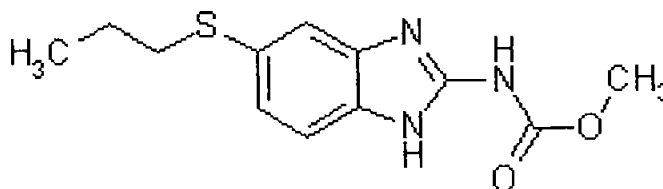
d) Dosis.

En perros 5–10 mg kg⁻¹.

e) Toxicidad, efectos adversos.

El albendazol ocasiona pocos efectos adversos si se utiliza por corto tiempo contra la helmintiasis gastrointestinal, en ocasiones hay dolor abdominal, diarrea, náuseas, mareos y cefalea transitorios. El albendazol es teratógeno y embriotóxico en animales, razón por la cual será mejor no utilizarlo en mujeres embarazadas. (Goodman & Gilman, 1996)

Figura 10. Estructura química del albendazol



(Johnstone, 2000)

12. OBJETIVOS

- ✘ Contribuir al conocimiento en torno a la evaluación de medicamentos para tratar la toxocariosis.

- ✘ Utilizando ratones blancos cepa CD1 inoculados con larvas de *Toxocara canis* como modelo experimental, ensayar la aplicación de una asociación de ivermectina-albendazol para observar un efecto en las larvas de *Toxocara canis* en diferentes órganos.

- ✘ Comparar la eficacia de los tratamientos convencionales para la toxocariosis contra el tratamiento utilizado en este trabajo.

13. MATERIALES Y METODOS

MATERIAL BIOLÓGICO

1. 100 cadáveres de perros de 2 a 3 meses de edad del Control canino de Cuautitlán Izcalli.
2. 60 ratones blancos cepa CD1, machos.

REACTIVOS

1. Ácido clorhídrico
2. Agua destilada
3. Albendazol genérico 100% puro
4. Formol 5%
5. Glicerinformal
6. Ivermectina 1% (IVOMEC)
7. Pepsina
8. Propilenglicol
9. Solución salina formolada 2.5%

MATERIAL DE LABORATORIO

1. Agujas de disección
2. Alimento para ratones (Nutricubos)
3. Cajas de petri
4. Cajas de policarbonato
5. Estuche de disección
6. Jeringas
7. Microscopio óptico
8. Portaobjetos y cubreobjetos
9. Sonda para alimentación de lactantes (tipo Foley)

MÉTODO

1. Se realizaron necropsias a 100 cadáveres de perros de 2 a 3 meses de edad procedentes del control canino de Cuautitlán Izcalli; para obtener gusanos de *Toxocara canis* del intestino delgado.
2. Se separaron los gusanos machos de las hembras. Las hembras se disecaron cortando en la porción media del cuerpo para liberar los úteros grávidos y permitir la salida de los huevos fecundados, los cuales se colocaron en cajas de petri con solución salina formolada al 2.5% y a temperatura ambiente durante 3 semanas aproximadamente con el objeto de esperar el desarrollo del segundo estado larvario.
3. La viabilidad de los huevos larvados se determinó en base al desarrollo de las larvas en su interior y a la motilidad de las mismas; siendo en este caso del 75%.
4. Se formaron 6 grupos de 10 ratones cada uno, los ratones se escogieron al azar.
5. Un lote fue grupo testigo inoculado con 500 huevos larvados, vía oral con una sonda para alimentación de lactantes, sin tratamiento. Un segundo lote fue testigo no inoculado con huevos larvados, pero se le aplicó glicerinformal y propilenglicol. Estos lotes se sacrificaron al mes posterior a la inoculación.
6. Los cuatro grupos restantes fueron inoculados con 500 huevos larvados por vía oral con una sonda tipo Foley para alimentación de lactantes. Al mes postinfestación fueron tratados con ivermectina-albendazol, a una dosis de 200 mcg kg⁻¹ de ivermectina y 5 mg kg⁻¹ de albendazol, administrándolo mensualmente durante cuatro meses.

La ivermectina se diluyó con 40% de propilenglicol (diluyente) y 60% de glicerín formal (diluyente), se administró por vía subcutánea y el albendazol se diluyó con agua destilada administrándose por vía oral.

7. Se sacrificó un lote cada 30 días, y al realizar la necropsia de los ratones se obtuvo: el cerebro, los pulmones, los riñones, 1 g de músculo esquelético del miembro pélvico derecho que se multiplicó con el total de la carcasa y el hígado.

Estos órganos se cortaron finamente y se envolvieron en una gasa para introducirlo en un tubo de ensayo con jugo gástrico artificial, el cual se preparó con 5 g. de pepsina, 6 ml. de HCl diluidos en 1000 ml. de agua destilada. A las 24 horas se agitó el contenido de los tubos, se dejaron 24 horas más y después se retiraron de la digestión.

8. Se retiraron las gasas y el sedimento se colocó en formol al 5% para su revisión en microscopio óptico, y evaluar la eficacia del tratamiento mediante el conteo de larvas en los órganos.
9. Se contó el número de larvas por órgano, revisando la totalidad del sedimento de cada tubo.
10. Se registraron los datos del número de larvas en una hoja de cálculo y los resultados se sometieron a una prueba estadística de análisis de varianza y organizados en forma de cuadros para su mejor comprensión.

Tabla 3. Calendario de sacrificio

GRUPOS EXPERIMENTALES	DESCRIPCION
1	Testigo, inoculado, no tratado, sacrificado al mes posterior a la inoculación
2	Testigo, no inoculado, no tratado, sacrificado al mes posterior a la inoculación
3	inoculado, con tratamiento, sacrificado a los treinta días posteriores a la inoculación
4	inoculado, con tratamiento, sacrificado a los 60 días posteriores a la inoculación
5	inoculado, con tratamiento, sacrificado a los 90 días posteriores a la inoculación
6	inoculado, con tratamiento, sacrificado a los 120 días posteriores a la inoculación

14. RESULTADOS

Se observó el comportamiento migratorio de las larvas ya descrito, con el mayor asentamiento de larvas en músculo esquelético y cerebro a los 60 días de inoculación. El grupo no inoculado (sin inoculación de huevos de *Toxocara canis* y tratado únicamente con glicerinfomal y propilenglicol vehículo empleado para la ivermectina) no presentó larvas y sirvió para verificar que las unidades experimentales estaban libres de larvas de *Toxocara canis*.

El grupo inoculado sin tratamiento (grupo testigo inoculado) fue el que presentó la mayor concentración de larvas con una sumatoria total de 1921 larvas en 10 ratones (tabla 4). En cerebro se encontraron 743 larvas mientras que en músculo esquelético 1051 y una baja proporción de larvas en hígado, pulmón, riñón y corazón, lo que concuerda con el patrón migratorio de los organismos en el período de sacrificio (un mes pos-infestación).

Tabla 4. Larvas de *Toxocara canis* en el grupo inoculado no tratado recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.

RATÓN	HÍGADO	RIÑÓN	PULMÓN	CEREBRO	CORAZÓN	MÚSCULO	Total de larvas por ratón
1	2	8	4	19	1	95	129
2	0	2	0	96	0	140	238
3	0	4	5	92	0	85	186
4	4	2	10	19	2	66	103
5	5	4	4	51	0	136	200
6	2	0	1	119	0	90	212
7	5	6	1	76	1	101	190
8	13	3	4	158	1	112	291
9	4	1	1	86	22	182	296
10	3	0	2	27	0	44	76
Total	38	30	32	743	27	1051	1921

El grupo de animales inoculados y sometidos a un solo tratamiento de la asociación albendazol-ivermectina, aplicado a los 30 días de haber sido inoculados, se observó que la concentración de larvas en cerebro no varió con el tratamiento, pero en músculo esquelético si ocurrió una reducción de 1051 a 864 larvas (18 % de reducción), en los demás órganos no se observó reducción significativa de las larvas, los resultados obtenidos en este grupo pueden ser observados en la tabla 5.

En el grupo de ratones inoculados que se sometieron a dos tratamientos (30 y 60 días postinoculación) con la asociación albendazol-ivermectina, y sacrificados a los 90 días, se observó una reducción en el número de larvas recuperadas en músculo esquelético, comparadas contra el grupo inoculado y no tratado (1,051 larvas en el grupo inoculado y no tratado contra 250 larvas totales del grupo tratado dos veces que corresponde al 76.21 % de reducción), entre los grupos con uno y dos tratamientos (864 larvas totales contra 250 en los que recibieron dos tratamientos corresponde a una reducción del 71.06 % de reducción) aquí también se observó una reducción de la cantidad de larvas en los órganos de paso como hígado, riñón, pulmón y corazón; resalta que en cerebro hubo una reducción de 809 larvas en el grupo que recibió un solo tratamiento contra 560 larvas en el que recibió dos lo cual corresponde a una reducción del 30.77% los resultados pueden verse en la tabla 6.

En el grupo de animales tratados con tres dosis de la asociación albendazol-ivermectina aplicados a los 30, 60 y 90 días de la inoculación y sacrificados a los 120 días postinoculación, se observó que el número de larvas en músculo no variaron significativamente, pero sí se observó una reducción de organismos en cerebro de 809 larvas en los animales que recibieron un solo tratamiento contra 315 larvas en los animales que recibieron tres tratamientos que corresponde a 61.06% de reducción y comparando contra los resultados de los animales que no recibieron los medicamentos corresponde al 55.02% de efectividad en larvas totales, observándose evidencia de actividad migratoria en los órganos de paso que mostraron reducción de larvas al paso del tiempo, los resultados encontrados en los animales de este grupo pueden observarse en la tabla 7.

En el grupo de animales que recibieron cuatro dosis de la asociación de albendazol-ivermectina a los 30, 60, 90 y 120 días de inoculación con una reducción que iba de 105 larvas en promedio por animal en músculo esquelético en el grupo de los inoculados y no tratados contra 4 larvas por animal en el grupo de los que recibieron cuatro tratamientos lo cual corresponde al 98.47% de reducción, en cerebro se observó el mismo comportamiento de reducción de 74 a 37 larvas promedio por animal con una reducción porcentual de 80.08% con la eliminación casi total de las larvas en los órganos de paso, los resultados de la digestión de estos animales se pueden observar en la tabla 8.

Tabla 5. Larvas de *Toxocara canis* en el grupo de ratones que recibió un solo tratamiento de la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.

RATÓN	HÍGADO	RIÑÓN	PULMÓN	CEREBRO	CORAZÓN	MÚSCULO	Total de larvas por ratón
1	11	0	1	131	1	13	157
2	4	4	1	89	1	20	119
3	2	1	24	54	0	36	117
4	16	9	19	45	0	0	89
5	2	2	4	98	1	82	189
6	7	9	6	106	0	71	199
7	4	8	9	42	4	151	218
8	2	0	1	89	0	131	223
9	3	5	3	113	0	83	207
10	1	3	4	42	1	277	328
Total	52	41	72	809	8	864	1846

Se puede observar en esta tabla la tendencia a la acumulación de larvas en el tejido cerebral y la musculatura esquelética, con valores relativamente altos en el hígado y el pulmón que son los órganos en los que se inicia la migración de los estados larvarios, los datos de riñón corresponden a la migración de larvas para su asentamiento definitivo.

Tabla 6. Larvas de *Toxocara canis* en el grupo de ratones que recibieron dos tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.

RATÓN	HIGADO	RIÑÓN	PULMÓN	CEREBRO	CORAZÓN	MÚSCULO	Total de larvas por ratón
1	0	0	0	34	0	9	43
2	3	1	1	97	2	31	135
3	1	2	0	58	0	44	105
4	3	12	0	99	4	35	153
5	12	1	2	51	0	51	117
6	0	0	0	20	0	11	31
7	2	23	1	25	1	0	52
8	1	0	2	14	2	0	19
9	3	0	1	106	0	10	120
10	0	2	1	56	0	59	118
Total	25	41	8	560	9	250	893

En esta gráfica se puede observar el predominio en asentamiento de larvas en musculatura esquelética y tejido cerebral, con una reducción importante de larvas en hígado y pulmones, en función del papel que desempeñan esos órganos en la migración del parásito para su asentamiento definitivo, se observa también la presencia de cantidades constantes de larvas migratorias por riñón.

Tabla 7. Larvas de *Toxocara canis* en el grupo de ratones sometidos a tres tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.

RATÓN	HIGADO	RIÑÓN	PULMÓN	CEREBRO	CORAZÓN	MÚSCULO	Total de larvas por ratón
1	2	2	1	34	0	243	282
2	0	2	0	54	0	107	163
3	1	1	1	26	0	26	55
4	0	0	0	22	0	0	22
5	0	0	0	29	0	141	170
6	0	0	0	23	0	0	23
7	0	3	0	127	0	19	149
Total	3	8	2	315	0	536	864

Se puede observar en los tejidos de estos animales el mantenimiento de la concentración de larvas en tejido muscular esquelético y cerebro, con valores muy reducidos en tejidos distintos a los señalados anteriormente, que sin embargo, evidencian el movimiento de larvas hacia los sitios de mayor asentamiento.

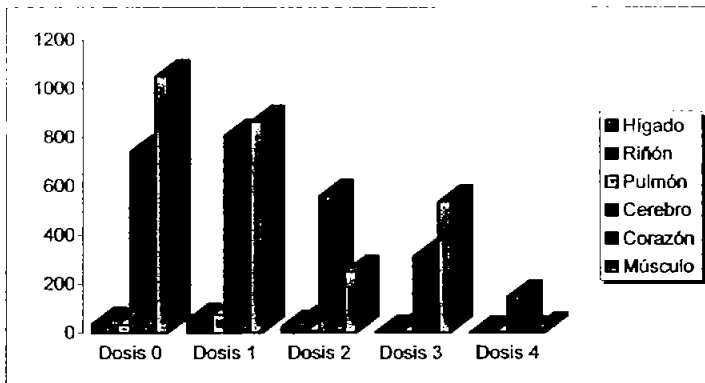
Tabla 8. Larvas de *Toxocara canis* del grupo de ratones sometidos a cuatro tratamientos con la asociación albendazol-ivermectina recuperadas mediante el proceso de digestión artificial.

RATÓN	HÍGADO	RIÑÓN	PULMÓN	CEREBRO	CORAZÓN	MÚSCULO	Total de larvas por ratón
1	0	0	0	12	0	0	12
2	0	0	2	71	0	0	73
3	0	0	0	37	0	0	37
4	0	0	0	28	0	16	44
Total	0	0	2	148	0	16	166

En esta tabla se puede observar que se mantiene la tendencia a concentrarse las larvas en tejido muscular esquelético y cerebro pero ya con una notable reducción con respecto a los resultados observados en los demás grupos estudiados.

En la siguiente gráfica (gráfica 1) se compara el número de larvas recuperadas por tratamiento aplicado, siendo visible la reducción en las cuentas de larvas por tratamiento aplicado.

Gráfica 1. Comparación del número de larvas recuperadas de los ratones inoculados con huevos larvados de *Toxocara canis* con los diferentes esquemas de tratamiento a base de albendazol-ivermectina.



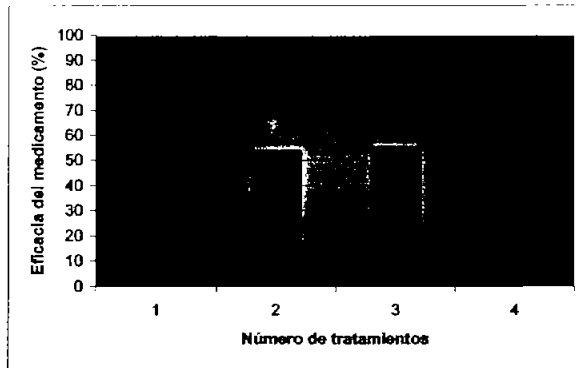
Tomando en cuenta el grupo sin tratamiento (grupo testigo) y haciendo una comparación entre todos los grupos tenemos los siguientes porcentajes de efectividad mostrados en la tabla 9.

Tabla 9. Porcentajes de eficacia por tratamiento en parasitismo total, músculo y cerebro con respecto al grupo control.

Tratamientos	Cerebro	Músculo	Totales
1	8.08%	17.79%	3.90%
2	24.62%	76.21%	53.51%
3	57.60%	49%	55.02%
4	80.08%	98.47%	91.35%

Aunque la efectividad del medicamento va en aumento como se muestra en la gráfica 2, con 4 tratamientos se eleva hasta el 91.35% posiblemente esto sea debido a que el número de unidades experimentales de ese grupo era reducido (4 ratones) por lo que posiblemente sea lo que está afectando a que el patrón de aumento de la efectividad se vea alterado.

Grafica 2. Comparación de la efectividad global de los medicamentos en los diferentes lotes de ratones inoculados con larvas de *Toxocara canis* sometidos a uno, dos, tres y cuatro tratamientos.

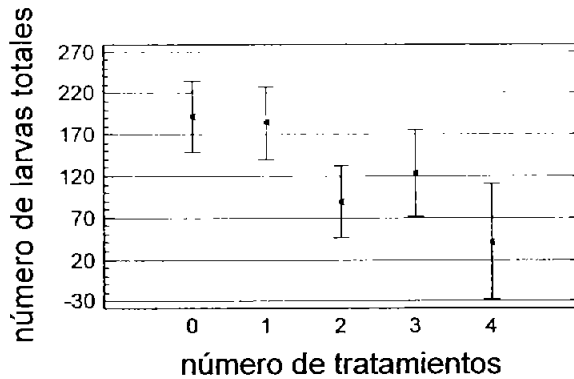


En esta gráfica se presentan los porcentajes de efectividad de la asociación albendazol-ivermectina en los diferentes tratamientos.

Se realizó un análisis de varianza multifactorial para comparar los resultados en cuanto al nivel de reducción de larvas entre los diferentes grupos de tratamientos, se obtuvo una $F_c = 6.0568 > F_t = 2.69$, que presentó significancia estadística $\alpha = 0.05$ lo cual demuestra que la aplicación de este esquema de tratamiento es adecuado para la eliminación de las larvas en los tejidos de los ratones infectados, la tabla de ANOVA de este análisis puede ser consultada en el anexo 1.

Para comparar las diferencias entre medias de grupos con los diferentes tratamientos se elaboró una gráfica en donde se muestra las medias y los intervalos de Tukey a una significancia del 5%. (gráfica 3).

Gráfica 3. Comparación entre la aplicación de diferente número de tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina contra larvas totales de *Toxocara canis* recuperadas mediante el proceso de digestión artificial

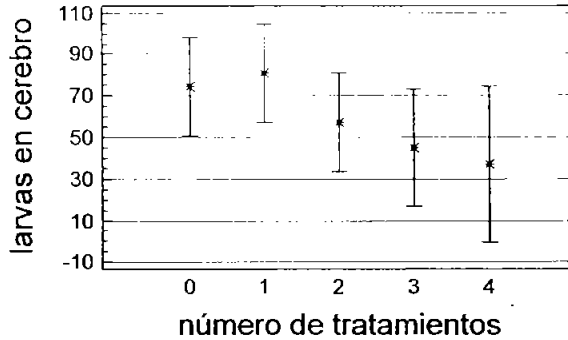


Donde 0 es igual al grupo testigo

En esta gráfica se puede observar que el tratamiento 0 y 1 son iguales, lo mismo que los tratamientos 2, 3, y 4; por lo que solamente hay una diferencia significativa ($\alpha=0.05$) entre los tratamientos 0-2, 0-4, 1-2 y 1-4. Por lo que son los únicos grupos en los que se pueden comparar los resultados de suministrar la asociación ivermectina-albendazol con los demás tratamientos no presentando diferencia significativa por lo que todas esas medias son iguales.

Se realizó también el análisis de varianza para los resultados encontrados en cuanto a cantidad de larvas en los cerebros de los diferentes grupos partiéndose de una $H_0 =$ que no existe actividad contra larvas en cerebro, encontrándose una $F_c = 1.8097 < F_t = 2.69$ ($\alpha=0.05$) que no fue estadísticamente significativo, la tabla de ANOVA puede consultarse en el anexo 1.

Gráfica 4. Comparación del número de tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina contra larvas recuperadas de *Toxocara canis* en cerebro con el proceso de digestión artificial.

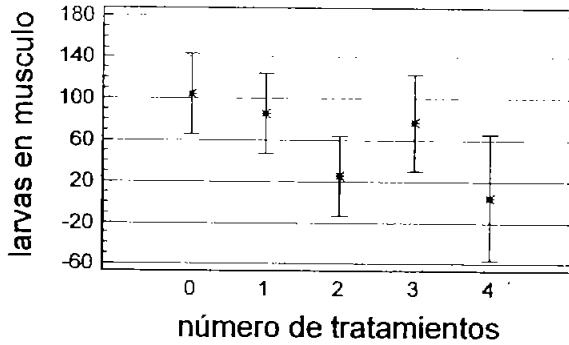


Donde 0 es igual al grupo testigo

Con los datos del ANOVA aplicado a tejido cerebral se elaboró la gráfica 4 la cual muestra que entre los tratamientos no hay diferencia significativa entre ningún grupo por lo que los valores son iguales.

Finalmente los resultados obtenidos de tejido muscular de los diferentes grupos se sometieron a un análisis de varianza partiendo de $H_0 =$ los tratamientos no actúan contra las larvas en músculo esquelético, obteniendo una $F_c = 3.5865 > F_t = 2.69$ ($\alpha = 0.05$) que mostró significancia estadística, lo cual implica que la aplicación de varios tratamientos con la asociación albendazol-ivermectina si produce una disminución de la cantidad de larvas de *Toxocara canis* presentes en la musculatura esquelética, la tabla de ANOVA completa puede ser consultada en el anexo 1 y las diferencias entre medias de los diferentes grupos pueden ser observadas en la gráfica 5.

Gráfica 5. Comparación del número de tratamientos de la asociación albendazol-ivermectina contra larvas recuperadas de *Toxocara canis* en músculo esquelético con el proceso de digestión artificial.



Donde 0 es igual al grupo testigo

Aquí lo que se puede ver es que el tratamiento 0-2 y 0-4 son significativamente diferentes entre ellos, el resto de los grupos no presentan diferencia significativa ($\alpha=0.05$).

15. DISCUSIÓN

Diferentes antihelmínticos han sido utilizados para eliminar estados larvarios de *Toxocara canis*, con los cuales se han realizado estudios para determinar su efectividad, en ese listado se incluye a la ivermectina, la cual pertenece a la familia de las lactonas macrocíclicas y en años recientes la competencia con los nuevos compuestos de esta misma familia que van cobrando importancia y popularidad por sus propiedades endectocidas que se van extendiendo prácticamente por todas las especies y han alcanzado ya a los seres humanos y por otro lado el albendazol, el cual pertenece al grupo de los bencimidazoles y que es altamente eficaz contra infestaciones por nematodos, por ello se utilizó la asociación de estos medicamentos aprovechando sus propiedades larvicidas con el fin de eliminar la mayor cantidad de los parásitos alojados en músculo y en cerebro, este último sitio de difícil acceso a los medicamentos.

Los resultados obtenidos después del análisis estadístico, mostraron que la asociación ivermectina-albendazol generó una reducción del 79% para el caso de larvas totales, del 50% en cerebro (no significativa) y del 90% para el caso de músculo esquelético. Por lo que la eliminación de larvas de *Toxocara canis* con los dos primeros tratamientos tiene porcentajes de disminución más importantes y las posteriores son de menor impacto invirtiéndose más tiempo y dinero.

Los antecedentes del uso de ivermectina contra larvas de *Toxocara canis* incluyen el estudio de Abo-Shehada y Hebert, en 1984 con un modelo de ratones aplicando ivermectina (0.2 mg kg^{-1} subcutánea y oral), así como levamisol (100 mg kg^{-1} oral y 150 mg kg^{-1} subcutáneo), fenbendazol (100 mg kg^{-1} oral) y albendazol (100 mg kg^{-1} oral). El periodo de tratamiento fue del día 2 al 7 posinfestación con 2000 huevos larvados de *Toxocara canis*, siendo sacrificados el día 8 y 35 posinfestación. Al día 8 de sacrificio con levamisol oral hubo un cambio en la zona de asentamiento de las larvas, recuperando la mayor cantidad en hígado con respecto al grupo control, así también para el levamisol subcutáneo no se produjo reducción larvaria alguna en ambos casos. Al día 35 de sacrificio hubo una disminución del 70% del parasitismo total con levamisol oral, mientras que con el tratamiento subcutáneo se alcanzó una reducción del 65%. En el caso de la ivermectina al día 8 de sacrificio, no hubo una

reducción en larvas recuperadas sin embargo, se encontró una modificación en la distribución de larvas teniendo la mayor cantidad en hígado, tanto para la forma oral como para la forma subcutánea. Mientras que para el día 35 de sacrificio, hubo una reducción del 80% tanto para la forma oral como para la subcutánea, pareciéndose esta reducción a nuestros resultados obtenidos con 4 tratamientos aplicados mensualmente. Para el caso del fenbendazol la reducción fue del 20%, mientras que para el albendazol fue del 38% del parasitismo total con respecto al control

Martínez y col. en 1993; también ensayaron con varios principios detectando que el producto más eficaz a dosis única contra larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones fue la ivermectina (0.2 mg kg^{-1} subcutánea) con un 91% de efectividad (que esta por encima de los valores reportados por Abo-Shehada y col. 1984), comparadas con metrifonato (50 mg kg^{-1} oral) con un 43% de efectividad, dietilcarbamazina (50 mg kg^{-1} oral) con un 45.5% de efectividad. Comparando nuestros resultados se obtiene el mismo porcentaje de efectividad con la ivermectina, sin embargo nosotros la obtuvimos aplicando 4 dosis mensuales. Lo cual nos indica que posiblemente estos 10 últimos años se haya ido reduciendo la actividad del producto.

Fok y Kassai, en 1998 trabajando con ratones inoculados con 1000 huevos larvados de *Toxocara canis*, aplicando ivermectina (0.6 mg kg^{-1} subcutáneo y oral) e ivermectina (6 mg kg^{-1} en el alimento), fenbendazol (1.6 g kg^{-1} , 6 g kg^{-1} y 9.6 g kg^{-1} en el alimento) y albendazol (1.6 g kg^{-1} y 3 g kg^{-1} en el alimento) comenzando el tratamiento el día 87 postinfestación con una duración de 10 días de tratamiento para la ivermectina y albendazol (1.6 g kg^{-1}), de 20 días para fenbendazol (1.6 g kg^{-1} , 6.0 g kg^{-1} y 9.6 g kg^{-1}) y albendazol (1.6 g kg^{-1}) y de 30 días para en fenbendazol (1.6 g kg^{-1} , 6.0 g kg^{-1}) y albendazol (3.0 g kg^{-1}). Obteniendo la mayor reducción de larvas (98%) para el fenbendazol a dosis de 6.0 g kg^{-1} suministrada en el alimento, seguido del albendazol a dosis de 1.6 g kg^{-1} (97.1 % de reducción larvaria), una reducción del 33.5% de larvas para el caso de la ivermectina administrada oralmente (0.6 mg kg^{-1}), 10.5% de reducción de larvas aplicando ivermectina subcutánea (0.6 mg kg^{-1}) y del 7.6% de reducción con ivermectina mezclada en el alimento (6.0 mg kg^{-1}). Lo cual sugiere que la ivermectina aplicada subcutáneamente a dosis muy elevadas (6.0 mg kg^{-1}) y aplicándola 10 días consecutivos no tuvo un efecto significativo en la reducción

de larvas, por lo que nuestra trabajo presenta mejores alternativas y modelos de aplicación para obtener una mejor efectividad aún 6 años después de este estudio.

Carrillo y Barriga en 1987, utilizando ratones inoculados con 1000 huevos larvados de *Toxocara canis* los trataron con levamisol (6 mg kg⁻¹ y 12 mg kg⁻¹ subcutáneamente) y con ivermectina (0.2 mg kg⁻¹ y 0.4 mg kg⁻¹ intramuscular), aplicadas los días 16 al 28 y siendo sacrificados el día 33 posinfestación, obteniendo los siguientes resultados: Utilizando levamisol a 6 mg kg⁻¹ se encontró una reducción en el conteo de larvas del 12.54%, con 12 mg kg⁻¹ (dosis toxica en el perro) encontraron una reducción del 64.25%, con ivermectina a 0.2 mg kg⁻¹ no encontraron reducción alguna ya que el numero de larvas totales fue superior en el tratamiento de ivermectina con respecto al control. Sin embargo la ivermectina a dosis de 0.4 mg kg⁻¹ tuvo una reducción de larvas del 43.12%. Con respecto a nuestro trabajo obtuvimos hasta un 91.35% de eficacia con 4 tratamientos aplicados mensualmente, siendo superior la efectividad a la que ellos encontraron con la dosis de ivermectina de 0.2 mg kg⁻¹.

Samanta y Ansari en 1990 compararon la actividad de la ivermectina en dosis de 0.2 mg kg⁻¹ subcutáneamente, el albendazol, el fenbendazol en dosis de 100 mg kg⁻¹ oral y el tiabendazol en dosis de 150 mg kg⁻¹ oral, los cuales se suministraron a las 24 horas de la infestación con L2 de *Toxocara canis* y diariamente por siete días posteriores y sacrificaron a los animales experimentales a los 10, 20 y 30 días postinfestación y encuentran que el albendazol genera una reducción promedio del 51.4%, con fenbendazol del 36.6%, con tiabendazol del 22.5% y con la ivermectina del 54.4%. En tanto el efecto sobre larvas presentes en cerebro fue del 89% para el albendazol, 92% para la ivermectina, para fenbendazol del 64% y para tiabendazol del 50%. Nuestros resultados presentaron una efectividad superior (92% de efectividad) en la reducción de larvas totales no siendo así para el caso de cerebro donde tuvimos una reducción del 80%, siendo comparados con este estudio.

Velebny y col. en el 2000 utilizando formulaciones liposomales de albendazol con glucanos y administrándolo subcutáneamente a ratones infestados con larvas de *Toxocara canis* usando dosis de 25 mg kg⁻¹, 2 veces al día durante 5 días después del día 28 posinfestación encontraron una eficacia del 62.8% en músculo y del 88%

en cerebro. Esta formulación liposomizada permite una liberación gradual y efectiva del principio logrando un 92.2% de efectividad, los datos previos sugieren que el albendazol si es capaz de eliminar larvas en cerebro, pero se requiere de incrementar la dosis y biodisponibilidad del medicamento en el organismo , la dosis empleada en este trabajo (5 mg kg^{-1}) fue cinco veces menor y aunque se uso ivermectina, esta no tiene capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica y destruir las larvas en el cerebro.

López y Mejía en 2002 encontraron una eficacia del 88.58% de eliminación de larvas de tejidos muscular y cerebral, después de 5 tratamientos mensuales con ivermectina a una dosis de 200 mcg kg^{-1} muy similar al porcentaje de eficacia encontrado en el presente trabajo.

González y Morales en el 2002 encontraron una eficacia del 50.13% para la ivermectina a dosis única de 200 mcg kg^{-1} , sin embargo la eficacia del presente trabajo fue superior debido al uso de la sinergia con albendazol en varias dosis en tanto que ellos suministraron una sola dosis.

Los estudios previos encontrados en la literatura muestran resultados variados con respecto al uso de la ivermectina y del albendazol, en este trabajo se pretendió utilizar las propiedades de estos principios como asociación para atacar la problemática que se tiene en la eliminación eficaz de larvas tanto en músculo esquelético como cerebro en un modelo murino inicialmente, con la intención de llevarlo después a la especie de interés. Los resultados obtenidos en nuestro trabajo muestran una reducción total de larvas (91.35%) que está dentro del rango de efectividad reportado en los últimos 20 años. Sin embargo, el uso del albendazol en este trabajo podría estar siendo un factor importante en esta efectividad, ya que la dosis utilizada de albendazol de 5 mg kg^{-1} no fue la suficiente como para eliminar las larvas alojadas en el cerebro o que la interacción albendazol-ivermectina esté antagonizando el efecto del albendazol. La alternativa más conveniente para los estudios posteriores sería utilizar la misma asociación de principios (albendazol-ivermectina) incrementado la dosis de albendazol, aumentando la frecuencia de aplicaciones de albendazol y aplicando el albendazol junto con glucano liposomizado como adyuvante como refieren Velebny y col. en el 2000.

16. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos sugieren que el uso de la asociación albendazol-ivermectina a las dosis utilizadas en este trabajo no resultan en una eliminación total de los estados larvarios de *Toxocara canis*, debiendo optarse por el uso de otras alternativas de administración del albendazol para provocar una mayor reducción en la carga larvaria de órganos con difícil acceso a los medicamentos, como en el caso de cerebro.

La remoción obtenida con el uso de la asociación usada (albendazol-ivermectina) a una sola dosis es del 3.90%, para la segunda dosis 53.51%, para la tercera dosis del 55.02% y para la cuarta dosis del 91.35% del parasitismo total.

Siendo la mayor remoción de larvas en músculo esquelético, ya que en corazón, pulmones, hígado y riñón casi no se observaron larvas debido a que son órganos de paso y al tiempo de sacrificio en el que se desarrollo este trabajo. Por lo que se sugiere ajustar la dosis de albendazol utilizada en el presente trabajo como una posible alternativa para el tratamiento de la larva migrans visceral.

17. BIBLIOGRAFÍA

1. Abo-Shehada, M.N y Herbert, I.V., Anthelmintic effect of levamisole, ivermectin, albendazole and febendazole on larval *Toxocara canis* infection in mice. Res. Vet. Sci. 36, 87-91. 1984.
2. Arena, J.P., Liu, K.K., Pares, P.S., Frazier, E.G., Culli, D.F., Mrozik, H y Schaeffer, J.M., The mechanism of action of avermectins in *Caenorhabditis elegans*: correlation between activation of glutamate-sensitive chloride current, membrane binding, an biological activity. J. Parasitol. 81, 286-294. 1995.
3. Bardón, R., Cuéllar, C. y Guillén, J., Evaluation by larval recovery of mebendazol activity in experimental murine toxocarosis. Int. J. of Parasitol. 25:5, 587-592. 1995.
4. Barriga, O.O., A critical look at the importance, prevalence and control of toxocarosis and the possibilities of immunological control. Vet. Parasitol. 29, 195-234. 1988.
5. Barron, C.N y Saunders, L.Z., Visceral larva migrans in the dog. Pathol. Vet. 3, 315-30. 1966.
6. Burke, T.M y Roberson, E.L., Prenatal and lactational transmission of *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*: experimental infection of the bitch before pregnancy. Int. J. Parasitol. 15, 71-5. 1985.
7. Carrillo, M. y Barriga, O.O., Anthelmintic effects of levamisole, hydrochloride or ivermectin on tissue: toxocarosis of mice. Am J. Vet Res. 48:21, 281-283. 1987.
8. Conception, J.E y Barriga, O. O., Transfer of infection- induced protection to *Toxocara canis* in a mouse model. Vet. Immunol. Immunopathol. 9, 371-82, 1995.
9. Cordero del Campillo M., Rojo F.A., Martínez A.R., Sánchez M.C., Hernández, S., Navarrete I., Diez P., Quiroz H. y Carvahlo M., Parasitología veterinaria. Editorial Mc. Graw-Hill-Interamericana 1999.
10. Dubey, J.P., Patent *Toxocara canis* infection in ascarid- naïve dogs. J. Parasitol. 64, 1021-3. 1978.
11. Dubinsky, P. Havasiova- Reiterova, K., Petko, B., Havorka, I. y Tomas Ovicova, O., Role of Small mammals in the epidemiology of toxocarosis, Parasitology, 110, 187-93, 1995.
12. Fernández, C.F. y Canto, A.G., Frecuencia de helmintos en intestinos de perros sin dueño sacrificados en la ciudad de Querétaro, Querétaro, México. Vet. Mex 33(3). 2002.
13. Figueroa, C.J., Ramírez, G.A., Ramos, M.E. y Salas. G.B., Imágenes de parásitos, colección original. 2002.

14. Finkelman F.D., Pearce E.J., Urban J.F. y Sher A., Regulation and biological function of helminth cytokine responses. *Immunoparasitol Today*. 12, A62-A66. 1991.
15. Flores A. J., Toxocariosis: zoonosis por nematodos. *Nuestros perros* No. 5. 1992.
16. Fok, E. y Kassai, T., *Toxocara canis* infection in the parasitic host: a study on the chemosusceptibility of the somatic larvae in mice. *Vet. Parasitol.* 74. 243-259. 1998.
17. Gillespie, S. H., Human toxocariasis. *Communicable Disease Report* 3 230-50.1993.
18. Gillespie, S. H., Human toxocariasis, a review, *V. Appl. Bact.* 63. 473-9.1987.
19. Gillespie, S.H. y Pearson, R.D., *Principles and Practice of Clinical Parasitology*. Ed. Wiley Johon. Inglaterra. 2001.
20. Glickman, L.T, Dubey, J.P. y Winslow, L.J., Serological response of ascarid-free dogs to *Toxocara canis* infection. *Parasitology*. 82. 383-7. 1981.
21. González, P. G. y Morales, M. F., Evaluación comparativa de la actividad antiparasitaria de la ivermectina, moxidectina y doramectina contra larvas enquistadas de *Toxocara (T.) canis*. Tesis. FESC-UNAM. 2002.
22. Goodman & Gilman., *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Vol II. Ed. Mc Graw Hill- Interamericana. México. 1996.
23. Grieve , R.B., Stewart, V.A. y Parsons, J.C., Immunobiology of larval toxocariasis (*Toxocara canis*): a summary of recent research in *Toxocara* and Toxocariasis, clinical, epidemiological and molecular perspectives, Lewis, J.W and Maizels R.M, Eds. *British Society for Parasitology and institute of Biology*, 117- 24. 1993.
24. Havasiová-Reiterová K., Tomasovicová O. y Dubinský P. Effect of various doses of infective *Toxocara canis* and *Toxocara cati* eggs on the humoral response and distribution of larvae in mice. *Parasitol. Res.* 81, 13-17. 1995.
25. Hiratochi, M., Takamoto, M., Tatemichi, S. y Sugane, K., Inhibition of interleukin 5 production with no influence on interleukin 4 production by an anti-allergic drug, tranilast, in *Toxocara canis*- infected mice. *Int. J. of Immunopharma.* 22, 463-471. 2000.
26. Jiménez, C. B., Salgado, V. G., Castro, O. L y Cabirol N., Laboratorio de microbiología, grupo tratamiento y reúso, Coordinación de bioprocesos ambientales. Ciudad Universitaria. UNAM.2001
<http://www.cdfound.to.it/HTML/blanca.htm>
27. Jin Luo. Z., Xi-Wang, G., Yang, C., Wen Cheng,S. y Lino, L., Detection of circulating antigens and antibodies in *Toxocara canis* infection among children in Chengdu, China. *J. Parasitol.* 85:2. 252-285. 1999.

28. Johnstone, C., Parasites and Parasitic Disease of Domestic Animals. University of Pennsylvania. 2000.
29. Kasai, T., Chemotherapy of larval toxocariasis: progress and problems. Overview from veterinary aspects. *Helminthologia*. 32, 133-41, 1995.
30. Kerr-Muir M.G., *Toxocara canis* and human health. *British J. Med.* 309, 5-6. 1994.
31. Köhler P., The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *Int. J. of Parasitol.* 31. 336-345. 2001.
32. Lloyd, S., Amersinghe, P.H y Soulsby, E.J.L., Periparturient immunosuppression in the bitch and its influence on infection with *Toxocara canis*. *J. Small. Anim. Pract.* 24, 237-47.1983.
33. Lloyd, S., *Toxocara canis*: the dog in *Toxocara* and toxocariasis, clinical, epidemiological and molecular perspectives. Lewis, J.W and Maizels, R.M, Ed S. British Society for Parasitology and Institute of Biology, 11-24. 1993.
34. López, H. E. y Mejía, M. J., Efecto de dosis repetitivas de ivermectina sobre larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos. Tesis. FESC - UNAM. 2002.
35. Maizels R.M., Tetteh K.A. y Loukas A., *Toxocara canis*: genes expressed by the arrested infective larval stage of a parasitic nematode. *Int. J. of Parasitol.* 30, 495-508. 2000.
36. Maizels, R., Biology of *Toxocara canis*, *Toxocara* page. 1999.
http://helios.bto.ed.ac.uk/icapb/maizels/rmm_ToXocara.html
37. Maizels, R.M y Meghji, M., Repeated patent infection of adult dogs with *Toxocara canis*. *J. Helminthol.* 58, 327-33, 1984.
38. Martínez, B.I., Gutiérrez, Q.M., Fernández, P.A., Pérez, L.M., Vázquez, T.O y García Y.Y., Reactividad serológica a un antígeno de *Toxocara canis* en una población escolar. *Rev. Mex. Patol. Clin.* 44(2) 85-89. 1997.
39. Martínez, L., Apuntes de parasitología humana. FESC-UNAM. 2000.
40. Martínez, L., González, L.C., Carrillo, M.L. y Alba, H.F., Estudio comparativo sobre la eficacia de diferentes antihelmínticos contra larvas enquistadas de *Toxocara canis*. Congreso AMMVEPE, Monterrey, Nvo. León, México. 1993.
41. Mustoe, T., *Toxocara canis*: a review. Stage 3 Biological Imaging. Independieny studies.1999.
<http://vertigo.derby.ac.uk/BiologicalImaging/Shows/fys99/tm/toxocara520canis.pdf>
42. Oshima, T., Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations on the normal migration routes of the larvae. *J. Parasitol.*, 47, 652-61.1961.

43. Overgaauw, P. A. M., Prevalence of intestinal nematodes of dogs and cats in the Netherlands. *Vet. Quart.* 19, 14-7. 1997. (a)
44. Overgaauw, P.A.M., Aspects of *Toxocara* Epidemiology: Toxocarosis in Dogs and Cats. *Crit. Rev. Microbiol.* 23(3), 233-251.1997. (b)
45. Overgaauw, P.A.M., Aspects of *Toxocara* epidemiology, human Toxocarosis., *Crit. Rev. Microbiol.* 23: 215-231. 1997. (c)
<http://www.library.uu.nl/digiarchief/dip/diss/01754824/c2.pdf>
46. Parsons, J. C. y Grieve R. B., Kinetics of liver trapping of infective larvae in murine toxocarosis. *J. Parasitol.* 76:4, 529-536. 1990.
47. Parsons, J.C., Ascarid infections of cats and dogs. *Vet. Clin. N. Am.* 17. 1307-13.1987.
48. Parsons, J.C., Bowman. D.D. y Grieve, R.B., Pathological and haematological responses of cats experimentally infected with *Toxocara canis* larvae. *Int. J. of Parasitol.* 19:5, 474-488. 1989.
49. Pong, S., Wang, C.C. y Fritz, L.C., Studies on the mechanism of action of avermectin B_{1a}: stimulation of release of gamma-aminobutyric acid from brain synaptosomes. *J. Neurochem.* 34, 351-358. 1980.
50. Quiroz, R.H., *Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos.* Noriega editores. México, 2002.
51. Radman, N.E., Archelli, S.M., Fonrouge, R.D., Guardis M del V. y Linzitto, O.R. Human Toxocarosis. Its seroprevalence in the city of La Plata. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* Rio de Janeiro. 95:3. 281-285. 2000.
52. Ridley, R.K., Dryden, M.W., Gabbert, N. H y Schoning, P., Epidemiology and control of helminth parasites in Greyhound breeding farms. *Comp. Con. Educ. Pract.*, 16, 585-99, 1994.
53. Rodríguez-Vivas, R., Cob-Galera, L. y Domínguez-Alpizar, J., Frecuencia de parásitos gastrointestinales en animales domésticos diagnosticados en Yucatán, México. *Rev. Biomed.* 12(1). 2001.
54. Ryan, W.G., Ivermectin/Doramectin/Moxidectin – Structure and Generation. *Vet. Bull.* 1999.
55. Samanta, S. y Ansari, M.Z., Anthelmintic effect of ivermectin, albendazole, fenbendazole and thiabendazole on larval *Toxocara canis* infection in mice. *Ind. J. of Anim. Sci.* 60:10, 1195-1196. 1990.
56. Schön, J. y Stoye, M., Prä- und galaktogene infektionen mit *Toxocara mystax* ZEDER 1800 (Anisakidae) bei der maus. *J. Vet. Med. B.* 33, 397-412. 1986.

57. Scothorn, M.W., Koutz, F.R. y Groves, H.F., Prenatal *Toxocara canis* infection in pups. J. Am. Vet. Med. Assoc. 146, 45-8. 1965.
58. Shoop, W.L., Ostlind, D.A., Roher, S.P., Mickle, G., Haines, H.W., Michael, B.F., Mrozik, H. y Fisher, M.H., Avermectins and milbemycins against *Fasciola hepatica*: in vivo drug efficacy and in vitro receptor binding. Int. J. Parasitol. In press. 1995.
59. Shore, G.L., Diagnostic Medical Parasitology. Ed. ASM Press. Estados Unidos. 2001.
60. Sprent, J.F.A., Observations on the development of *Toxocara canis* (Werner, 1782) in the dog. Parasitology. 48, 184-209, 1958.
61. Steele, J.W., NRA Special Review of Macrocytic lactones. Chemical Review Section. Canberra Australia. 1998. <http://www.nra.gov.au/chemrev/maclac.pdf>
62. Stejskal, V.M y Johansson, I.G., Immunological aspects of *Toxocara canis* infection in Beagle dogs, Proceedings of the XI Symposium of the Scandinavian Society for parasitology. Stockholm, Sweden, 18-9, august 17 to 19. 1983.
63. Sturchler, D., Schubarth, P., Gualzata, M., Gottstein, B. y Oetti, A., Thiabendazole vs. Albendazole in treatment of toxocarosis: a clinical trial. Ann. Trop. Med. Parasitol. 83:5, 473-8. 1989.
64. Sumano, H., Ocampo, L. y Pulido, E., Manual de Farmacología clínica para pequeñas especies. Ediciones Cuellar. México. 2000.
65. Thienpont, D., Rochette, F. y Vanparijs, O., Diagnóstico de las helmintiasis. Jan. Res. Foun. Bélgica. 1979.
66. Tolan R.W., Konop R., Barton L.L., Raunch D. y Steele R., Toxocarosis. Medicine Journal. 2-5. 2001.
67. Tomimura, T., Yokota, M. y Tokiguchi, H., Experimental visceral larva migrans in monkeys. I. clinical, hematological, biochemical and gross pathological observations on monkeys inoculated with embryonated eggs of the dog ascarid, *Toxocara canis*. Jap. J. Vet. Sci. 38: 533-548. 1976.
68. Velebny, S., Hrcakova, G. y Tomasovicova, O., *Toxocara canis* in mice: effect of stabilised liposomes on the larvicidal efficacy of febendazole and albendazole. Helminthologia. 37, 195-198. 2000.
69. Warren, E.G., Infections of *Toxocara canis* in dogs fed infected mouse tissues. Parasitology. 59, 837-41. 1969.
70. Zimmerman, V., Löwenstein, M.D y Stoye, M., Untersuchungen über die Wanderung und Streuung der Larven von *Toxocara canis* WERNER 1782 (Anisakidae) im definitiven Wirt (Beagle) nach Erst- und Reinfektion. Z. Vet. Med. B., 32, 1-28, 1985.

ANEXO 1

Tabla de análisis de varianza para el total de larvas de *Toxocara canis*

FV	g.l	SC	CM	Fc
Tratamientos	4	113410.92	28352.73	6.0568
Error	36	168520.18	4681.12	
Total	40	281931.10		

$$F_t = 2.69 \quad \alpha = 5\%$$

Planteamiento de hipótesis:

H₀ = Los tratamientos no actúan contra las larvas en todo el ratón

H₁ = Los tratamientos actúan contra las larvas en todo el ratón

$F_c > F_t = 6.7338 > 2.69$ por lo tanto: **Se rechaza H₀**.

Conclusión: El tratamiento actúa contra las larvas en total.

Tabla de análisis de varianza para cerebros

FV	g.l	SC	CM	Fc
Tratamiento	4	9941.44	2485.36	1.8097
Error	36	49439	1373.31	
Total	40	59380.44		

$$F_t = 2.69 \quad \alpha = 5\%$$

Planteamiento de hipótesis:

H₀ = Los tratamientos no actúan contra las larvas en cerebro

H₁ = Los tratamientos actúan contra las larvas en cerebro

$F_c < F_t = 1.2719 < 2.69$ por lo tanto: **Se acepta H₀**.

Conclusión: Los tratamientos no actúan contra las larvas en cerebro.

Tabla de análisis de varianza para músculos esqueléticos

FV	g.l	SC	CM	Fc
Tratamientos	4	52415.05	13103.76	3.5865
Error	36	131529	3653.58	
Total	40	183944.05		

$$F_t = 2.69 \quad \alpha = 5\%$$

Planteamiento de hipótesis:

H_0 = Los tratamientos no actúan contra las larvas en músculo esquelético

H_1 = Los tratamientos actúan contra las larvas en músculo esquelético

$$F_c > F_t = 4.8469 > 2.69 \quad \text{por lo tanto } \mathbf{Se \text{ rechaza } H_0.}$$

Conclusión: Los tratamientos si actúan contra las larvas en el músculo esquelético.

