



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

U. N. A. M.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
CUAUTITLÁN



DEPARTAMENTO DE

EXAMENES PROFESIONALES
"Efecto antiparasitario del albendazol en diferentes dosis sobre larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos".

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

EDUARDO JARAMILLO ALCANTAR

ASESOR: M. EN C. JUAN PABLO MARTINEZ LABAT



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.

AGRADEZCO A DIOS

El haberme permitido
cumplir este sueño y
sobre todo el vivir...

A MIS PADRES

A ustedes les debo lo que soy hasta ahora,
les agradezco todo su amor, comprensión
y esfuerzos para que alcanzáramos esta
meta...

A LA UNIVERSIDAD

Por que nos da las armas para enfrentar
la vida y por que en ella pase una de las
etapas más importantes de mi vida...

AL PROFESOR PABLO

Un especial agradecimiento por
las facilidades que me dio para
la realización de este trabajo,
la paciencia y sobre todo por
confiar en mí...

A TODOS MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS

Gracias por todos esos momentos de su vida que me regalaron...

Haydee, Carlos, Daniel (Spice), Leticia, Alma, Poncho, Claudia, Andrea, Flavio, Gaby,
Chabela, Gil, Arturo, Lizbeth, Nelly, Francisco...

A MIS ENEMIGOS

Mil gracias a todos ellos porque son los que nos hacen mas fuertes...

Cuando deseas algo con fuerza el universo entero

confabula para que se haga realidad...

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|-----|
| Índice de figuras | II |
| Índice de cuadros y tablas | II |
| Índice de abreviaturas empleadas | III |
| 1. Resumen | 1 |
| 2. Introducción..... | 2 |
| 3. Objetivos..... | 4 |
| 4. Generalidades..... | 5 |
| 4.1. Localización de <i>Toxocara canis</i> | 5 |
| 4.2. Morfología..... | 6 |
| 4.3. Epidemiología..... | 8 |
| 4.4. Ciclo biológico..... | 12 |
| 4.4.1. Migración somática en perros | 15 |
| 4.4.2. Migración somática a través de hospederos paraténicos... | 15 |
| 4.5. Patogenia..... | 16 |
| 4.6. Sistemas de evasión inmune..... | 19 |
| 4.7. Cuadro clínico..... | 21 |
| 4.8. Síndrome de Larva Migrans Visceral..... | 22 |
| 4.9. Síndrome de Larva Migrans Ocular..... | 23 |
| 4.10. Lesiones..... | 24 |
| 4.11. Diagnóstico..... | 25 |
| 4.12. Prevención y control..... | 26 |
| 4.13. Tratamientos contra toxocariosis..... | 27 |
| 4.13.1 Compuestos Fenotiazínicos..... | 28 |
| 4.13.2. Compuestos imidazotiazólicos..... | 30 |
| 4.13.3. Tetrahidropiridinas..... | 31 |
| 4.13.4. Lactonas macrocíclicas..... | 32 |
| 4.13.5. Compuestos bencimidazólicos..... | 34 |
| 5. Metodología..... | 39 |
| 6. Resultados..... | 42 |
| 7. Discusión..... | 52 |
| 8. Conclusiones..... | 57 |
| 9. Bibliografía..... | 58 |
| Anexo | 62 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Morfología de <i>T. canis</i> | 6 |
| Figura 2. Fases adultas de <i>T. canis</i> | 7 |
| Figura 3. Huevos de <i>T. canis</i> | 7 |
| Figura 4. Ciclo biológico de <i>T. canis</i> | 14 |
| Figura 5. Migración de la larva de <i>T. canis</i> a través del humano..... | 16 |
| Figura 6. Asentamiento de <i>T. canis</i> en el ojo..... | 23 |
| Figura 7. Estructura química de la piperazina..... | 28 |
| Figura 8. Estructura química de la dietilcarbamacina..... | 29 |
| Figura 9. Estructura química del levamisol..... | 30 |
| Figura 10. Formulas estructurales de las tetrahidropiridinas..... | 31 |
| Figura 11. Formula básica del anillo lactona macrocíclico de las ivermectinas..... | 32 |
| Figura 12. Molécula α -D-ribofuranacil..... | 34 |
| Figura 13. Fórmulas estructurales de los bencimidazoles más habituales..... | 35 |
| Figura 14. Síntesis normal de Tubulina..... | 36 |
| Figura 15. Biotransformación hepática del albendazol..... | 37 |

INDICE DE CUADROS Y TABLAS

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Frecuencia de <i>Toxocara canis</i> en perros en diferentes lugares de la República Mexicana..... | 8 |
| Cuadro 2. Frecuencia de presentación de formas adultas de <i>Toxocara canis</i> en perros en diversas localidades del mundo..... | 9 |
| Tabla 1. Número de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en el lote control..... | 43 |
| Tabla 2. Número de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en el lote de animales inoculados y no tratados..... | 44 |
| Tabla 3. Número de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en el lote de ratones tratados con una dosis de 5mg/Kg de albendazol..... | 45 |
| Tabla 4. Número de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en el lote de ratones tratados con una dosis de 50mg/Kg de albendazol..... | 46 |
| Tabla 5. Número de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en el lote de ratones tratados con una dosis de 100mg/Kg de albendazol..... | 47 |
| Tabla 6. Número de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en el lote de ratones tratados con una dosis de 400mg/Kg de albendazol..... | 48 |
| Tabla 7. Tabla comparativa de promedio de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en los diferentes lotes, órganos y a las diferentes dosis de albendazol utilizadas..... | 49 |

Grafica 1. Efectividad del albendazol contra el número de larvas de *Toxocara canis* en los diferentes órganos y dosis.....50

Tabla 8. Porcentaje de eficacia del principio activo utilizado a las dosis utilizadas contra larvas enquistadas de *T. canis* en los órganos de cerebro y músculo51

Tabla 9. Porcentaje de eficacia del principio activo utilizado a las dosis utilizadas contra larvas enquistadas de *T. canis* en los órganos de cerebro y músculo 51

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

| | |
|--|-----------------|
| Ácido gamma-amino Butírico..... | GABA |
| Albendazol | ABZ |
| Antígenos de excreción- secreción..... | TES |
| Bencimidazoles..... | BZD |
| Diferencia verdaderamente significativa..... | DVS |
| Flavinoaminoxigenasa | FMO |
| Grado centígrado..... | °C |
| Hemoaglutinación indirecta | HAI |
| Inmunoglobulina clase E..... | IgE |
| Inmunoglobulina clase G..... | IgG |
| Inmunoglobulina clase M..... | IgM |
| Interleucina cinco..... | IL-5 |
| Ión cloro..... | Cl ⁻ |
| Larva en fase dos | L ₂ |
| Larva migrans ocular | LMO |
| Larva migrans visceral..... | LMV |
| Micrómetro | µm |
| Morantel | MRT |
| Nanómetro..... | nm |
| Pirantel | PRT |
| Porcentaje..... | % |
| Prueba inmunoquímica ligada a enzimas..... | ELISA |
| Sulfóxido de Albendazol | ABZSO |

1. RESUMEN

El organismo en estudio en este trabajo fue el nematodo *Toxocara canis* que es uno de los parásitos intestinales más comunes en el perro, afectando también en sus formas larvianas extraintestinalmente a otros hospederos.

El presente trabajo se enfocó a la búsqueda de la dosis más efectiva de albendazol utilizando el fármaco en diferentes dosis con una sola administración para determinar la más adecuada en el combate del estadio larvario del nematodo *Toxocara canis* que, como se sabe es un parásito común en perros y causa zoonosis, tomando en cuenta la cercana relación entre humanos y perros.

Para lograr lo anterior se emplearon 60 ratones albinos hembra de cepa CD-1, formando seis lotes, infestando cinco artificialmente con 1100 huevos larvados viables de *Toxocara canis*, los cuales se inocularon por sondeo gástrico, dejando el lote restante como control.

Un mes después de la infestación se trataron los animales con albendazol con una sola dosis de 5, 50, 100, 400 mg/Kg de peso, asignando cada dosis a un lote, pasados 30 días, los animales fueron sacrificados así como la realización de necropsia, extrayendo músculo esquelético, cerebro, pulmón, hígado y riñón; la eficacia del tratamiento se evaluó con base a la recuperación de larvas en cada uno de los órganos, por medio de digestión artificial de los mismos y conteo microscópico de las larvas.

Los resultados obtenidos arrojaron una eficacia de 19.32 %, 33.62 %, 38.69 % y 41.91 % para las dosis de 5, 50, 100 y 400 mg/Kg de peso respectivamente. Los resultados son estadísticamente significativos en el análisis de varianza pero en la prueba de Tukey no mostraron significancia, siendo el efecto de reducción de las larvas visible numéricamente.

Se concluye de este trabajo, que el albendazol es efectivo para matar las larvas enquistadas; atravesar la barrera hematoencefálica ya que disminuye en cierto porcentaje el número de larvas en cerebro, por tanto presenta potencial para eliminarlas en otras vísceras. De igual manera se concluye con base en los estudios realizados por otros autores, que el uso de un esquema multidosis pueden incrementar la eficacia del fármaco.

2. INTRODUCCION

Desde la antigüedad el humano primitivo tenía que afrontar diversas circunstancias cuando salía de caza y es seguro que se encontraba a menudo con animales salvajes parecidos al perro; siendo lo más probable que su intención fuera utilizarlo en su alimentación, pero luego debieron haber sentido afinidad hacia estos animales y entonces los criaron, los domesticaron e integraron a su vida diaria. (Lapage, 1971)

Desde ese momento, los seres humanos empezaron a adiestrar al perro y con el tiempo lo integraron en su vida en ocupaciones como la caza, guerra, llegando a considerarlos como seres mitológicos, pastores, guardia, en espectáculos y experimentación, lo que demuestra la estrecha relación entre los seres humanos y los perros. (Lapage, 1971)

Esta relación ha provocado que diversas enfermedades tanto del perro, como del humano sean compartidas entre ellos, como ocurre con muchas de las parasitosis comunes en esta especie. (Urquhart y Col., 2001)

Los parásitos han invadido prácticamente a todos los organismos, a los que se llama hospederos y proporcionan al parásito alimento y protección. (Urquhart y Col., 2001)

Los parásitos se han originado por evolución a partir de organismos de vida libre con un proceso gradual de adaptación integral. Estos organismos tienen un papel importante en la regulación de las poblaciones, ya que algunas veces afectan su desarrollo y otras los matan. Los parásitos se adaptan a diferentes hábitats del hospedero como: piel, tejido subcutáneo, cavidades, sangre, aparato digestivo. (Urquhart y Col., 2001)

La mayoría de los animales alberga uno o varios tipos de parásitos, con cientos o miles de especímenes. Los perros son parasitados por diferentes protozoarios entre los que destacan *Giardia*, *Isospora*, *Sarcocystis*, *Trypanosoma*, *Babesia*, helmintos como, *Taenia*, *Dipylidium*, *Echinococcus*, *Dirofilaria*, *Ancylostoma*, *Toxocara*, *Angyostrongylus*, *Strongyloides*, *Spirocerca*, *Trichuris* y los artrópodos como *Heterodoxus*, *Trichodectes*, *Linognathus*, *Ctenocephalides* y *Pulex*. *Sarcoptes*, *Demodex*, *Amblyomma*, *Boophilus*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus*. *Ornithoros* y *Otobius*. (Urquhart y Col., 2001)

Una gran cantidad de hospederos pueden estar toda su vida parasitados sin mostrar gran deterioro de la salud. (Melhorn H., 1986)

Los efectos de los parásitos sobre sus hospedadores no son, en esencia, diferentes a los causados por las bacterias o los virus. Están regidos al igual que éstos, por factores como: el número de parásitos que logra asentarse, su patogenicidad, esto es, su capacidad para dañar; la situación que ocupa dentro o en su exterior; la naturaleza del daño infringido por el parásito y la naturaleza de la reacción del hospedero hacia los parásitos. (Schwalbe C. W, 1986)

3. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Contribuir al conocimiento y manejo de un producto antiparasitario activo contra larvas enquistadas de *Toxocara canis* empleando modelos experimentales *in vivo*, para su posterior utilización en organismos (animales y humanos) con infección natural.

Objetivos Particulares:

- Determinar el efecto antiparasitario del albendazol administrándolo a diferentes dosis en ratones blancos infestados con larvas somáticas de *Toxocara canis*.
- Conocer la dosis más efectiva de albendazol para reducir al máximo la presencia de larvas enquistadas de *T. canis* en los ratones infestados.

4. GENERALIDADES

El organismo en estudio en este trabajo fue el nematodo *Toxocara canis* que es uno de los parásitos más comunes en el perro.

Toxocara canis se encuentra clasificado de la siguiente manera (Soulsby, 1986):

Subreino: Metazoa

Phylum: Nematelminthes

Clase: Nematoda

Orden: Ascaroidea

Familia Ascaridae

Género: *Toxocara*

Los miembros del orden Ascaroidea, son por lo general relativamente grandes y están provistos de tres labios bien desarrollados, un esófago cilíndrico y músculos corporales celomarios. Los huevos tienen una cáscara gruesa y no están embrionados cuando se depositan. (Luengo, 1997; Rincón 2001)

4.1. LOCALIZACIÓN

Los adultos de *T. canis* se localizan en intestino delgado de perros y algunos canideos salvajes como zorros, lobos, coyotes, hienas, etc. Presentando una amplia distribución en el mundo. (Quiroz, 1988; Goldsmith, 1995)

Tienen hospederos paraténicos entre los que se incluyen los roedores, caprinos, bovinos, pollos, ovinos, cerdos, palomas que pueden alojar larvas en cerebro, músculo esquelético, riñones, pulmón, hígado, y otros órganos en los que se enquista en el segundo estadio (L-2) considerándose al humano como un hospedero accidental. (Brown. 1986: Urquhart, 2001)

4.2. MORFOLOGÍA

Las especies del género *Toxocara*, tienen aletas cervicales diferenciadas y labios prominentes que suelen presentar rebordes dentígeros finos, carecen de interlabios, y tienen en el esófago un ventrículo posterior evidente, pero carecen de divertículo vertical y ciego intestinal. El macho muestra un apéndice caudal digitiforme, y en algunas especies existen aletas caudales. Hay 5 pares de papilas caudales posteriores en la cloaca y muchas anteriores, y existe una papila subventral doble que es posterior a la cloaca presente en ambos lados (Figura 1). La vulva de la hembra está en la porción anterior del cuerpo; los huevos presentan depresiones superficiales. (Beaver, 1987).

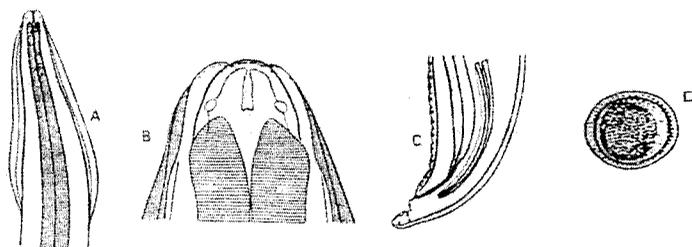


Figura 1. Morfología de *Toxocara canis*. A. Vista ventral del extremo anterior, B. Vista dorsal del extremo anterior, C. Vista lateral del extremo posterior, D. Huevo. (Quiroz, 1988).

Los machos miden de 4-10 cm y las hembras de 5-18 cm, se han observado longitudes máximas de 13 y 20 cm. (Figura 2). Las aletas cervicales son mucho más largas que anchas (2-4 mm por unos 0.2mm) el esófago suele medir 5 mm, incluido el ventrículo, que tiene 0.5 mm tanto de longitud como de anchura. La vulva se sitúa a la altura del primer tercio del cuerpo. (Beaver, 1987).

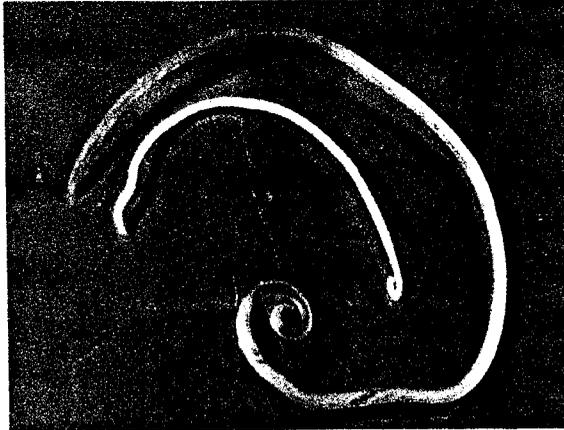


Figura 2. Fases adultas de *Toxocara canis*, al centro y de dimensión reducida el macho, al exterior y de mayor dimensión la hembra. (Martínez, 2005)

Los huevos son subglobulosos, de unos 85-95 por 75-90 μm , presentan depresiones en la cáscara y no están embrionados cuando se depositan (Figura 3), son amarillo-blanquecinos; también poseen una cubierta protéica la cual está uniformemente fosetada, poseen una masa protoplasmática que llena completamente el interior del huevo. (Beaver, 1987)

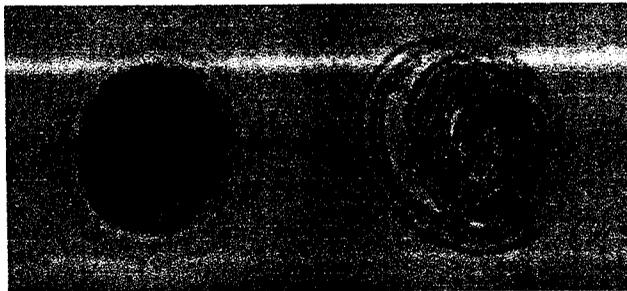


Figura 3. Huevos de *T. canis*, a la izquierda se puede apreciar un huevo no embrionado en el cual se observan las tres capas de que esta compuesta su cubierta; en la parte derecha un huevo embrionado con larva 2 (L2). (Martínez, 2005)

4.3. EPIDEMIOLOGÍA

Toxocara canis es uno de los parásitos más comunes del perro, lo cual se ha demostrado con gran cantidad de estudios existentes tanto a nivel nacional como internacional (cuadro 1 y 2), en los que muestran variaciones muy importantes de frecuencia sin importar la zona geográfica. (Goldsmith, 1995; Acosta, 2004)

Cuadro 1. Frecuencia de *T. canis* en perros de diferentes lugares de la República Mexicana

| LUGAR | AÑO | PERROS EXAMINADOS | TIPO DE EXAMEN | FRECUENCIA (%) | AUTOR |
|-------------------------------|------|-------------------|----------------|----------------|-------------------------|
| México, D.F. | 1955 | 100 | N | 30 | Flores, 1955 |
| México, D.F. | 1967 | 120 | CPS | 93 | Quiroz, 1982 |
| México, D.F. | 1969 | 50 | CPS | 20 | Escalante, 1960 |
| Veracruz, Ver. | 1970 | 300 | CPS | 9.6 | Franyutti, 1970 |
| Monterrey, N.L. | 1972 | 100 | N | 5 | Garza, 1972 |
| Guadalajara, Jal. | 1973 | 450 | CPS | 16.2 | Mora de la, 1973 |
| Cuernavaca, Mor. | 1974 | 719 | CPS | 15 | Quiroz, 1982 |
| Aguascalientes, Ags.. | 1983 | 294 | CPS | 47.6 | Valdivia, 1983 |
| México, D.F. | 1986 | 200 | CPS | 21 | Cruz y col, 1987 |
| México, D.F. | 1987 | 176 | N | 58.5 | Cruz y col, 1987 |
| Pungarabato y Cutzamala, Gro. | 1989 | 106 | CPS | 37.7 | Barrera y Fragoso, 1989 |
| Veracruz, Ver. | 1989 | 447 | CPS | 74 | Zermeño y Col., 1986 |
| México, D.F. | 1990 | 463 | CPS | 4.9 | Cruz y col, 1987 |
| México, D.F. | 1992 | 240 | CPS | 3.6 | Penagos y col., 1992 |
| Culiacán, Sin. | 1996 | 100 | CPS | 7 | Gaxiola y col., 1996 |
| México, D.F. | 1996 | 47 | CPS | 100 | Vega y Rivera, 1996 |
| México, D.F. | 1998 | 100 | N | 15 | Martínez y Col, 1998 |
| México, D.F. | 1998 | 470 | CPS | 19.8 | Eguia-Aguilar, 1998 |

CPS = coproparasitoscópico N = Necropsia

(Tomado de Alba, 1999)

Cuadro 2 Frecuencia de presentación de formas adultas de *Toxocara canis* en perros de diversas localidades del mundo

| LUGAR | AÑO | PERROS EXAMINADOS | TIPO DE EXAMEN | FRECUENCIA (%) | Autor |
|--------------------------|------|-------------------|----------------|----------------|---------------------------|
| Canadá | 1975 | 239 | CPS | 43.50 | Seah, 1975 |
| Accra, Ghana | 1975 | 100 | N | 40 | Anteson y Corkish, 1975 |
| Londres, Inglaterra | 1977 | 1000 | CPS | 7.2 | Turner y Pegg, 1975 |
| Iowa, EUA | 1978 | 33,594 | CPS | 3 | Lightner L., 1978 |
| Pretoria, Sudáfrica | 1979 | 253 | N | 32 | Verster, 1979 |
| Bangkok, Thailandia | 1980 | 107 | CPS | 6.5 | Hinz, 1980 |
| Freetown, Sierra Leona | 1984 | 2,938 | CPS | 9 | Hassan, 1984 |
| Hessian Neckar, Alemania | 1985 | 155 | CPS | 5.8 | Hinz y Blatz, 1985 |
| Calabar, Nigeria | 1985 | 254 | CPS | 26.7 | Ugochukwu y Ejimadu, 1985 |
| Bagdad, Irak | 1986 | 20 | N | 40 | Tarish, 1985 |
| La Plata, Argentina | 1988 | 2,895 | CPS | 14.2 | Venturini y Radman, 1988 |
| Curazao | 1988 | 133 | CPS | 7.5 | Saleh, 1988 |
| Grecia | 1988 | 232 | CPS | 22.4 | Haralabidis, 1988 |
| Bélgica | 1991 | 2,324 | CPS | 17.4 | Vanparijs, 1989 |
| Chinamoa, Zimbawe | 1991 | 42 | N | 9 | Owolo et al., 1991 |
| Ankara, Turquía | 1992 | 269 | CPS | 26 | Zeybek et al., 1992 |
| Montenegro, Yugoslavia | 1992 | 15 | N | 30 | Katic y Popovic, 1992 |
| Hannover, Alemania | 1993 | 3,329 | CPS | 6.9 | Epe., 1993 |
| Melbourne, Australia | 1993 | 493 | CPS | 17.4 | Jhonston y Gasser, 1993 |
| Dublín, Irlanda | 1994 | 350 | CPS | 82.6 | O'Larcain P., 1994 b |
| Sao Paulo, Brasil | 1995 | 314 | CPS | 16.6 | Farias et al., 1995 |
| Ibaraki, Japón | 1997 | 916 | N | 79.9 | Saeki et al., 1997 |
| Taipei, Taiwan | 1997 | 96 | N | 27 | Fei-Chang y Mo-Kang, 1997 |

CPS = Coproparasitoscópico N = Necropsia

(Tomado de Alba, 1999)

Los perros jóvenes de menos de doce semanas, son los portadores de las fases adultas durante los primeros seis meses de vida, el origen de las infestaciones, se asocia principalmente a la perra, la cual es portadora de larvas que se encuentran enquistadas en tejido muscular y cerebro. Las frecuencias de presentación fluctúan entre un 10 y un 100 por ciento, siendo poco común que perros adultos sean portadores de estas fases, se considera que entre 15 y 20 por ciento lo son. Los animales portadores de fases adultas, son eliminadores de huevos del parásito por varios meses y las hembras tienen un elevado potencial reproductivo (pueden eliminar hasta 200,000 huevos por día), y estas fases liberadas al medio externo tienen altas oportunidades de dar origen a las L-2 pasivas, que son las fases infestantes, las cuales dependen de factores medioambientales para desarrollarse y mantenerse viables en el suelo (pisos de tierra, pisos empastados, sombreados y húmedos), si consideramos que esos factores pueden presentar fluctuaciones estacionales, la viabilidad y posible éxito de las fases infestantes, en reducidos espacios estableciendo la posibilidad de que nuevos animales desarrollen la infestación. (Goldsmith 1995; Oliveira, 2002)

El rápido desarrollo del parásito durante la fase de lactancia permite que las fases, que se forman a las cinco o seis semanas de vida del cachorro ingresen al cuerpo de las perras, debido al proceso de socialización que tienen los cachorros y perras por lo que si éstas transmitieron larvas infestantes durante la gestación y lactancia a sus cachorros, la producción de huevos y desarrollo posterior de L-2 hacen que recupere parte de las larvas que ha liberado en ese lapso. (Oliveira, 2002)

Las poblaciones de perros portadores de parásitos adultos, pueden ser divididas en varios grupos: el primero representado por aquellos que tienen dueño, susceptibles de portar parásitos que sin embargo son sometidos a desparasitaciones y aunque sea de forma parcial, son controlados y tienen poco impacto por el grado de parasitismo que presentan y la forma en que se mantiene debido a que los parásitos adultos desaparecen y se da la presencia de formas larvarias enquistadas en el cuerpo de perros adultos, particularmente hembras, persistiendo la transmisión transplacentaria y lactogénica correspondiendo esto aproximadamente entre 15 y 20 por ciento de la población canina controlada.

Parte de esa población es desparasitada una sola vez en su vida dándosele más importancia al aspecto de vacunación para prevenir la rabia. El segundo corresponde a los

animales que se mantienen en la calle y son adoptados por la comunidad de vecinos, son alimentados sin que exista responsabilidad de la gente en cuanto a desparasitación o vacunación preventiva. estos animales son fuente sobre todo de brotes de enfermedades de alto riesgo como la rabia, y, cuando se presentan esos brotes la gente se desentiende, este sector es un riesgo de contaminación al no existir control sanitario ni reproductivo, y producen camadas que a su vez se integran al tercer grupo: el de los perros callejeros, animales sin control que subsisten a partir de desechos comestibles que buscan constantemente y les sirven como alimento, con un tremendo potencial reproductivo, estos dos estratos de la población canina son los responsables de contaminar calles, jardines públicos, camellones, etc., estableciendo un ciclo de transmisión constante en el que los cachorros portan las fases adultas contaminando el suelo, y las perras en particular se reinfectan a partir de fases infestantes derivadas de los cachorros.

Además, los perros jóvenes suelen infestarse a partir de la ingestión de huevos larvados que contaminan el suelo y por la ingestión de cuerpos o partes de hospederos paraténicos que alojan L-2 enquistadas. En estos animales la presencia de parásitos ocasiona sobre todo trastornos nutricionales debido a que los gusanos son quimófalos, lo cual afecta el aspecto de los mismos y el potencial de desarrollo, en sus primeras etapas de infestación puede relacionarse con problemas respiratorios derivados de la migración que, si se complican puede derivar en neumonías mortales. (Oliveira, 2002)

La presencia de las larvas ocasiona trastornos inflamatorios crónicos en tejido muscular que alteran la calidad de vida del animal, sin dejar de lado que los estadios larvarios involucran prácticamente todas las vísceras en su desplazamiento antes de asentarse definitivamente dejando tejidos lesionados y cicatrizados a su paso, en especial: el hígado, los pulmones y los riñones, eventualmente los ojos y sobre todo tiene una gran concentración y persistencia en el cerebro. De forma general el parasitismo en este grupo de animales no es aparente pero su presencia puede estar afectando la condición de vida y el funcionamiento de diversos órganos lo cual puede finalmente reducir el promedio de vida de los animales. (Oliveira, 2002)

Los humanos actúan como hospedadores terminales del parásito, en su cuerpo se alojan las fases larvarias a nivel de vísceras y musculatura esquelética, las cuales ingresan al ser

ingeridas por contaminación de las manos, su presencia resulta más frecuente en los niños durante los primeros años de vida, se relaciona al comportamiento de juego ya que la mayor parte del tiempo juegan en el suelo o en la tierra parcialmente contaminados originando la infestación, ésta regularmente se desarrolla en forma gradual y resulta inaparente (se conoce como toxocariosis encubierta) y la otra condición corresponde a la ingestión de una gran cantidad de fases infestantes produciendo una condición aguda y potencialmente mortal, esta condición es denominada síndrome de larva migrans visceral y existe además una variante asociada con el asentamiento de las larvas en los ojos la cual ocurre de forma aleatoria y se denomina síndrome de larva migrans ocular. (Fisher, 2003)

La presencia de esta infestación por larvas está ampliamente documentada en el mundo con niveles de prevalencia muy variados con hasta el 60 y 81.5 por ciento de las poblaciones muestreadas positivas a la infestación, que pueden compararse con valores tan altos como los de las helmintiasis intestinales comunes. La infestación afecta la calidad de vida del humano y puede asociarse eventualmente a la presentación de problemas respiratorios crónicos, hepáticos o neurológicos y si consideramos que se adquiere durante la infancia acompaña al individuo durante el resto de la vida. (García, 2002; Fisher, 2003)

4.4. CICLO BIOLÓGICO

El ciclo de vida de *T. canis* es complejo y varía de acuerdo a la edad a la que el hospedero adquiere la infestación y a las diversas formas en que el parásito puede llegar a éste: transplacentaria, calostrada, transmisión directa o infestación por ingestión de un hospedero paraténico. (Muñoz, 1997; García, 2002)

El ciclo se inicia con la eliminación de huevos de *T. canis* en heces de los perros parasitados (principalmente cachorros), estos huevos son resistentes y duraderos en el ambiente (Figura 4). Sin embargo, la exposición a la luz solar y a una temperatura de 55.5° C los mata. El desarrollo de la larva infestante, requiere de 9 a 11 días a 24° C y de 3 a 5 días a 30° C, en presencia de oxígeno atmosférico y una humedad relativa del 75 %. (Beaver, 1987; Cheng, 1978)

En los cachorros menores a tres meses, los huevos con L-2 son ingeridos como contaminantes de superficie pasando al intestino en donde las larvas eclosionan y migran a

través de la pared y por vía sanguínea para desplazarse al hígado, el cual atraviesan para poder salir nuevamente por sangre, luego alcanzan con rapidez el corazón y se integran por la circulación venosa a los pulmones en los que inicialmente se establecen en el parénquima pulmonar para madurar y convertirse en el tercer estadio larvario, éste migra a los pasajes respiratorios en bronquiolos, asciende a bronquios, luego a la tráquea para ser redeglutida desplazándose hacia el aparato digestivo, en el que a nivel intestinal se produce una nueva muda desarrollando el cuarto y quinto estadio larvario que, finalmente dan lugar a formas adultas inmaduras que alcanzan la madurez en un lapso de 4 semanas comenzando la eliminación de huevos y permaneciendo en esta zona por varios meses antes de ser expulsados por el hospedero. (Greve, 1971)

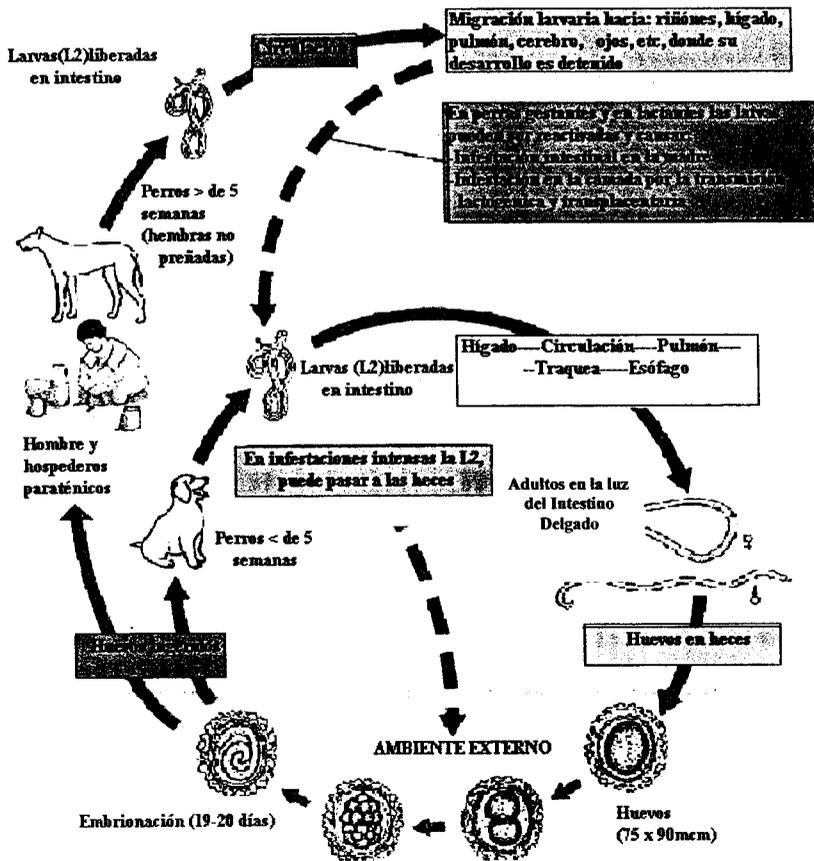
Estos animales pueden infestarse también por ingestión de hospederos paraténicos que son portadores de L-2 enquistadas en su cuerpo, estos organismos son liberados en el intestino, desarrollando una migración semejante a la realizada por larvas liberadas de huevos. Las otras modalidades son la transplacentaria y la transmamaria, ambas tienen como fuente a las perras adultas que son portadoras de larvas somáticas enquistadas, activadas durante el segundo tercio de la gestación pasando a los tejidos a través de la placenta para instalarse en el hígado hasta que concluye este proceso, al nacer los cachorros las larvas migran del hígado a los pulmones por vía sanguínea, repitiendo el comportamiento de aquellas que han ingresado por vía oral, la diferencia en este caso radica en el periodo de prepatencia ya que estas fases han ahorrado tiempo de desplazamiento, lo cual les permite un rápido acceso al aparato digestivo madurando en un lapso corto. (Kirk, 1984)

Además de la infestación post-natal por la ingestión de huevos embrionados, los cachorros casi siempre se infestan prenatalmente en condiciones naturales. Esto último bajo la influencia de las hormonas de la hembra en gestación, las larvas somáticas son reactivadas y penetran a los fetos entre los días 42 y 43 de la gestación. Cuando alcanzan el hígado del feto tiene lugar una muda, transformándose en larvas de tercer estado, las cuales, al nacer los cachorros, pasan rápido a los pulmones y así permanecen durante la primera semana de vida. La muda al cuarto estadio se produce durante la primera semana, cuando las larvas están en pulmones o posteriormente en estómago. Hacia el fin de la segunda semana, mudan al quinto estadio. Posteriormente, experimentan un rápido crecimiento y los adultos pueden encontrarse

al final de la tercera semana. El periodo de patencia de las infestaciones prenatales varía entre los 23 y los 40 días después del nacimiento. (Kirk, 1984; Rincón, 2001)

La reactivación de las larvas somáticas continúa en la perra lactante y las larvas ganan acceso a la glándula mamaria, siendo expulsadas en la leche e infestando a la camada. La infestación postnatal de cachorros durante la lactancia es cuantitativamente tanto o más importante que la ingestación prenatal *in útero*. (Rincón, 2001)

Figura 4. Ciclo biológico de *Toxocara canis*



4.4.1. Migración somática en perros

Los perros adultos pueden ser infestados por la ingestión de huevos larvados de *T. canis* del ambiente, principalmente del suelo contaminado. Las larvas eclosionan en el intestino y penetran en la mucosa intestinal. La migración ocurre tanto por vía linfática y sanguínea o activamente por la penetración de los tejidos con 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 los hospederos paraténicos. La larva de *Toxocara cati* prefiere migrar hacia los músculos, mientras que la larva de *Toxocara canis* se encuentra más a menudo en el sistema nervioso central. (Sprent, 1958; Schön J. y Stoye, 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)

4.4.2. Migración somática a través de hospederos paraténicos

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

Esta ruta de infestación existe porque el desarrollo de larvas somáticas en hospederos paraténicos incluye a vertebrados tales como roedores y pájaros o invertebrados como gusanos de tierra e insectos. Los mamíferos pequeños juegan un papel importante como hospederos paraténicos en localidades urbanas y rurales, pues en estos lugares hay gran cantidad de estos animales (tal es el caso de ratas y ratones de drenaje). (Oshima, 1961; Dubinsky y Col., 1995)

Después de la ingestión de los hospederos paraténicos infestados con la larva de *T. canis* por el perro, 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 intestino. (Warren, 1969; Kasai, 1995)

El humano se puede infestar por la ingestión de huevos larvados de *T. canis*, el ciclo biológico que ocurre en humanos es similar al que ocurre en los animales. Los huevos liberan sus larvas en la pared intestinal y luego por circulación sanguínea pasan al hígado, pulmón, corazón, cerebro, músculo, bazo, riñón y la más preocupante, al ojo (Figura 5). Como reacción primaria defensiva del organismo hay formación de granulomas en el sitio donde llega la larva y luego de esto habrán manifestaciones alérgicas en la persona, como fiebre, leucocitosis, eosinofilia, anorexia, disminución de peso, dolores musculares o articulares e incluso tos. (Urbano y García, 2002)

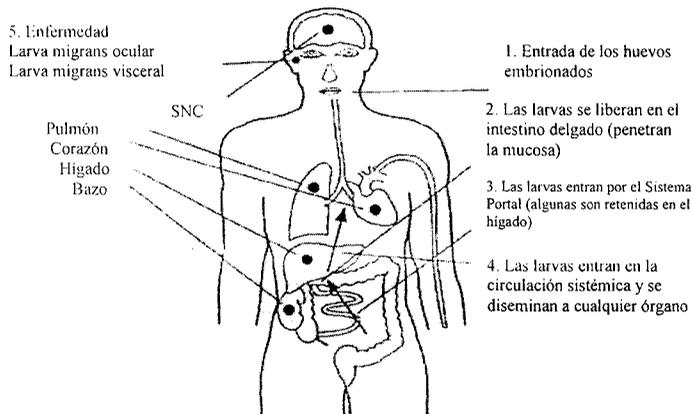


Figura 5. Migración de la larva de *T. canis* a través del humano. (González y Morales, 2002)

4.5. PATOGENIA

En las infecciones naturales las alteraciones generadas por estos organismos se agrupan en dos niveles: las producidas por los estadios adultos (que pasan por un breve desarrollo larvario en el hospedero) y las producidas por los estadios larvarios (específicamente en los hospederos paraténicos y de gran duración). (Martínez, 2004)

En el primer caso se debe considerar la fase inicial derivada de la migración a través de la pared intestinal en la que la L2 destruye y digiere las diversas capas de esta estructura,

causando hemorragias y una severa respuesta inflamatoria. que permite la reparación posterior de estas lesiones. La segunda etapa se asocia a las lesiones hepáticas derivadas del desplazamiento de las larvas el cual se asocia a la destrucción de tejido. La digestión de los mismos produce severas hemorragias, tanto en el parénquima como en su cápsula, ésta va seguida de una respuesta inflamatoria que rodea las zonas lesionadas y se caracteriza por mantenerse durante largo tiempo después de que los organismos han desaparecido. Las zonas lesionadas pierden por un lapso muy prolongado su capacidad para participar en los procesos metabólicos propios de la víscera, pudiendo resultar esto de importancia cuando se trata de animales jóvenes, por fortuna, ésta tiene un gran potencial para reparar y regenerar las zonas lesionadas. La siguiente fase está relacionada con el daño a nivel pulmonar que se da en dos etapas: la primera ocurre a nivel de parénquima y se relaciona con la destrucción del tejido y su literal digestión por productos de excreción de las larvas, lo cual se asocia con el desarrollo de severas hemorragias, con la aparición de una violenta respuesta inflamatoria en la que se produce el desarrollo de una reacción granulomatosa que se mantiene por largo tiempo y que afecta notablemente la capacidad respiratoria en caso de existir una infección importante. Continúa con un proceso de reparación con depósito de material cicatrizal que queda como secuela. Este proceso puede ser especialmente importante en animales recién nacidos, ya que puede inducir un proceso neumónico grave y asociarse a infecciones bacterianas oportunistas que agravan el cuadro, pudiendo provocar la muerte. Posteriormente se dirigen a los pasajes respiratorios en donde generan reacciones a cuerpo extraño de forma temporal, para ser expelidas hacia el tubo digestivo, en donde se comportan como quimófalos. Obtienen sus nutrientes del contenido intestinal, afectando la nutrición del hospedero, existiendo una relación proporcional con la cantidad de gusanos por lo cual varía el impacto. Es poco perceptible cuando se trata de pequeñas cantidades de adultos y, muy ostensible en caso de parasitosis masivas debido al grave detrimento en nutrientes que lleva al adelgazamiento del animal, el cual se marca después de alimentarse dándole un aspecto característico. Esto se completa con el volumen ocupado por los organismos y la respuesta hipertrófica de la musculatura lisa del intestino, que provoca también el aumento del volumen abdominal, en casos extremos de desnutrición el hospedero recurre a la utilización de componentes estructurales, como grasa corporal y proteína de músculo, que serán invertidos en el metabolismo, en especial para mantener los niveles de albúmina plasmática. Que cuando llegan a un punto crítico llevan el desarrollo de ascitis. La interacción física con los vermes provoca también alteraciones en la mucosa intestinal. disminuye la dimensión de las

vellosidades apareciendo hiperplasia de la mucosa, con predominio de células indiferenciadas, ésta puede relacionarse con un síndrome de pérdida protéica por la permeabilidad aumentada de la mucosa que lleva al desarrollo de hipoproteïnemia y a la pérdida de volumen muscular en el animal. Eventualmente los parásitos se desplazan a estómago y causan el reflejo emético siendo expulsados espontáneamente. En el mismo sentido puede haber suficiente estímulo a nivel intestinal para provocar un aumento de motilidad que permite su expulsión. También de forma esporádica se producen obstrucciones intestinales y migraciones erráticas de consecuencias fatales. La persistencia de los gusanos adultos es por algunos meses y al término se produce su expulsión desapareciendo la infección del animal. (Martínez, 2004)

La infección producida por los estadios larvarios sigue un comportamiento dependiente de la cantidad de organismos que ingresan con afección hepática y pulmonar muy parecida en su fase inicial en el que el común denominador es la destrucción tisular, la producción de hemorragias y las secuelas inflamatorias; que se hacen crónicas, muchas de ellas con formación de reacciones granulomatosas con participación de polimorfonucleares (neutrófilos y eosinófilos), macrófagos y linfocitos en los diversos tejidos. (Martínez, 2004)

La respuesta inmunológica celular en el humano es en parte la causante de las características patológicas y de las manifestaciones clínicas de la enfermedad. Los pacientes desarrollan una prueba intradérmica positiva hacia los fragmentos de los parásitos adultos de *T. canis*. (Goldsmith, 1995)

La respuesta humoral se demuestra por anticuerpos específicos en la hemoaglutinación indirecta (HAI) y las pruebas de ELISA, y por elevaciones de IgG, e IgE. La presencia de antígenos de la larva *Toxocara* parecida a los antígenos en el humano A y B sanguíneos ocasionan la elevación de hemaglutinina isoA e isoB. (Goldsmith, 1995)

La reacción tisular generada por la larva de *T. canis* es de tipo granulomatoso que contiene células gigantes y epiteloides, asociadas con eosinófilos lo cual sugiere que hay mediación inmunogénica; sin embargo, se observan larvas infectadas en secciones de granulomas, lo que significa que son resistentes a este tipo de reacción; además las larvas se pueden encontrar fuera de los granulomas. (Quiroz, 1988)

Algunos estudios describen que la respuesta inmunitaria se presenta en mayor medida en el hígado, no siendo posible detectar la respuesta inmunitaria en el cerebro. (Ahmed y Col., 2002)

4.6. SISTEMAS DE EVASIÓN INMUNE

Los mecanismos de evasión empleados por nemátodos, hasta ahora conocidos son:

a) Muda de componentes de la superficie de la cutícula

Los componentes de la superficie son mudados y constituyen blancos para anticuerpos específicos a través de los cuales los mecanismos celulares citotóxicos pueden cubrir y destruir parásitos. Requiere continua síntesis, transporte y expresión sobre la superficie. Si este ciclo fuera inhibido o meramente afectado, los gusanos podrían llegar a ser susceptibles a los efectos del hospedador. (González y Col., 2002)

b) Enzimas antioxidantes.

Los radicales oxígeno se producen dentro de las células como parte normal del metabolismo oxidativo y la mayoría de los organismos aeróbicos poseen una serie de enzimas anuladoras de oxígeno que protegen a los tejidos, órganos y células con la eliminación de los radicales potencialmente perjudiciales de sitios donde podrían alterar la función de un órgano. Estas enzimas constituyen un sistema de regulación natural, que capacita a los organismos para emplear el metabolismo oxidativo y para protegerlos de los efectos dañinos de sus productos. (González y Col., 2002)

Los nematodos poseen cantidades relativamente altas de estas enzimas en comparación con las presentes en tejidos del hospedador, lo que sugiere que pueden ser empleados para protegerse contra los radicales libres de oxígeno liberados durante la respuesta del hospedador (González y Col., 2002)

c) Resituación en los tejidos.

El lugar donde la resistencia viene mediada localmente, como por ejemplo en el sitio de fijación del parásito, la separación en un nuevo sitio puede ser una solución temporal para evitar la resistencia del hospedador. (González y Col., 2002)

d) Camuflaje con moléculas de origen parasitario o expresión de moléculas similares a las del hospedador en la superficie: imitación molecular.

La evolución paralela de hospedador y parásitos relacionados podría haber provocado una similitud antigénica entre las dos especies. De este modo, se minimizaría la disparidad antigénica y la inmunogenicidad, lo que permitiría a los parásitos causar infestaciones crónicas. Se encuentran dos mecanismos, los cuales son la absorción de una variedad de moléculas del hospedador sobre la superficie tegumental, entre las que incluyen antígenos de los grupos sanguíneos y moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad; y el otro, la expresión sobre la superficie del parásito de productos génicos con similitud a moléculas del hospedador. (González y Col., 2002)

e) Inmunomodulación.

La larva de *T. canis* secreta por lo menos 50 macromoléculas distintas. Los principales productos TES están todos glicosilados, y el total de material secretado contiene 400 µg de carbohidratos por miligramo de proteína. Las moléculas excretoras-secretoras contienen más del 40% de carbohidratos de los cuales la mayoría son N-acetilglucosamina y galactosa que son unidades terminales de los grupos sanguíneos tipo A y B respectivamente. (González y Col., 2002)

La superficie externa de la larva de *T. canis* está cubierta de glicocálix rico en carbohidratos llamada cubierta de superficie, una envoltura vellosa de 10nm de espesor y separada por una distancia similar de la epicutícula. La cubierta de superficie parece que juega un rol primario en la inmunoevasión, la cual se desprende cuando el parásito se une a los granulocitos o anticuerpos. La capa superficial es una característica común de los organismos nematodos, tanto los parásitos como los de vida libre, y esto

directamente significa que la evasión inmune puede ser una adaptación simple hacia el parásito. Esta superficie externa implica fuertes cargas negativas, uniéndose a colorantes catiónicos tales como rojo de rutenio y ferritina cationizada. (Maizels, 2005)

La L-2 de *T. canis* excreta una mezcla compleja de glicoproteínas llamadas antígenos excretos – secretos (TES) los cuales facilitan su migración e inhiben los efectos nocivos de la respuesta inmune del hospedador. Los TES activan la vía alterna del complemento y pueden también ligarse la proteína C-reactiva activando la vía clásica del complemento. Los TES también tienen algunas actividades enzimáticas, funcionan como proteasas y también tienen actividades de acetilcolinesterasa. La respuesta inflamatoria hacia los TES se piensa que es el punto central en la patogénesis de la enfermedad. También se ha demostrado, en ratones con infestación ocular, que la inflamación está dirigida en contra de los TES más que por la larva misma. (González y Col., 2002)

4.7. CUADRO CLÍNICO

Los signos clínicos se presentan principalmente en cachorros y animales jóvenes. Las primeras manifestaciones en cachorros por la migración de *T. canis* en los pulmones son: tos con grandes descargas nasales, que llegan a ser mortales o bien que desaparecen espontáneamente después de tres semanas dependiendo de la cantidad de parásitos. En casos de infestación prenatal masiva hay gran cantidad de gusanos en intestino y estómago, alterando la digestión, y provocando problemas con vómito acompañado de gusanos; otras veces hay diarrea, con la consecuente deshidratación y el pelo de ciertas partes del cuerpo contiene heces diarreicas. La diarrea es del tipo mucoide, el abdomen está distendido y es doloroso. Algunas veces los cachorros sufren de neumonía por aspiración del vómito, siendo generalmente mortal. (Quiroz, 1988)

El cuadro crónico de cachorros, perros y gatos de mayor edad es de un progresivo cuadro de desnutrición a pesar de tener buena alimentación. Algunas veces se puede presentar diarrea intermitente. Otras pueden presentar manifestaciones nerviosas en perros y gatos consistentes en convulsiones de duración limitada. (Quiroz, 1988)

En hospederos paraténicos la larva puede causar los síndromes de LMV, LMO y toxocariosis encubierta, además de los signos como: tos, estornudos y manifestaciones respiratorias, convulsiones, dolor abdominal, anomalías digestivas, anorexia, náusea, fiebre intermitente, dolor de cabeza, desórdenes neurológicos, trastornos de sueño, epilepsia. La presentación ocular más frecuente se caracteriza por ceguera y dolor ocular. (Brown 1986; Goldsmith, 1995; López y Mejia 2003; Menhorn, 1988; Markell, 1999)

4.8. SÍNDROME DE LARVA MIGRANS VISCERAL (LMV)

Este síndrome implica la migración errática de larvas del nematodo en animales y humanos a través de los distintos órganos diferentes a la piel. El síndrome de LMV usualmente ocurre en niños (1-4 años de edad) que tiene pica, por lo que ingieren huevos embrionados de *T. canis* adquiriendo la infestación que se presenta como un síndrome clínico con una eosinofilia crónica, fiebre, tos y broncoespasmos, dolor abdominal.³¹

Los huevos ingeridos liberan las L-2 que atraviesan la pared intestinal y migran por diversos órganos (hígado, pulmón, cerebro, ojo, músculo, bazo, riñón, etc.) con migración errática. Los mecanismos patogénicos se basan en la destrucción de tejidos, la producción de hemorragias y la aparición de una respuesta inflamatoria que se hace crónica en los sitios de asentamiento o desplazamiento de las larvas. La reacción defensiva da lugar a la formación de granulomas eosinofílicos de tipo Loeffler en los que eventualmente las larvas mueren, aparentemente debido a fenómenos de hipersensibilidad, lo que supone que las reacciones inflamatorias son más espectaculares que las infestaciones con significativas características alérgicas. (Abo-Sehada, 1985; Tizard, 1986)

Los TES producidos por las larvas estimulan la producción de IgE sérica, además estas sustancias al ser presentadas a las células T, provocan la liberación de citosinas, las cuales junto con la IgE estimulan el aumento de los eosinófilos cuando montan la respuesta específica hacia el parásito. (López y Mejia, 2003)

Clínicamente, la gravedad de la enfermedad varía mucho según el número de huevos larvados ingeridos, la duración de la infestación y la presencia de larvas en lugares críticos. La

mayoría de las infestaciones humanas por *T. canis* cursan asintóticamente o con síntomas muy leves. El signo más notorio es la eosinofilia crónica, algunos estudios demuestran que las secreciones y excreciones de las larvas del parásito estimulan la producción de interleucina 5 (IL-5) que es la responsable de la eosinofilia. (Altchek, 2003; Coffman, 1989; Sugane, 1982)

4.9. SÍNDROME DE LARVA MIGRANS OCULAR

La toxocariasis ocular se define como la presencia y daño producido por larvas de *T. canis* en el ojo, este síndrome fue descrito en 1950, donde se reportan que eran L-2 de *Toxocara canis*. (Takayanagi, 1999)

La ruta de migración de la larva hacia el ojo es desconocida. Se piensa que ocurre en tres formas: 1) a través de las ramas de la arteria carótida interna hacia la arteria oftálmica, arteria central de la retina o de la arteria ciliar; 2) a través del cerebro hacia el nervio óptico; y 3) a través del cerebro por el fluido cerebroespinal hacia la coroides. (Takayanagi, 1999)

Los granulomas eosinofílicos son el hallazgo más frecuente en la toxocariasis ocular humana. No obstante, la etiología de estos granulomas es desconocida. (Takayanagi, 1999)

Una sola larva de *T. canis* puede causar ceguera unilateral, pero los signos bilaterales ocurren en el 3 % de los pacientes. Los síntomas presentes incluyen estrabismo, ojo enrojecido y visión dañada. Los granulomas están ausentes situados en la mácula o en segmento posterior y pueden incluir uveítis, papilitis, corioretinitis o endoftalmitis. (Kerr-Muir, 1994)



Figura 6. La imagen ilustra el asentamiento de la larva de *T. canis* en el ojo. (Martínez, 2005)

Las lesiones han sido descritas en la retina y en iris. Esto es a través de la ingestión de bajas dosis de huevos infestantes que no producen una respuesta inmune agresiva suficiente para destruir o encapsular las larvas invasoras, y por eso las larvas migran a través de los tejidos del cuerpo libremente. (Mustoe, 1999)

Estas larvas errantes pueden, eventualmente, terminar en los capilares de la retina. Si éstas son muy largas para los capilares de la retina, éstas horadarán la pared de los vasos creando lesiones y la pérdida de la visión, afectando por lo general a un solo ojo. (Abo-Shehada, 1985; Mustoe, 1999).

La toxocariasis ocular puede originar pruebas de ELISA negativas debido a la baja concentración de anticuerpos en esta presentación de la enfermedad. (Radman y Col., 2000)

4.10. LESIONES

La migración de larvas da lugar a lesiones hemorrágicas en hígado, pulmón, riñón, tejido muscular y cerebro; dependiendo del número serán más o menos evidentes. Los cachorros con infestación prenatal o antes de los tres meses, pueden mostrar sobre todo neumonía, con marcados focos inflamatorios en los pulmones con exudado. (Urquhart, 2001)

En el intestino se presentan zonas de engrosamiento de la capa muscular con exudado, algunas veces hay perforación intestinal y peritonitis, sobre todo en cachorros. El estado de desnutrición es evidente, con la presencia de un abdomen abultado, mucosas pálidas y gran cantidad de vermes en el intestino delgado. (Urquhart, 2001)

En los perros adultos las larvas enquistadas provocan una inflamación crónica en los tejidos, mostrando malestar crónico. La presencia en hígado de larvas ocasiona cierto grado de colangitis con éstasis biliar por obstrucción. (Urquhart, 2001)

La afección ocular incluye endoftalmitis granulomatosa, fibrosis de las bandas de tracción, retinitis, uveítis, deformaciones o desprendimiento de la retina, infiltración de células inflamatorias en el humor vítreo, panuveítis, lesiones hemorrágicas, neuroretinitis como

secuela de la migración de larvas en retina, que algunas veces puede confundirse con el retinoblastoma. (Brown, 1986; Melhorn, 1988; Urquhart, 2001)

4.11. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico en animales se basa principalmente en la identificación microscópica de los huevos en heces. Sólo los signos pulmonares que afectan a toda la camada entre una y dos semanas después del nacimiento pueden hacer 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. Así la infestación prenatal puede diagnosticarse por la historia clínica y los signos clínicos que muestran los cachorros, algunas veces se observan ascáridos en las heces que se han eliminado en forma espontánea. (Quiroz, 1988; Botero y Restrepo, 1992; Cordero y Col., 1999)

El diagnóstico clínico de la infección humana por *Toxocara canis* resulta dificultoso debido a que la sintomatología es inespecífica y similar a la de otras patologías, el parásito adulto no se encuentra en heces así como tampoco sus huevos y el hallazgo de las larvas en tejidos mediante biopsias de los granulomas es un hecho excepcional. Por lo tanto la demostración de anticuerpos específicos en suero es la única herramienta útil y confiable. (Bojanich, 2003)

Las fases larvianas en perros adultos y hospederos paraténicos se pueden demostrar mediante pruebas como:

A. Migración larvaria visceral.

- 1. Pruebas serológicas.** La prueba serológica más sensitiva y específica es la de ELISA (78%) y Western blot (92%) que usa los TES de *Toxocara* como antígeno y permite un diagnóstico presuntivo. (Goldsmith, 1995)

2. **Otras pruebas.** En las biometrías hemáticas se observa leucocitosis (de 30 000 a 100,000/ μ L), la cuenta de eosinófilos está muy elevada en forma sostenida (de 20 a 80%) hay hipergammaglobulinemia (IgG, IgE, e IgM) e isoaglutininas elevadas (título anti-A y anti-B por arriba de 1:1 024). Las radiografías de tórax muestran infiltrados o áreas de consolidación; los granulomas antiguos pueden calcificarse. El examen fecal no tiene valor para el diagnóstico de cualquier forma larvaria visceral. (Goldsmith, 1995)

B. Toxocariasis ocular.

El diagnóstico se basa en la apariencia clínica de la lesión y las pruebas serológicas positivas. Por lo general la toxocariasis ocular no se relaciona con eosinofilia periférica, hipergammaglobulinemia, o elevación de las isohemaglutininas. (Goldsmith, 1995)

4.12. PREVENCIÓN Y CONTROL

La prevención y control del parásito se hace simultáneamente con la desparasitación. La clave es la prevención vertical transmamaria y transplacentaria, si se hace un manejo adecuado de la perra antes, durante y después de la gestación, así como en los cachorros, refiriéndose a la desparasitación con la que se puede reducir o anular la contaminación de los suelos por los huevos del parásito y así tener perros sanos y sin riesgo para el ser humano. (Beaver, 1987; Tizard, 1986)

En países desarrollados, la prevención involucra reglas que obligan a los dueños de mascotas a desparasitar a sus animales e impedir el acceso de los cachorros a campos de recreo, donde los niños pueden estar en contacto con el excremento del animal. (González y Morales, 2002)

En países subdesarrollados, la situación es mucho más compleja, porque el principal problema es la falta de una estructura sanitaria básica, como agua corriente y un sistema de alcantarillado apropiado así como el control de la población canina. (González y Morales, 2002)

La base del control de la toxocariosis es el tratamiento de los perros infestados, en especial en cachorros y madres, con lo que se reduce la contaminación medioambiental con fases infestantes. El control del censo canino conlleva a la retirada de perros callejeros o vagabundos, junto con la educación sanitaria a la población humana sobre el riesgo de transmisión de larva migrans visceral que, en gran parte, es desconocido. (González y Morales, 2002)

En los niños pequeños debe evitarse el contacto con perros infestados, sobre todo con los cachorros, los cuales a menudo presentan infestación muy importante y son portadores de una gran cantidad de huevos de *T. canis* en el pelo. Los animales menores a seis meses serán desparasitados cada mes, los mayores cada dos meses con productos capaces de destruir larvas somáticas. El excremento de perros que se encuentre en las zonas de juegos de los niños debe ser enterrado. No hay ninguna sustancia química útil para exterminar los huevos en la tierra. (Brown, 1985)

4.13. TRATAMIENTO

En la actualidad las infestaciones parasitarias representan un problema mundial, por lo cual el papel de la farmacología es importante. Si embargo para el tratamiento de la toxocariosis se deberán de tomar en cuenta que se trata de atacar a las fases adultas y las larvas, también considerando el parasitismo en el perro joven, en el adulto y también en los hospederos paraténicos como el humano:

- 1) Los fármacos deben alcanzar al parásito donde se encuentre, en la porción intestinal correspondiente. (Litter, 1986)
- 2) Debe penetrar en el organismo del helminto y ejercer en forma eficaz su acción deletérea sobre el mismo. (Litter, 1986)
- 3) El fármaco, administrado por vía oral, no ha de irritar el tracto digestivo del paciente. (Litter, 1986)
- 4) Absorbido el fármaco, ha de tener poca toxicidad, y como en todos los fármacos quimioterapéuticos, su índice quimioterapéutico debe ser alto, es decir muy tóxico para el parásito y muy poco para el hospedero. (Litter, 1986)

- 5) Debe ser económico, ya que dada la frecuencia de las helmintiasis, muchas veces deben efectuarse tratamientos en masa sobre sectores pobres de la población.
- 6) El fármaco debe ser fácil de ingerir y agradable, ya que muchas veces los pacientes parasitados son niños. (Litter, 1986)

Desde luego no se ha llegado al fármaco antihelmíntico ideal y las investigaciones prosiguen hacia ese fin. (Litter, 1986)

La industria farmacéutica ha puesto en circulación un número reducido de fármacos antiparasitarios entre los que se encuentran:

- 1) Compuestos fenotiazínicos como la piperazina y su derivado dietilcarbamacina.
- 2) Compuestos imidazotiazólicos (Levamisol y Tetramisol)
- 3) Tetrahidropiridinas (Morantel, Pirantel y Oxantel)
- 4) Lactonas macrocíclicas (Avermectinas, Ivermectina, Doramectina, Abamectina, Moxidectina, Milbemicinas y Oximas)
- 5) Compuestos bencimidazólicos (Albendazol, Febendazol, Tiabendazol, Oxibendazol, Oxfendazol) (Botana, 1998)

4.13.1. Compuestos fenotiazínicos:

Piperazina

Descubierta alrededor del año 1900, la piperazina (dietildiamina) ha sido reconocida sólo desde 1954 como la molécula antihelmíntica por excelencia, siendo aún utilizada en varios países del mundo por su bajo costo. Esta molécula, de estructura simple (figura 7) y peso molecular 86.14 es una base fuerte soluble en agua, glicerol y glicoles, menos soluble en alcohol y totalmente insoluble en éter. (Botana, 1998)

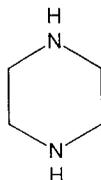


Figura 7. Estructura química de la piperazina. (Botana, 1998)

Mecanismo de acción

La molécula ejerce su acción antihelmíntica por un efecto antagonista sobre ciertos receptores colinérgicos del parásito (placa neuromuscular), provocando de esta manera la muerte del parásito mediante parálisis flácida, esta parálisis se debe a que la piperazina ejerce una acción antagonista selectiva sobre los receptores del neurotransmisor inhibitor GABA, que produce la apertura de los canales de Cl^- e hiperpolariza la membrana de las células musculares de los parásitos. (Botana, 1998)

Las sales de piperazina son bien toleradas por cachorros, lo que facilita el tratamiento de infestaciones congénitas, su aplicación a dosis de 110-200mg/Kg por 3 a 5 días, tienen buena eficacia frente a adultos intestinales, pero menor frente a los estadios inmaduros. (Cordero del Campillo y Col., 1999)

Dietilcarbamazina

La dietilcarbamazina es un derivado sintético de la piperazina. Se comercializa como sal de citrato, que contiene 51 % de la base activa y se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal, después de una dosis de 0.5mg/Kg, las concentraciones máximas del plasma de 100 a 150ng/mL son logradas en 1 a 2 horas. La vida media plasmática es de 2 a 3 horas en presencia de orina ácida, pero de aproximadamente 10 horas si ésta es alcalina. El fármaco se equilibra de manera rápida con todos los tejidos, excepto con el adiposo. Se excreta principalmente en la orina, ya sea con el fármaco sin cambios o como el metabolito N-óxido. (Katzung, 2001)

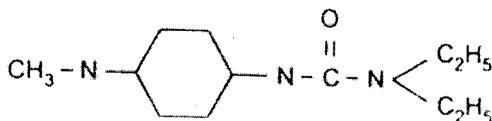


Figura 8. Estructura química de la dietilcarbamazina (Katzung, 2001)

Acciones antihelmínticas y efectos farmacológicos.

La dietilcarbamazina inmoviliza las microfiliarias así como a las larvas de *Toxocara* (lo cual impide el desplazamiento en los tejidos) y altera su estructura de superficie, lo que las vuelve más susceptibles a la destrucción por los mecanismos de defensa del hospedero. Se desconoce el modo de acción del fármaco contra los parásitos adultos. (Katzung, 2001)

La dietilcarbamazina ha demostrado *in vivo* e *in vitro* acciones inmunosupresoras cuyo mecanismo aún no se comprende. Sin embargo se sugiere que el compuesto en cuestión deteriora los procesos intracelulares y el transporte de algunas macromoléculas a la membrana plasmática. No se han demostrado efectos teratogénicos en animales experimentales tratados con este principio. (Katzung, 2001; Goodman y Gilman, 2003)

4.13.2. Compuestos imidazotiazólicos (Levamisol y Tetramisol)

Levamisol

El clorhidrato de levamisol es un derivado sintético del imidazotiazol y el isómero L de D, L-tetramisol (figura 9). Es sumamente eficaz para erradicar *Ascaris* y *Trichostrongylus*. La dosis en ascariasis es de 150mg una vez después de los alimentos y se puede repetir una vez a los 3 a 7 días por vía oral. (Katzung, 2001)

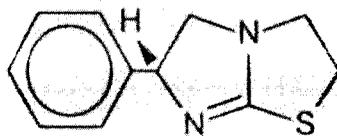


Figura 9. Estructura química del levamisol (L-tetramisol) (Sumano, 2000)

Mecanismo de acción

El levamisol produce la parálisis del parásito debido a una concentración muscular permanente (parálisis espástica). No mata al parásito, y este es expulsado vivo. Este efecto paralizante lo logra por tener acción colinérgica en los ganglios del organismo susceptible. Su acción es agonista nicotínica (esta acción es inhibida por los bloqueantes ganglionares como el hexametonio). Se cree también que tiene una débil acción inhibitoria de la acetilcolinesterasa que reforzará su acción. (Sumano, 2000)

Usos y dosis

El levamisol se distingue por su eficacia contra gusanos pulmonares y contra la mayoría de los helmintos gastrointestinales, en particular en formas adultas. No actúa contra cestodos ni trematodos. (Sumano, 2000)

Las dosis orales más utilizadas son las siguientes:

Perros adultos: 8 a 10 mg / Kg de peso.

Cachorros: 1.5 a 2.5 mg / Kg de peso

4.13.3. Tetrahidropiridinas (Morantel, Pirantel y Oxantel)

El primer componente de este grupo que se utilizó como antiparasitario de amplio espectro fue el pirantel (PRT) en 1966, luego se desarrollaron el morantel (MRT) y, por último, el análogo *m*-oxifenil denominado oxantel (figura 10). (Sumano, 2000)

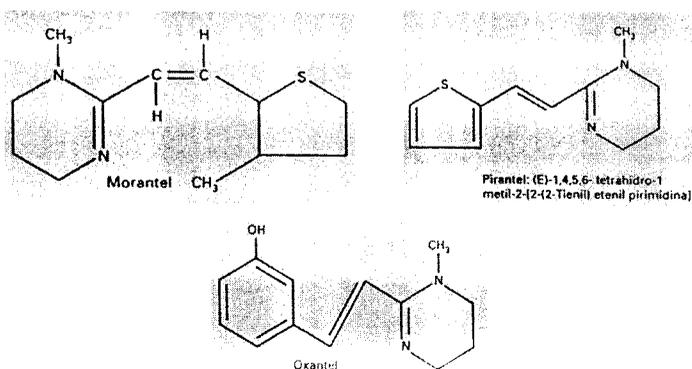


Figura 10. Fórmulas estructurales de las tetrahidropiridinas más utilizadas: morantel, pirantel y oxantel. (Sumano, 2000)

Mecanismo de acción.

Los compuestos de este grupo ejercen su acción antiparasitaria exclusivamente sobre nematodos gastrointestinales adultos mediante un efecto colinérgico, despolarizando la placa neuromuscular del parásito y produciendo una parálisis espástica. (Sumano, 2000)

A pesar de tener el mismo mecanismo de acción, los componentes de este grupo difieren en cuanto a potencia y velocidad de acción. Así, el MRT es 100 veces más potente que el PRT, pero su acción máxima tarda más tiempo en aparecer. Otro mecanismo por el cual podría ejercer su efecto antiparasitario es a través de la inhibición de enzimas. El PRT inhibe la acetilcolinesterasa y el MRT, la fumarato reductasa. (Sumano, 2000; Katzung, 2001)

El pirantel se usa en dosis de 5 a 10 mg/kg (Sumano, 2000)

4.13.4. Lactonas macrocíclicas (Avermectina, Ivermectina, Doramectina, Abamectina, Moxidectina y Milbemicinas)

Este grupo de medicamentos fue utilizado en 1980 por Chavala y Cols. a partir de un fermentado de *Streptomyces avermitilis*, del cual se obtiene un anillo de lactona macrocíclico (figura 11), que muestra efectos antibióticos, antinematódicos y además, una marcada toxicidad contra artópodos. (Sumano, 2000)

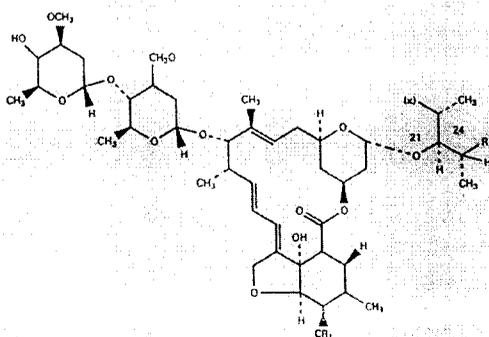


Figura 11. Fórmula básica del anillo lactona macrocíclico de las ivermectinas. (Sumano, 2000)

La introducción de las primeras avermectinas revolucionó el mercado farmacéutico veterinario, principalmente por la elevada potencia farmacológica de estos compuestos dosificados en el orden de mcg/Kg de peso y por su amplio espectro de actividad sobre parásitos internos y externos. La ivermectina fue introducida como fármaco antiparasitario en 1981, complementando su composición por un proceso de semisíntesis orgánica. En años subsiguientes se incorporaron nuevos compuestos pertenecientes a este grupo de fármacos, como también la familia de las milbemicinas. Los compuestos de ambas familias poseen actividad sobre endoparásitos y ectoparásitos, recibiendo la denominación de fármacos endectocidas, lo cual define la combinación de sus efectos nematodocidas, insecticidas y acaricidas. (Sumano, 2000; Botana, 1998)

Se ha reportado que la efectividad de la ivermectina, moxidectina y la milbecina contra *Toxocara* son superiores al 90 % contra adultos y larvas. (Sumano, 2000)

Mecanismo de acción.

La forma en que actúa este grupo es similar, provocando un incremento de la entrada de iones cargados negativamente, sobre todo Cl^- , que producen hiperpolarización y parálisis muscular; la facilitación de la entrada de Cl^- es a través de canales independientes del receptor GABA. (Flores, 2000)

Dosis

La dosis de ivermectina es de 200 mcg/Kg subcutánea u oral, la doramectina de 200 mcg/Kg subcutánea u oral, la abamectina 200mcg/Kg subcutánea y oral y la Moxidectina 200 a 300 mcg/Kg subcutánea u oral. (Botana, 1998)

Los antiparasitarios son menos eficaces sobre larvas somáticas hipobióticas que frente a otros estadios de desarrollo. Se ha comprobado que la administración simultánea a la madre de 500 mcg/Kg de peso de ivermectina los días 38, 41, 44 y 47 de gestación tuvo una eficacia del 98 % de eliminación. la aplicación de 1 mg/Kg el día 29 de preñez, seguido de dosis de 500 mg/Kg de peso los días 42, 47 y 53 redujo en un 99 % la carga parasitaria de la camada. No obstante, la eliminación de las larvas somáticas exige tratamientos prolongados y costosos. (Birchard, 1996)

4.13.5. Compuestos benzimidazólicos (Albendazol, Febendazol, Tiabendazol, Oxibendazol, Oxfendazol)

El uso potencial de estos compuestos, como quimioterapéuticos en enfermedades parasitarias, se estableció en 1950 a partir del descubrimiento de la molécula α -D-ribofuranacil que es parte integral de la vitamina B₁₂ (Figura 12). El nombre genérico de estos compuestos es el de benzimidazoles, los cuales son compuestos que muestran intensa y variada actividad farmacológica. Pueden actuar como antifúngicos, antihelmínticos, antineoplásicos, cardiotónicos, analgésicos, etc. (Sumano, 2000)

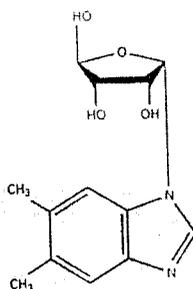


Figura 12. Molécula α -D-ribofuranacil, que es parte integral de la vitamina B₁₂ y que dan origen al anillo básico de los benzimidazoles. (Sumano, 2000)

El descubrimiento del tiabendazol, en 1961, marcó el inicio del desarrollo comercial de otros benzimidazoles (BZD) y propició la síntesis de nuevos compuestos. Los BZD con mayor actividad antihelmíntica son denominados BZD-carbamatos. Su actividad está íntimamente relacionada con la presencia del grupo nitro en el anillo BZD (figura 13). (Sumano, 2000)

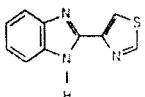
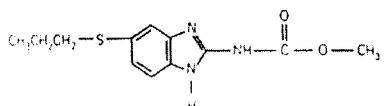
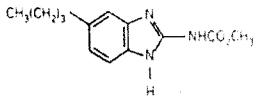
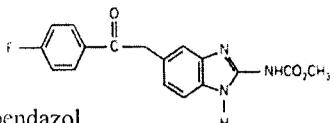
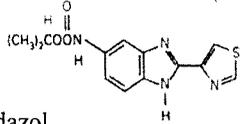
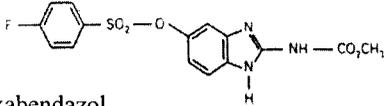
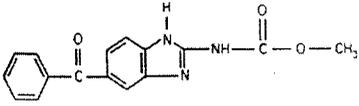
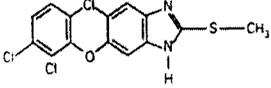
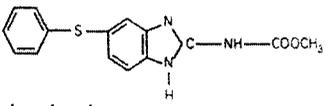
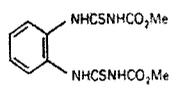
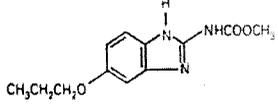
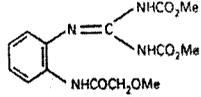
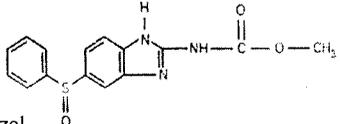
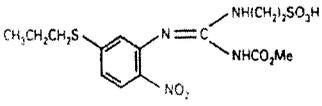
| | |
|---|--|
|  <p>Tiabendazol</p> |  <p>Albendazol</p> |
|  <p>Parbendazol</p> |  <p>Flubendazol</p> |
|  <p>Cambendazol</p> |  <p>Luxabendazol</p> |
|  <p>Mebendazol</p> |  <p>Triclabendazol</p> |
|  <p>Fenbendazol</p> |  <p>Tiofano</p> |
|  <p>Oxibendazol</p> |  <p>Febantel</p> |
|  <p>Oxfendazol</p> |  <p>Netobimina</p> |

Figura 13. Fórmulas estructurales de los benzimidazoles más habituales. (Sumano, 2000)

En general, los BZD y los BZD-carbamatos son sustancias cristalinas poco solubles en agua. Estos compuestos se encuentran en polvo, pero al parecer tienen mayor estabilidad en solución acuosa. (Sumano, 2000)

Los BZD son antiparasitarios de gran espectro con un buen margen de seguridad y baratos. Se caracterizan por su efecto específico contra nematodos, sobre todo los gastrointestinales, pero algunos de ellos pueden abarcar en su espectro efectos cestodocidas, trematodocidas, larvicidas y ovidas. (Sumano 2000)

El mecanismo de acción es más o menos común para los BZD, y varía por la afinidad que éstos manifiesten a su sitio de acción. Por lo general, a nivel de los componentes del citoesqueleto de los parásitos, y en especial con la tubulina, que a su vez se integra en las subunidades de los microtúbulos. La tubulina se encuentra en equilibrio dinámico con los microtúbulos. Los fármacos evitan la polimerización del microtúbulo esquematizado en la figura 14. Se ha demostrado que estos fármacos tienen poca afinidad para la tubulina de los mamíferos, y alta para la tubulina de los parásitos. (Sumano 2000)

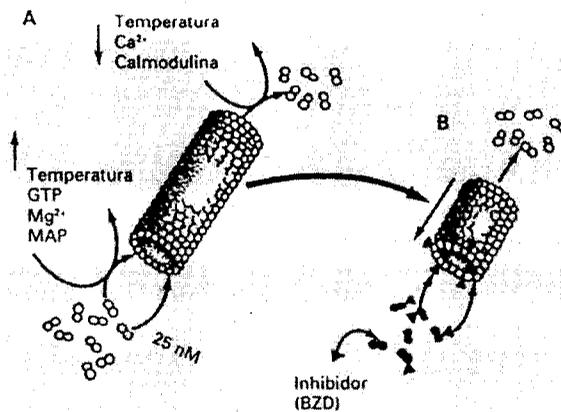


Figura 14. Síntesis normal de la tubulina. A. Se alarga para producir los microtúbulos. B. Se anexa un inhibidor (BZD) que evita la polimerización que da como resultado, el alargamiento de los microtúbulos. GTP = transaminasa glutámico pirúvica; MAP = proteínas formadoras de tubulina. (Botana, 1998)

En todos los organismos eucariontes, la unidad estructural de los microtúbulos, es un dímero formado por subunidades de tubulina α y β . Los microtúbulos además de formar parte de la estructura del citoesqueleto, participa en diversas funciones celulares, particularmente en

la división celular, transporte de nutrientes y la excreción de desechos metabólicos. (Botana, 1998)

La acción larvicida y ovicida de estos compuestos se basa en el mismo efecto de la unión a la tubulina, siendo su capacidad de penetración al huevo lo que marca la diferencia entre BZD. También se han informado efectos inhibitorios de algunos BZD sobre enzimas, principalmente la fumarato reductasa que causa un efecto sumatorio a la acción en la tubulina, lo que ocasiona mayor poder antiparasitario del fármaco. A este efecto se le suma el bloqueo del paso de glucosa desde el intestino del parásito a su sistema, acentuando el déficit energético en él. (Sumano, 2000)

En el caso del albendazol presenta una acción antihelmíntica mediante su metabolito, sulfóxido de albendazol, en albendazol (ABZ) es biotransformado en sus respectivos sulfóxidos y sulfonas por oxidación microsomal. En la oxidación secuencial del ABZ intervienen dos sistemas enzimáticos microsomales diferentes, la flavinoaminoxigenasa (FMO) y el citocromo P-450. La forma sulfona del ABZ (ABZSO₂) es un metabolito inactivo (véase figura 16). Al contener un átomo de azufre asimétrico, el ABZSO se presenta en dos conformaciones especiales diferentes, denominadas enantiómeros (+) y (-). (Botana, 1998)

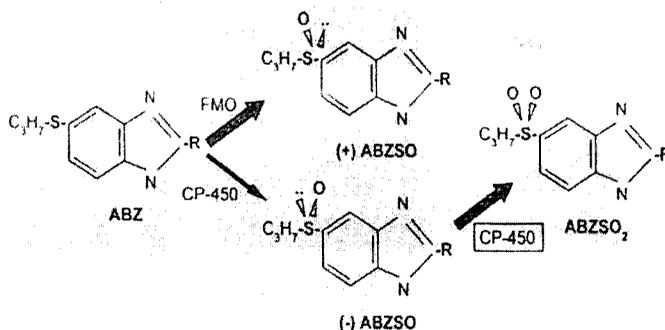


Figura 15. Patrón de biotransformación hepática y gastrointestinal del ABZ, incluyendo el metabolismo quiral de su metabolito sulfóxido [(+) y (-) ABZSO]. El perfil esquematizado es similar al que presenta el fenbendazol y el oxfendazol. (Botana, 1998)

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

Dosis

En perros las dosis mas utilizadas son:

Fenbendazol y oxfendazol 5 a 10 mg/Kg

Oxibendazol 15 a 20 mg/Kg

Mebendazol 10 mg/Kg

Albendazol 15 a 50 mg/Kg

Humanos: dosis única 400mg/Kg

5. METODOLOGIA

MATERIAL BIOLÓGICO:

1.- Se utilizaron 60 ratones blancos hembras de la cepa CD-1 de aproximadamente cuatro meses de edad, divididos en 6 grupos de 10 animales que se alojaron en cajas de policarbonato, alimentándose con nutricubos especiales para roedores y agua *ad libitum* en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (Campo 4)

Los animales se mantuvieron a una temperatura ambiente de 25 °C, en cajas de policarbonato con cama de aserrín, la cual se cambió cada tercer día, lavándolas para evitar contaminaciones indeseadas.

2.- Huevos larvados de *Toxocara canis*, se obtuvieron de hembras adultas de *Toxocara canis* provenientes de cadáveres de cachorros con infestación natural de entre uno y tres meses de edad procedentes de los Centros de control canino de Cuautitlán Izcalli y Cuautitlán México; a dichos cachorros se le realizó necropsia, extrayendo el tracto digestivo incidiendo longitudinalmente para buscar los gusanos adultos, una vez que se obtuvieron, se lavaron con agua corriente y se seleccionaron las hembras más adecuadas. Los gusanos seleccionados se disectaron cortando en la porción media del cuerpo para liberar los úteros grávidos y permitir la salida de los huevos fecundados, los cuales fueron depositados en Solución Salina Formolada al 2.5 %, manteniéndolos en cajas Petri a temperatura ambiente por un lapso de dos a tres semanas con el objeto de esperar el desarrollo del segundo estadio larvario, el cual fue utilizado para inocular los animales experimentales.

Determinación de viabilidad de larvas:

1.- La viabilidad se estableció por observación al microscopio de los huevos, para evaluar la movilidad de los organismos larvarios en el interior del huevo, realizando

conteos para diferenciar formas en las que sí hubo desarrollo de las fases de las que no lo hubo, repitiendo esto por cinco ocasiones para determinar el promedio de viabilidad.

2.- Inoculación. Los animales fueron inoculados con 1100 huevos larvados en promedio, utilizando una sonda gástrica para alimentación de lactantes en un volumen de 0.1ml.

Los animales inoculados permanecieron un mes bajo observación, terminando este primer lapso, se administró la única dosis del principio activo a probar, el cual se administró por vía oral.

MATERIAL FARMACOLÓGICO:

Albendazol puro en forma de polvo (ITALMEX, S.A. No. de Lote 990423) fue suspendido en solución acuosa de acuerdo a los cálculos necesarios para llegar a las dosis de administración de 5, 50, 100 y 400 mg/kg de peso, el cual fue administrado por vía oral en un volumen de administración de 0.2ml.

Método:

Una vez que se organizaron los lotes de animales, se procedió a la inoculación de los huevos larvados.

Se formaron 6 lotes de animales (10 animales por cada lote) que quedaron agrupados de la siguiente manera:

Un lote de animales control que no fue inoculado ni tratado.

Un segundo lote fue inoculado y no fue tratado.

Los cuatro lotes restantes fueron inoculados con las fases infestantes del parásito (L-2 pasiva) y tratados con el principio activo a probar en dosis de 5, 50, 100 y 400mg/Kg respectivamente, estas dosis fueron administradas un mes después de la inoculación de huevos larvados.

Un mes después de la administración del fármaco se procedió al sacrificio de los animales; tras el sacrificio, fueron disecados y se extrajeron los siguientes órganos: riñón,

hígado, corazón, pulmón, tejido cerebral y un gramo de tejido muscular en el cual el número de larvas encontradas se extrapoló al peso total del animal del tejido muscular.

Dichos órganos fueron sometidos a digestión artificial para liberar las larvas enquistadas y poder cuantificarlas en cada uno de los lotes.

Cada tejido se fragmentó y colocó dentro de una gasa, éste a su vez dentro de un tubo de ensaye previamente rotulado y finalmente se sometió a la acción de jugo gástrico artificial (conteniendo 6g de pepsina y 5ml de ácido clorhídrico por litro de solución) por un tiempo de 48 horas e incubados en una estufa bacteriológica a 37 ° C.

Una vez transcurrido el lapso se eliminó el sobrenadante y se le adicionaron cinco mililitros de formaldehído al 10% cuya finalidad fue la de fijar a las larvas, procediendo a cuantificar al microscopio las larvas que se encontraran en el sedimento de los tubos, para verificar la migración a partir de los tejidos analizados y evaluar la eficacia del producto antiparasitario.

6. RESULTADOS

Después del sacrificio de los ratones, 60 días post-inoculación y 30 post-tratamiento, los resultados que se obtuvieron de los diferentes grupos de animales se analizaron en forma minuciosa, observándose en la Tabla 1, que es el lote de ratones no inoculados y no tratados (lote control), no presentaron larvas en ningún órgano, con lo que se demuestra que los ratones estaban libres de nematodos.

En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos del lote inoculado y no tratado. Se observa en tejido muscular un promedio de 48.63 larvas y en cerebro un promedio de 35.1 larvas, donde se presenta un mayor número de larvas con respecto a los demás órganos que presentaron un número promedio relativamente pequeño.

En la tabla 3 que corresponde al lote inoculado y tratado con albendazol a una dosis de 5mg/kg de peso se observa que siguen elevados los promedios de larvas en cerebro con 32.9 y músculo con 34.58, notándose una ligera disminución con respecto a la tabla anterior, siendo esta dosis la más pequeña.

Se observa en las tablas 4, 5 y 6 que corresponden a los lotes tratados con albendazol a dosis de 50, 100 y 400 mg/Kg de peso respectivamente; una tendencia a la reducción en el número de larvas encontradas en los diferentes órganos, teniendo para la dosis de 50 mg/Kg un promedio de larvas en cerebro de 27.8 y en músculo de 29.42; para la dosis de 100 mg/Kg 25.3 en cerebro y 27.69 para músculo y por último el lote de la dosis de 400 mg/Kg donde en el cerebro se tienen un promedio de 23.4 larvas y en músculo de 26.75 larvas, siendo este último lote donde se tuvo mayor reducción en el número de larvas con respecto al lote inoculado y no tratado.

En lo que respecta a la tabla 7, donde se resumen los datos del número promedio de larvas encontradas en cada uno de los diferentes órganos analizados y dosis de albendazol con las que fueron tratados los ratones. Así mismo en la gráfica 1 se presentan los datos de la tabla 7, donde se puede apreciar mejor la disminución gradual de la cantidad de larvas en los diferentes órganos siendo más representativo en el músculo y el cerebro.

La tabla 8 muestra el porcentaje de eficacia del albendazol a las diferentes dosis utilizadas contra larvas enquistadas de *T. canis*. Donde la menor eficacia fue la de 19.32 % a una dosis de 5mg/Kg, de forma análoga a la dosis mas alta se tuvo una mayor eficacia con el 41.91%.

En la tabla 9 muestra el porcentaje de eficacia del albendazol a las diferentes dosis contra larvas enquistadas de *T. canis* en los órganos de cerebro y músculo, que es donde hubo un mayor asentamiento de éstas observando que en el músculo es donde se tiene un mayor porcentaje de remoción de larvas por parte del fármaco (44.99 % a dosis de 400 mg/Kg); en lo que corresponde al cerebro se tiene que la mayor eficiencia fue del 33.33% a la misma dosis.

Se realizó un análisis estadístico con la técnica de ANOVA multifactorial (Anexo I) para comparar los resultados en cuanto al nivel de reducción de larvas entre los diferentes grupos de tratamientos, el resultado ($F_c = 7.71$, $F_t = 2.37$) muestra que el albendazol si tiene efecto sobre el número de larvas de *Toxocara canis* en los diferentes órganos analizados; así mismo la prueba de Tukey utilizada para comparar las diferencias mínimas significativas entre las dosis utilizadas, indicó que las dosis utilizadas son estadísticamente iguales ya que no muestran diferencias significativas entre dosis, pero que tienen efecto sobre las L-2.

Tabla 1.

Número de larvas de *T. canis* encontradas en el lote control.

| No. Ratón | Órgano | | | | | |
|--------------|---------|---------|--------|--------|-------|------------------------|
| | Cerebro | Corazón | Hígado | Pulmón | Riñón | Músculo esquelético |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Media | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tabla 2.

Número de larvas de *T. canis* encontradas en el lote de animales inoculados y no tratados.

| No. Ratón | Órgano | | | | | |
|-----------|---------|---------|--------|--------|-------|---------------------|
| | Cerebro | Corazón | Hígado | Pulmón | Riñón | Músculo esquelético |
| 1 | 49 | 1 | 6 | 2 | 1 | 54.4 |
| 2 | 36 | 1 | 3 | 2 | 2 | 71.5 |
| 3 | 29 | 1 | 5 | 1 | 0 | 64.6 |
| 4 | 36 | 2 | 2 | 2 | 1 | 40.5 |
| 5 | 32 | 1 | 5 | 2 | 1 | 76.5 |
| 6 | 29 | 1 | 6 | 0 | 0 | 21.2 |
| 7 | 42 | 1 | 4 | 3 | 1 | 4.2 |
| 8 | 38 | 1 | 2 | 1 | 1 | 68.5 |
| 9 | 29 | 2 | 4 | 2 | 1 | 55.5 |
| 10 | 31 | 1 | 4 | 1 | 0 | 29.4 |
| Media | 35.1 | 1.2 | 4.1 | 1.6 | 0.8 | 48.63 |

En esta tabla se puede observar la presencia de larvas en todos los órganos analizados acentuándose en mayor medida en cerebro y músculo.

Tabla 3.

Número de larvas de *T. canis* encontradas en el lote de ratones tratados con una dosis de 5mg/Kg de albendazol.

| No. Ratón | Órgano | | | | | |
|-----------|---------|---------|--------|--------|-------|---------------------|
| | Cerebro | Corazón | Hígado | Pulmón | Riñón | Músculo esquelético |
| 1 | 18 | 1 | 6 | 1 | 0 | 27.8 |
| 2 | 30 | 0 | 0 | 3 | 0 | 35 |
| 3 | 35 | 2 | 4 | 1 | 0 | 36 |
| 4 | 42 | 0 | 5 | 1 | 0 | 44 |
| 5 | 32 | 1 | 7 | 1 | 2 | 24 |
| 6 | 28 | 1 | 6 | 2 | 1 | 41.1 |
| 7 | 29 | 2 | 2 | 0 | 0 | 31.6 |
| 8 | 44 | 1 | 0 | 1 | 1 | 38.8 |
| 9 | 33 | 1 | 2 | 0 | 2 | 19.5 |
| 10 | 38 | 0 | 3 | 2 | 0 | 48 |
| Media | 32.9 | 0.9 | 3.5 | 1.2 | 0.6 | 34.58 |

Nótese en esta tabla que la presencia de larvas sigue observándose en todos los órganos, mostrando una ligera disminución en los promedios del número de larvas con respecto al lote de animales inoculados y no tratados.

Tabla 4.

Número de larvas de *T. canis* encontradas en el lote de ratones tratados con una dosis de 50mg/Kg de albendazol

| No. Ratón | Órgano | | | | | |
|-----------|---------|---------|--------|--------|-------|---------------------|
| | Cerebro | Corazón | Hígado | Pulmón | Riñón | Músculo esquelético |
| 1 | 19 | 0 | 2 | 1 | 2 | 48 |
| 2 | 28 | 0 | 1 | 1 | 1 | 24.4 |
| 3 | 19 | 0 | 3 | 0 | 0 | 15 |
| 4 | 54 | 0 | 2 | 1 | 1 | 24 |
| 5 | 23 | 1 | 0 | 2 | 0 | 26 |
| 6 | 34 | 1 | 2 | 1 | 0 | 30 |
| 7 | 22 | 1 | 1 | 0 | 0 | 18.9 |
| 8 | 21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 23.4 |
| 9 | 42 | 2 | 2 | 0 | 1 | 38.1 |
| 10 | 16 | 0 | 3 | 2 | 0 | 46.4 |
| Media | 27.8 | 0.5 | 1.6 | 0.8 | 0.5 | 29.42 |

La presente tabla refleja el efecto que esta teniendo el albendazol sobre el número de larvas en las diferentes vísceras, notándose que en corazón y riñón es donde se tienen los menores promedios de la cantidad de larvas

Tabla 5.

Número de larvas de *T. canis* encontradas en el lote de ratones tratados con una dosis de 100mg/Kg de albendazol.

| No. Ratón | Órgano | | | | | |
|-----------|---------|---------|--------|--------|-------|---------------------|
| | Cerebro | Corazón | Hígado | Pulmón | Riñón | Músculo esquelético |
| 1 | 22 | 0 | 0 | 2 | 0 | 24.8 |
| 2 | 18 | 0 | 3 | 0 | 1 | 11.7 |
| 3 | 26 | 1 | 1 | 1 | 1 | 41.2 |
| 4 | 19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 28.2 |
| 5 | 25 | 1 | 3 | 1 | 1 | 6.4 |
| 6 | 15 | 0 | 2 | 1 | 1 | 42.6 |
| 7 | 40 | 0 | 0 | 1 | 0 | 19.2 |
| 8 | 36 | 1 | 0 | 0 | 1 | 9.8 |
| 9 | 19 | 1 | 3 | 0 | 0 | 38.2 |
| 10 | 33 | 0 | 2 | 1 | 0 | 54.8 |
| Media | 25.3 | 0.4 | 1.4 | 0.7 | 0.5 | 27.69 |

Esta tabla al igual que en las anteriores se observan larvas de *T. canis* en todas las vísceras analizadas tendiendo mayor afinidad hacia cerebro y músculo

Tabla 6.

Número de larvas de *T. canis* encontradas en el lote de ratones tratados con una dosis de 400mg/Kg de albendazol

| No. Ratón | Órgano | | | | | |
|--------------|---------|---------|--------|--------|-------|------------------------|
| | Cerebro | Corazón | Hígado | Pulmón | Riñón | Músculo esquelético |
| 1 | 19 | 0 | 3 | 2 | 0 | 27.4 |
| 2 | 21 | 0 | 2 | 0 | 0 | 47.1 |
| 3 | 23 | 1 | 2 | 1 | 1 | 10.4 |
| 4 | 36 | 0 | 1 | 0 | 0 | 19.2 |
| 5 | 19 | 0 | 2 | 1 | 1 | 48 |
| 6 | 21 | 1 | 3 | 1 | 1 | 21 |
| 7 | 18 | 0 | 0 | 1 | 0 | 13.6 |
| 8 | 16 | 1 | 0 | 0 | 1 | 20.6 |
| 9 | 28 | 1 | 0 | 0 | 0 | 37.2 |
| 10 | 33 | 0 | 1 | 1 | 0 | 23 |
| Media | 23.4 | 0.4 | 1.4 | 0.7 | 0.4 | 26.75 |

La presente tabla muestra los resultados de la mayor dosis utilizada, la cual presentó la mejor eficacia en contra de larvas de *T. canis* por parte del principio activo utilizado, observándose que en corazón y riñón es donde casi desaparecieron las larvas y para el caso de cerebro y músculo es donde se tienen mayores porcentajes de remoción de larvas por parte del albendazol.

Tabla 7.

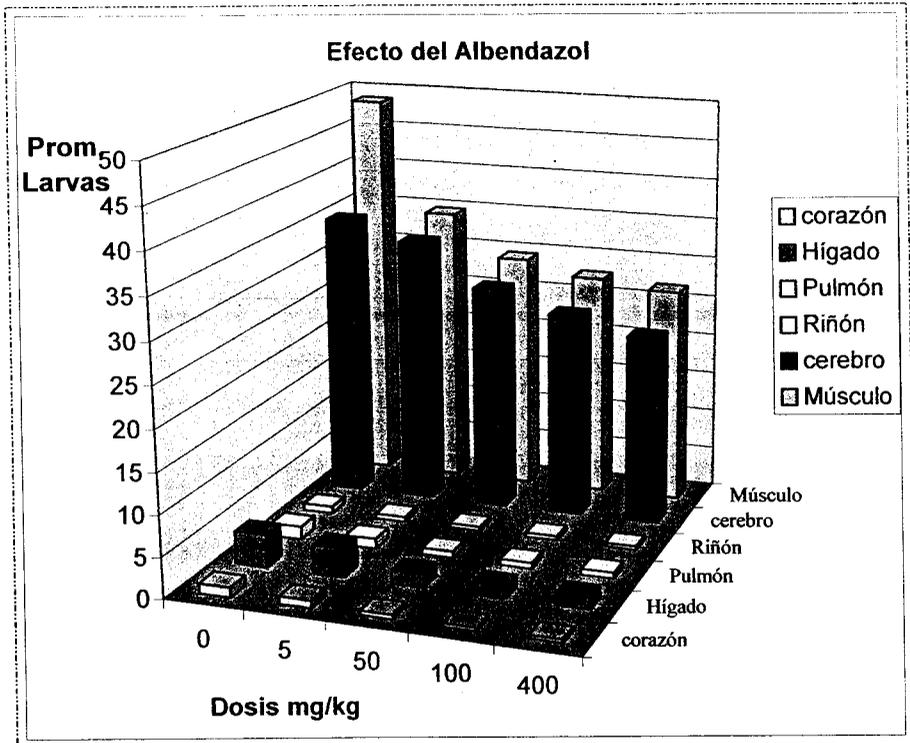
Tabla comparativa de los promedios de larvas de *T. canis* encontradas en los diferentes lotes, órganos y a las diferentes dosis de albendazol utilizadas.

| Dosis mg /Kg | Corazón | Hígado | Pulmón | Riñón | cerebro | Músculo |
|-----------------|---------|--------|--------|-------|---------|---------|
| Control | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0 | 1.2 | 4 | 1.6 | 0.8 | 35.1 | 48.63 |
| 5 | 0.9 | 3.5 | 1.2 | 0.6 | 32.9 | 34.58 |
| 50 | 0.5 | 1.6 | 0.8 | 0.5 | 27.8 | 29.42 |
| 100 | 0.4 | 1.4 | 0.7 | 0.5 | 25.3 | 27.69 |
| 400 | 0.4 | 1.4 | 0.7 | 0.4 | 23.4 | 26.75 |

(Jaramillo 2005)

GRAFICA 1.

Efectividad del albendazol contra el número de larvas de *Toxocara canis* en los diferentes órganos y dosis.



(Jaramillo 2005)

TABLA 8.

Porcentaje de eficacia del albendazol a diferentes dosis contra larvas enquistadas de
T. canis

| Dosis mg /Kg | % Eficacia Total |
|-----------------|------------------------|
| | 5 |
| 50 | 33.62 |
| 100 | 38.69 |
| 400 | 41.91 |

TABLA 9.

Porcentaje de eficacia del albendazol a diferentes dosis contra larvas enquistadas de
T. canis en cerebro y músculo

| Dosis mg /Kg | % Eficacia Cerebro | % Eficacia Músculo |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|
| | 5 | 6.26 |
| 50 | 20.79 | 39.50 |
| 100 | 27.92 | 43.05 |
| 400 | 33.33 | 44.99 |

7. DISCUSIÓN

En los últimos años han sido utilizados diferentes antihelmínticos para eliminar estadios larvarios de *T. canis*; entre los que se destacan por su efectividad el grupo de las lactonas macrocíclicas donde la ivermectina resalta por su amplio espectro en los múltiples estudios realizados. (González y Morales, 2002) Este grupo de principios activos surge en la década de los ochentas con la ivermectina y en años recientes aumenta su importancia por una elevada eficacia en contra de nemátodos y artrópodos, que se va extendiendo a todas las especies alcanzando ya a los seres humanos. (Sumano, 2000)

Este grupo de compuestos presentan ventajas por encima de muchos de los grupos antihelmínticos existentes, por ejemplo, con relación a su acceso a casi todas las áreas del cuerpo permitiendo la eliminación de los estadios larvarios y adultos de muchos nemátodos lo cual queda demostrado en los diferentes estudios realizados. (González y Morales, 2002)

De igual manera resaltan el grupo de los compuestos imidazotiazólicos donde el levamisol ha demostrado eficacia en contra de la L-2. Por otro lado el grupo de los compuestos bencimidazólicos, los cuales están ampliamente difundidos en varias partes del mundo debido a su amplio espectro y economía, donde destaca el albendazol que es altamente eficaz contra infestaciones por este nematodo. (Sumano, 2000; Katzung, 2001))

De esta manera existen antecedentes sobre la efectividad de la asociación albendazol y otros antiparasitarios como la ivermectina para eliminar L-2 de *T. canis* en los ratones con resultados diferentes, entre los que destacan el de Abo-Shehada y Herbert (1984) quienes reportaron una reducción del número de larvas aplicando ivermectina (con dosis de 200 µg/Kg vía oral o subcutánea), así como levamisol (100mg/Kg y 150 mg/Kg subcutáneo), fenbendazol (100 mg/ Kg oral) y Albendazol (100 mg/ Kg oral). Al día 35 de inoculados reportan 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 hubo una reducción del 80 % tanto para la forma oral como para la subcutánea. 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.

Samanta y Ansari en 1990 compararon diversos antihelmínticos en ratones blancos, como la ivermectina en dosis de 200 µg/Kg subcutáneamente, albendazol y fenbendazol en dosis de 100 mg/Kg y tiabendazol en dosis de 150 mg/Kg siendo estos últimos administrados vía oral; dichos fármacos fueron suministrados a las 24 horas después de la infestación con L-2 de *T. canis* y diariamente por 7 días posteriores, sacrificando a los animales a los 10, 20 y 30 días postinfestación. Encontrando que el albendazol produce una reducción promedio de 51.4 %, con el fenbendazol del 36.6 %, con tiabendazol del 22.5 % y con la ivermectina del 54.4 %. En tanto el efecto de disminución sobre larvas presentes en cerebro fue del 89 % para el albendazol, 92 % para la ivermectina, para el fenbendazol del 64 % y para el tiabendazol del 50 %. La metodología utilizada por Samanta y Ansari en comparación con la de este trabajo muestra diferencias muy significativas ya que la realizada por Samanta dista mucho de la realidad pues cuando un animal o ser humano se infestan por *T. canis* o algún otro parásito, no se sabe cuándo ocurre y cuánto tiempo lleva dicha infestación, por lo que la administración de los diferentes fármacos a las 24 horas postinoculación podría no ser la efectiva debido a que las larvas no han alcanzado todas las vísceras; en el caso del presente trabajo, la administración del principio activo se efectuó un mes después de la inoculación, asegurando de esta manera que las larvas inoculadas estuvieran presentes en todas las vísceras, pues como es sabido, las larvas presentan migración errática; de esta manera el esquema de tratamiento utilizado se asemeja más a lo ocurrido en infestaciones naturales.

En 1993, Martínez y colaboradores ensayaron con Ivermectina y diversos principios relacionados, reportando una eficacia del 91 % con una dosis de 200 µg/Kg. Para el 2002 González y Morales utilizaron tres principios activos; Ivermectina, Doramectina y Moxidectina, cada uno a una dosis de 200 µg/Kg a los 30 días postinfestación, encontrando que la eficacia fue del 50.13%, 25.70 % y 19.72 % respectivamente, resultados que se encuentran por debajo de los reportados con anterioridad, debido probablemente a la disminución de potencia del fármaco o que los parásitos hallan creado resistencia hacia las lactonas, lo cual puede atribuirse al uso y abuso que se ha venido teniendo de este fármaco.

Otras investigaciones muy similares como las de Fok y Kassai (1998) en el que se inocularon 1000 huevos larvados de *Toxocara canis* en ratones blancos, aplicando

ivermectina (0.6 mg/Kg subcutáneo y oral) e ivermectina en el alimento (6mg/Kg), fenbendazol (1.6 g/Kg, 6 g/Kg y 9.6 g/Kg en el alimento) y albendazol (1.6 g/Kg y 3 g/Kg en alimento) comenzando el tratamiento el día 87 postinfestación con una duración de 100 días de tratamiento para la ivermectina y albendazol, de 20 días para el fenbendazol y albendazol y de 30 días para el fenbendazol y albendazol (3 g/Kg). Obteniendo la mayor reducción de larvas (aproximadamente 98 %) para el fenbendazol a dosis de 6 g/Kg suministrada en el alimento, seguido del albendazol a dosis de 1.6 g/Kg (con el 97.1 % de reducción larvaria), una reducción del 33.5 % de larvas para el caso de la ivermectina administrada oralmente (0.6 mg/Kg), 10.5 % de reducción de larvas para el caso de la ivermectina subcutánea (0.6 mg/Kg) y del 7.6 % de reducción con ivermectina mezclada con el alimento (6 mg/Kg).

En el año 2000 Velebny y Col. utilizaron formulaciones liposomales de albendazol con glucanos administrándolo subcutáneamente a ratones infestados con larvas de *Toxocara canis* usando dosis de 25 mg/Kg, dos veces al día por cinco días; un mes después de la infestación encontraron una eficacia del 62.8 % en músculo y del 88 % en cerebro. Esta formulación liposomizada permite una liberación paulatina y efectiva del principio logrando un 92 % de efectividad sobre el parasitismo total, los datos previos sugieren que el albendazol sí es capaz de eliminar las larvas del cerebro, pero se requiere de incrementar la dosis y biodisponibilidad del fármaco en el organismo, en este trabajo las dosis utilizadas fueron superiores (50, 100 y 400 mg/Kg) pero en una sola toma, siendo el albendazol eficaz contra larvas presentes en cerebro ya que la composición del albendazol (liposoluble) permite atravesar barrera hematoencefálica y destruir las larvas en dicha víscera.

López y Mejía en 2003 encontraron que la aplicación de dosis repetitivas de ivermectina de 200 µg/Kg con una efectividad del 88.58 % después de 5 tratamientos mensuales. Al primer tratamiento se encontró un 58.1 %, para el segundo fue del 77.43%, en el tercero de 77.56 %, en el cuarto 81.81% y en el quinto llegó al 88.58 % antes citado, lo que indica que a dosis consecutivas se mejora la efectividad.

Enríquez y Martínez en 2004 probaron un esquema de tratamiento a los 30,60 y 90 días postinducción con selamectina a dosis de 6 µg/Kg vía epicutánea, obteniendo una

eficacia importante con eliminación de larvas desde el primer tratamiento en músculo de 91.48 %, en cerebro de 86.04 %: en el segundo tratamiento fue del 92.25 % en músculo y para cerebro de 94.4 %, y en el último tratamiento hubo una eliminación del 100 % para músculo y para el cerebro del 94.4 %, lo que indica que este principio activo tiene una elevada eficacia contra la L-2 de *T. canis* debido a que la selamectina es un producto nuevo.

En 2004 Acosta realizó un esquema de distintos niveles de dosificación con Ivermectina en solución inyectable a dosis de 4, 50, 400, 800 y 1000 µg/Kg en una administración obteniendo una eficacia de 11.83 %, 20.34 %, 51.34%, 61%, y 68.74% respectivamente, menores a los reportados por López y Mejía en el 2003. De tal manera que para una mayor efectividad se podría utilizar la dosis más efectiva de ivermectina administrándola por varios días y tal vez con la asociación de otro antiparasitario como el albendazol este último, a la dosis más efectiva de este trabajo (400 mg/Kg de peso)

Fernández y Ortiz utilizaron la asociación de albendazol-ivermectina administrando a dosis de 200 µg/Kg de ivermectina vía subcutánea y 5mg/Kg de albendazol vía oral. Esto administrando hasta en tres dosis. Obteniendo una efectividad a una sola dosis de 3.90%, para la segunda dosis de 53.51%, para la tercera dosis de 55.02 % y para la cuarta dosis del 91.35% del parasitismo total. Dichos resultados se podrían mejorar prolongando el tiempo de tratamiento o bien aumentando las dosis de los dos principios activos.

Los estudios previos encontrados en la literatura muestran una variada efectividad de los principios activos utilizados así como diferentes esquemas de tratamiento contra las L-2 de *T. canis*, en este trabajo se pretendió utilizar diferentes dosis de albendazol tanto las terapéuticas para animales y ser humano, así como dosis elevadas. De esta manera como se observa en la tabla 8 se tienen porcentajes de efectividad para las dosis de 5, 50, 100 y 400 mg/Kg obteniendo 19.32 %, 33.62%, 38.68% y 41.91% respectivamente, indicando que a mayor dosis de albendazol mayor es la capacidad para matar a las larvas de *Toxocara canis*, representado en la gráfica 1.

Resultados comparables con los reportados por Soto en 1985 quien evaluó la actividad del albendazol en tres lotes de ratones a dosis única de 1000 mg/Kg de peso

diariamente por 5, 6 y 7 días, obteniendo eficacias del 8.10 %, 48.74 % y 90 % respectivamente. Estos resultados están por debajo de los encontrados en este trabajo tomando en cuenta que fueron más días de tratamiento y en el presente trabajo sólo fue una sola dosificación; recordando que dentro de los productos comerciales en uso existen otros bencimidazólicos que se han venido usando por tiempos muy prolongados con una probable pérdida de potencia o el inicio de probable resistencia.

Así mismo la reducción del número de larvas en el cerebro a dosis de 400 mg/Kg (23.4 larvas en promedio) con respecto al lote inoculado y no tratado (35.1 larvas en promedio), nos indica que el principio activo utilizado es capaz de atravesar barrera hematoencefálica, lo que concuerda con las características del fármaco ya que presenta una elevada liposolubilidad.

El análisis estadístico realizado nos indica que el albendazol si tiene efecto sobre las larvas enquistadas de *T. canis* en los diferentes órganos, de igual manera la prueba de Tukey (ver anexo) nos indica que las dosis son estadísticamente iguales y los resultados no son estadísticamente significativos pero el efecto en la reducción de las larvas es visible numéricamente.

El albendazol puede ayudar en el control de esta parasitosis tan común en el perro que es causa de zoonosis, debiendo ajustar el esquema de tratamiento para lograr la eliminación total de larvas en animales para extrapolarlo al ser humano ya que con este esquema de tratamiento no se alcanzó el cien por ciento de efectividad. Cabe mencionar que este fármaco es muy usado en medicina humana, siendo económico y con alta eficacia en contra de varios géneros de parásitos.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se propone estructurar esquemas de tratamiento con dosis múltiples a ciertos intervalos, para aumentar la eficacia del albendazol contra las larvas de este parásito, o bien utilizar la formulación realizada por Velebny y Cols. en el año 2000 (albendazol liposomizado) a dosis múltiples. De igual manera es recomendable utilizar sinergias con otros desparasitantes como la ivermectina que ha demostrado ser buen desparasitante, considerando que los dos fármacos tienen mecanismos de acción diferentes.

8. CONCLUSIONES

1. Los resultados indicaron la movilización de las larvas (LMV) asentándose en todas las vísceras pero principalmente en músculo y cerebro, siendo estos lugares predilectos por el parásito en estudio.
2. Se determinó que el uso de albendazol en una sola administración y a diferentes dosis es capaz de matar larvas enquistadas de *T. canis* en el ratón, mostrando que a diferentes dosis se eliminaron porcentajes crecientes de éstas.
3. La dosis que presentó mayor eficacia fue la de 400 mg/Kg de peso disminuyendo en un 41.91 % del parasitismo total, la mayor remoción de larvas fue en músculo (44.99 %) y en cerebro (33.33 %) lo que nos indica este último porcentaje que el fármaco es capaz de atravesar barrera hematoencefálica.
4. Al no haber sido removido el 100% de las larvas en los animales de experimentación, consideramos que la efectividad del albendazol mostrada tanto a dosis efectiva como en sobredosis no es la adecuada.

9. REFERENCIAS

1. Abo-Shehada M. N., Hebert, Antihelminthic effect of levamisole, ivermectina, albendazole and febendazole on larval *Toxocara canis* in mice. Vet. Sc.36, Pág. 87-91. (1987).
2. Abo-Shehada M. N., Hebert, The migration of *Toxocara canis* in mice: II. Postintestinal migration in primary infections. Vet. Parasitol.33, Pág. 297-307. (1985).
3. Acosta S. N. Actividad de diferentes niveles de dosificación de ivermectina contra larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos. Tesis Profesional, Médico Veterinario Zootecnista, FES Cuautitlan, UNAM, (2004).
4. Ahmed M. A., Mikulá L., Viera R., Lev K., Zuzana ev iková and Pavol Dubinský Larval toxocarosis in sheep: the immunohistochemical characterization of lesions in some affected organs Veterinary Parasitology Volume 105: 3 Pages 207-214. (2002).
5. Alba H. F., Evaluación de un modelo de Toxocarosis ocular y sistémica empleando jerbos (*Meriones unguiculatus*). Tesis doctoral, FES Cuautitlán, UNAM, (1999).
6. Altchek J., Nallar M., Conca M., Freilij H. Toxocaríasis: aspectos clínicos y de laboratorio en 54 pacientes. Anales de Pediatría. Vol. 58, No. 05: 425 - 431 (2003).<http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/doyma/mrevista.fulltext?pident=13046522>
7. Aspects of *Toxocara* epidemiology. Human Toxocaríasis. Critical Reviews in Microbiology. 23 (1997).
<http://www.library.uu.nl/digiarchief/dip/diss01754824/c2.pdf>
8. Bardón R., Cuellar C. Y Guillén J. Evaluation by larval recovery of mebendazol activity in experimental murine toxocaríasis. Int. J. of Parasitol. 25:5, 587-592. (1995).
9. Beaver, PCH; Parasitología clínica. Editorial Salvat. 2ª. Edición. Barcelona-Madrid. (1987).
10. Birchard S. J., Sherding G. R. Manual Clínico de Pequeñas Especies. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. (1996).
11. Bojanich, M. V., Martínez A. J., Chamorro M. Evaluación de Antígenos de E/S de *Toxocara canis* para Tests Inmunoenzimáticos Instituto de Medicina Regional - Universidad Nacional del Nordeste (2003). <http://www1.unne.edu.ar/cyt/medicina/m-030.pdf>
12. Botana L. M., Landoni F., Jiménez T. M., Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Editorial McGraw-Hill Interamericana; España (1998).
13. Botero D., Restrepo M. Parasitosis Humanas. Editorial Corporación para investigaciones Biológicas. 2ª. Edición. Medellín, Colombia. (1992).
14. Brown H., Parasitología Clínica. Editorial Interamericana, México, (1986).
15. Cheng C. T. Parasitología General. Editorial Lia A. C. 2ª. Edición. España. (1978).
16. Coffman R. L., Seymour B. W. P., Hudak S., Jackson J., Rennick D. Antibody to interleukin-5 inhibits helminth induced eosinophilia in mice. Sci. 245: 308-309. (1989).

17. 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 McGraw-Hill Interamericana. (1999).
18. Cypess R. H, Karol M. H., Zidian J.L., Glickman L. T., Gitlin D. Larva-specific antibodies in patients with visceral larva migrans. The J. of Infections Diseases, 135 (4): 633-642. (1977).
19. Dubinsky P. Havasiova- Reiterova K., Petko B., Havorka I. y Ovicova T.O., Role of small mammals in the epidemiology of Toxocariasis. Parasitology, 110, 187-93, (1995).
20. Enríquez C. J. F., Martínez L. J. P., Evaluación de la actividad antiparasitaria de la selamectina con larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos. Tesis profesional. FES-Cuautitlán. UNAM. México. (2004).
21. Fernández A. C., Ortiz R. C. Evaluación del tratamiento con dosis repetitivas de una asociación albendazol-ivermectina contra las larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos. Tesis profesional. FES-Cuautitlán. UNAM. (2004).
22. Fisher M. *Toxocara cati*: an underestimated zoonotic agent. Trends in Parasitol, 19(4) 167-169.(2003).
23. Flores J., Farmacología Humana. 3ª. Edición. Editorial Masson. España. (2000)
24. Fok E., Kassai T. *Toxocara canis* infection in the paratenic host: a study on the chemosusceptibility of the somatic larvae in mice. Veterinary Parasitology. 74: 243-259. (1998).
25. García B. A., Urbano G. C. Presencia de huevos de *Toxocara spp.* En los parques Públicos de la Zona Urbana del Municipio de Pasto, Nariño-Colombia (2002) <http://lmvltida.com/programas/ar19.html>
26. Goldsmith R. Parasitología y Medicina Tropical. Editorial el Manual Moderno, México, (1995).
27. González G. P., Morales M. F. Evaluación comparativa de la actividad antiparasitaria de la Ivermectina, Moxidectina y Doramectina contra larvas enquistadas de *T. canis*. Tesis profesional, Químico Farmacéutico Biólogo. FES Cuautitlán, UNAM, (2002).
28. Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, Editorial Mc GrawHill. 10a. Edición. México (2003).
29. Greve J. H. Age resistance to *Toxocara canis* in Astrid free dogs. Am J. Vet. Res., 32(8), 1185-1191.(1971).
30. Grieve R. B., Stewart V. A. y Pearson J. C., Immunology 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)
31. <http://www.aaiba.com.ar/educacion/educacion1/Eosin%C3%B3filos.htm>
32. Hunter W. G. Manual de Medicina Tropical. Editorial La Prensa Médica Mexicana, 3ª. Edición. México, (1973).
33. Kasai T., Chemotherapy of larval Toxocariasis: Progress and problems. Overview from veterinary aspect. Helminthol. 32, 133-41, (1995).
34. Katzung G. B. Farmacología Básica y Clínica. Editorial El Manual Moderno. 8ª. Edición México (2001).
35. Kerr-Muir M. G. *Toxocara canis* and human health. *BJM* 309:5-6 (1994)

36. Kirk R. W. Práctica canina en pequeñas especies. 4ª. Edición. Editorial Interamericana. México. D. F. (1984).
37. Lapage G., Parasitología Veterinaria, Compañía editorial continental, México, (1971).
38. Litter M. Compendio de Farmacología. 4ª. Edición. "El Ateneo" Pedro García S.A.; Buenos Aires, Argentina (1986).
39. López H. E., Mejía L. J. Efecto de dosis repetitivas de ivermectina sobre larvas enquistadas de *T. canis* en ratones blancos. Tesis Profesional, Médico Veterinario Zootecnista, FES Cuautitlán, UNAM, (2003).
40. Luengo J. A., Castellanos R. R., Martínez G. H. Manual de Parasitología, Barcelona. (1997).
41. Maizels R. Biology of *Toxocara canis*. Rick Maizels's *Toxocara* page (2005) http://helios.bto.ed.ac.uk/icapb/maizels/rmm_Toxocara.html
42. Markell E. K., Medical Parasitology. Editorial Saunders Company. United States of America. (1999).
43. Martínez L. J. P. Disco de apoyo, imágenes de Parasitología. FES-C. UNAM. (2005).
44. Martínez L. P., Detección del depósito de antígenos de excreción-secreción de larvas somáticas de *Toxocara canis* en los tejidos de jerbos con infección inducida. Tesis Profesional. FES Cuautitlán. UNAM.(2004).
45. Melhorn H., Manual de Parasitología Veterinaria, Editorial Grass-Iatros, Estados Unidos de América, México (1986).
46. Menhorn H. Parasitology in Focus. Editorial Alle-Zeit-Wach. Alemania (1988).
47. Muñoz M. A., Determinación por Western blot de los antígenos de excreción-secreción de la larva de *Toxocara canis* que son reconocidos por sueros de cachorros infectados naturalmente. Tesis de Licenciatura. FES Cuautitlán. UNAM. (1997).
48. Mustoe T. *Toxocara canis*: A Review. Stage3 Biological Imaging. Independent studies.(1999). <http://vertigo.derby.ac.uk/biologicalimaging/shows/fys99/tm/toxocara%20canis.pdf>
49. Nelson W. R., Medicina Interna en Pequeños Animales, Editorial Harcourt, Madrid España, (1999).
50. Oliveira-Sequeira T. C. G., Amarante A. F. T., Ferrari T. B., Nunes L. C., Prevalence of intestinal Parasites in dogs from Sao Paulo State, Brasil, Vet. Parasitol., 75,56-71, (2002).
51. Olsen O. W. Parasitología Animal. Vol. 2 Editorial Aedos. España (1977).
52. 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).
53. Quiroz R. H., Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos Editorial Limusa. 2ª. Edición. México, (1988).
54. Radman N. E., Archelli S. M. Fonrouge R. D. Guardis M del V. Linzitto O. R. Human Toxocarasis. Its seroprevalence in the city of La Plata. Mem Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro 95: 3, 281-285. (2000).
55. Rincón M. R. Reconocimiento de los antígenos de excreción y secreción (L2) de *T. canis* por medio de Western Blot en sueros de conejos infectados

- experimentalmente. Tesis profesional. Químico Farmacéutico Biólogo. FES Cuautitlán, UNAM. (2001).
56. Samanta S. y Ansari M. Z., Anthelmintic effect of ivermectin, albendazole, febendazole and thiabendazole on larval *Toxocara canis* infection in mice. Ind. J. of Anim. Sci. 60:10, 1195-1196. (1990).
 57. Schön J. y Stoye M. Pranate und galaktogene infection en mitt *Toxocara mystax* ZEDER 1800 (Anisakidae) bei der maus. J. Vet. Med. B. 33,397-412,(1986).
 58. Schwalbe C.W., Medicina Veterinaria y Salud Pública, organización Editorial Novaro, México, (1986).
 59. Soto F. A. Actividad antihelmíntica del albendazol con dosis de 1000 mg / Kg p. v contra larvas tisulares de *T. canis* en ratones albinos infestados experimentalmente Tesis profesional. Medico veterinario Zootecnista. FES-Cuautitlán. UNAM. (1985).
 60. Soulsby E. J. L Helminths, arthropds and protozoa of domesticated animals.. Lea y Fabinger. USA. (1968).
 61. Sprent J. F. A., Observations on the development of *Toxocara canis* (Wernwer, 1782) in the dog. Parasitol. 48, 184-209, (1958).
 62. Sugane K., Oshima T. Eosinophilia, granuloma formation and migration behaviour of larvae in the congenitally athymic mouse infected with *Toxocara canis*. Parasitol. Immunol. 4: 307-318.(1982).
 63. Sugane K., Oshima T. Purification and characterization of excretory-secretory antigen of the *Toxocara canis* larvae. Inmunol., 50: 113-118.
 64. Sumano H., Ocampo L. Y Pulido E., Manual de Farmacología clínica para pequeñas especies. Ediciones Cuellar. México. (2000).
 65. Takayanagi. T. H., Akao N., Susuki R., Tomada M., Tsukidate S., Fujita K., New animal model for human ocular toxocariasis: ophthalmoscopic observation. (1999).
 66. Tizard I., Inmunología Veterinaria, Editorial Interamericana, México, (1986).
 67. Urbano G. C; García B I Presencia de huevos de *Toxocara spp.* en los parques públicos de la zona urbana del municipio de pasto. Nariño-Colombia (2002). <http://lmvltada.com/programas/index.html#articulos19>
 68. Urquhart G. M, Armour J., Duncan J. L., Parasitología Veterinaria, Editorial Acriba, España, (2001).
 69. Velebny S., Hrckova G. Y Tomasovicova O., *Toxocara canis* in mice: effect of stabilosed liposomes on the larvicida efficacy of febendazole and albendazole. Helminthología. 37, 195-198. (2000).
 70. Warren E. G. Infection of *Toxocara canis* in dogs fed infected mouse tissues. Parasitology. 59, 837-41. (1969).

ANEXO

I. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tabla de análisis de varianza aplicado a los valores totales de larvas de *T. canis* encontradas en los diferentes órganos y a las diferentes dosis administradas.

| F.V | g.l | SC | CM | Fc | Ft |
|--------------------------|-----|------------|-------------|---------|------|
| Tratamientos | 29 | 64896.1297 | 2237.7975 | 41.8236 | 1.46 |
| Dosis | 4 | 1663.2728 | 415.8182 | 7.771 | 2.37 |
| Órgano | 5 | 60605.0856 | 12121.01712 | 226.537 | 2.21 |
| Interacción Dosis-órgano | 20 | 2627.7713 | 131.3888 | 2.4556 | 1.57 |
| Error | 270 | 14446.516 | 53.5056 | | |
| Total | 299 | 79342.6457 | | | |

$$\alpha = 0.05$$

Planteamiento de las hipótesis:

Dosis

Ho = Las dosis de albendazol no tienen efecto sobre el número de larvas encontradas.

Hi = Las dosis de albendazol sí tienen efecto sobre el número de larvas encontradas.

$F_c > F_t = 7.771 > 2.37$ por lo tanto: **Se rechaza Ho.**

Conclusión: Las dosis de albendazol sí tienen efecto sobre el número de larvas encontradas.

Órgano

Ho = El tipo de órgano no tiene efecto sobre el número de larvas encontradas.

Hi = El tipo de órgano sí tiene efecto sobre el número de larvas encontradas.

$F_c > F_t = 226.537 > 2.21$ por lo tanto: **Se rechaza Ho.**

Conclusión: El tipo de órgano sí tiene efecto sobre el número de larvas encontradas.

Interacción dosis-órgano.

Ho = No hay interacción entre la dosis y el órgano sobre el número de larvas.

Hi = Si hay interacción entre la dosis y el órgano sobre el número de larvas.

$F_c > F_t = 2.4556 > 1.57$ por lo tanto: **Se rechaza H_0 .**

Conclusión: Si hay interacción entre la dosis y el órgano sobre el número de larvas

Tabla de análisis de varianza para músculos.

| F.V | g.l | SC | CM | Fc | Ft |
|--------------|-----|------------|----------|--------|------|
| Tratamientos | 4 | 3260.1132 | 815.0283 | 3.3446 | 2.61 |
| Error | 45 | 10965.747 | 243.6832 | | |
| Total | 49 | 14225.8602 | | | |

$\alpha = 0.05$

Planteamiento de las hipótesis:

H_0 = Las dosis de albendazol no tienen efecto sobre el número de larvas encontradas en el músculo.

H_1 = Las dosis de albendazol sí tienen efecto sobre el número de larvas encontradas en el músculo.

$F_c > F_t = 3.3446 > 2.61$ por lo tanto: **Se rechaza H_0 .**

Conclusión: Las dosis de albendazol sí tienen efecto sobre el número de larvas encontradas en el músculo.

Tabla de análisis de varianza para cerebros.

| F.V | g.l | SC | CM | Fc | Ft |
|--------------|-----|---------|---------|--------|------|
| Tratamientos | 4 | 988.6 | 247.15 | -1.604 | 2.61 |
| Error | 45 | -6932 | -154.04 | | |
| Total | 49 | -5943.4 | | | |

$\alpha = 0.05$

Planteamiento de las hipótesis:

H_0 = Las dosis de albendazol no tienen efecto sobre el número de larvas encontradas en el cerebro.

H_1 = Las dosis de albendazol sí tienen efecto sobre el número de larvas encontradas en el cerebro.

El valor de F_c es menor que la zona de aceptación (0 a 2.61) por lo tanto: **Se rechaza H_0 .**
El valor de la F_c no es significativo.

Conclusión: Las dosis de albendazol sí tienen efecto sobre el número de larvas encontradas en el cerebro.

PRUEBA DE TUKEY

Prueba aplicada a las diferentes medias de larvas de *T. canis* encontradas a las diferentes dosis de albendazol administradas, para determinar las diferencias mínimas significativas.

Tabla de diferencias entre las medias de las muestras

| Dosis mg/Kg | 400 (μ_5) | 100 (μ_4) | 50 (μ_3) | 5 (μ_2) | 0 (μ_1) |
|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|---------------|---------------|
| 400 (μ_5) | ----- | 0.49 | 1.2584 | 3.4384 | 6.3967 |
| 100 (μ_4) | | ----- | 0.7684 | 2.9484 | 5.9067 |
| 50 (μ_3) | | | ----- | 2.18 | 5.1383 |
| 5 (μ_2) | | | | ----- | 2.9583 |
| 0 (μ_1) | | | | | ----- |

$\alpha = 0.05$

Tabla de comparaciones múltiples con los datos de la tabla anterior

| Hipótesis | $DVS = 3.86\sqrt{53.50/10}$ | Decisión Se rechaza H_0 si $DVS <$ diferencias |
|----------------------|-----------------------------|---|
| $H_0: \mu_1 = \mu_2$ | 8.9286 | $8.9286 > 2.9583$ Por tanto se acepta H_0 . |
| $H_0: \mu_1 = \mu_3$ | 8.9286 | $8.9286 > 5.1383$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_1 = \mu_4$ | 8.9286 | $8.9286 > 5.9067$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_1 = \mu_5$ | 8.9286 | $8.9286 > 6.3967$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_2 = \mu_3$ | 8.9286 | $8.9286 > 2.18$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_2 = \mu_4$ | 8.9286 | $8.9286 > 2.9484$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_2 = \mu_5$ | 8.9286 | $8.9286 > 3.4384$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_3 = \mu_4$ | 8.9286 | $8.9286 > 0.7684$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_3 = \mu_5$ | 8.9286 | $8.9286 > 1.2584$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_4 = \mu_5$ | 8.9286 | $8.9286 > 0.49$ Por tanto se acepta H_0 |

Prueba de Tukey aplicada a las diferentes medias de larvas de *T. canis* encontradas en el músculo en las diferentes dosis de albendazol administradas, para determinar las diferencias mínimas significativas.

Tabla de diferencias entre las medias de las muestras

| Dosis mg/Kg | 400 (μ_5) | 100 (μ_4) | 50 (μ_3) | 5 (μ_2) | 0 (μ_1) |
|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|---------------|---------------|
| 400 (μ_5) | ----- | 1.9 | 4.4 | 9.5 | 11.7 |
| 100 (μ_4) | | ----- | 2.5 | 7.6 | 9.8 |
| 50 (μ_3) | | | ----- | 5.1 | 7.3 |
| 5 (μ_2) | | | | ----- | 2.2 |
| 0 (μ_1) | | | | | ----- |

$$\alpha = 0.05$$

Tabla de comparaciones múltiples con los datos de la tabla anterior

| Hipótesis | $DVS = 4.02\sqrt{243.683/10}$ | Decisión Se rechaza H_0 si $DVS <$ diferencias |
|----------------------|-------------------------------|---|
| $H_0: \mu_1 = \mu_2$ | 19.8444 | $19.8444 > 2.2$ Por tanto se acepta H_0 . |
| $H_0: \mu_1 = \mu_3$ | 19.8444 | $19.8444 > 7.3$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_1 = \mu_4$ | 19.8444 | $19.8444 > 9.8$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_1 = \mu_5$ | 19.8444 | $19.8444 > 11.7$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_2 = \mu_3$ | 19.8444 | $19.8444 > 5.1$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_2 = \mu_4$ | 19.8444 | $19.8444 > 7.6$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_2 = \mu_5$ | 19.8444 | $19.8444 > 9.5$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_3 = \mu_4$ | 19.8444 | $19.8444 > 2.5$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_3 = \mu_5$ | 19.8444 | $19.8444 > 4.4$ Por tanto se acepta H_0 |
| $H_0: \mu_4 = \mu_5$ | 19.8444 | $19.8444 > 1.9$ Por tanto se acepta H_0 |