

10524
26



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

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



"EVALUACION COMPARATIVA DE LA ACTIVIDAD
ANTIPARASITARIA DE LA IVERMECTINA, MOXIOCTINA,
Y DORAMECTINA CONTRA LARVAS ENQUISTADAS DE
TOXOCARA (T.) CANIS."

Exámenes Profesionales

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A N :

GONZALO E. / GONZALEZ PAEZ
FABIOLA MORALES MANDUJANO

ASESOR: M.V.Z. JUAN PABLO MARTINEZ LABAT

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO,

2003

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A



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.



PREZIDENTE NACIONAL
ACADEMIA DE
MEXICO

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

ASUNTO VOTOS APROBATORIOS

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

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

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

"Evaluación comparativa de la actividad antiparasitaria
de la Ivermectina, Moxidectina y Doramectina contra
larvas enquistadas de Toxocara (T) canis"

que presenta el pasante Gonzalo Ernesto González Páez
con número de cuenta 97370728 para obtener el título de:
Químico Farmacéutico Biólogo

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

AT E N T A M E N T E

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 03 de Julio de 2002

PRESIDENTE

M.en F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarraga

VOCAL

M.V.Z Juan Pablo Martínez Labat

SECRETARIO

G.F.B. Ma. Esther Revuelta Miranda

PRIMER SUPLENTE

Dra. Susana E. Mendoza Elvira

SEGUNDO SUPLENTE

Dra. G. Guadalupe Koizumi Castro

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

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

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

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

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

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

"Evaluación comparativa de la actividad antiparasitaria
de la Ivermectina, Moxidectina y Doramectina contra
larvas enquistadas de Toxocara (T.) canis."

que presenta la pasante: Yaniela Morales Mandujano"
con número de cuenta: 9754307-1 para obtener el título de:
Química Farmacéutica Biología

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

A T E N T A M E N T E

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 03 de Julio de 2002

PRESIDENTE M. en F.C. Ma. Eugenia Posada Galarraga

VOCAL M. V. Z. Juan Pablo Martínez Labat

SECRETARIO Q.F.B.Ma. Esther Revuelta Miranda

PRIMER SUPLENTE Dra. Susana E. Mendoza Elvira

SEGUNDO SUPLENTE Q.F.T. Guadalupe Koizumi Castro

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

C

AGRADECIMIENTOS

Fabiola M.M.

A la U.N.A.M.:

A esta gran institución que pese a cualquier opinión, es la "máxima casa de estudios" de mi país, y que además ha dejado en mí, grandes satisfacciones tanto académicas como personales.

A la FES Cuautitlán:

A mi pequeña escuela que es grande por su gente y lo que deja en cada uno de nosotros que pasamos por ella.

A mis papitos:

Porque todo lo que tengo y todo lo que soy es gracias a ustedes, por estar ahí conmigo siempre, tras cada sueño, locura, logro y fracaso; por apoyarme sin titubear, por confiar en mí, y por ser a los que les debo la vida y mis 23 años de felicidad.

No tengo palabras para agradecerles Confitos, LOS ADORO!

A mi hermano:

Porque siempre estás conmigo aunque no estés de acuerdo, por ser mi otra mitad, mi complemento, y por enseñarme tantas cosas que no se aprenden en la escuela.

Por quererme tanto y ser mi incondicional!

TE QUIERO MUCHO Gabriel!

A mi familia:

Mencionar a todos sería eterno, pero no quiero dejar de agradecer a todos y cada uno de ustedes por su interés, confianza, preocupación, apoyo y ayuda en cada etapa de mi vida.

Por que cada uno tiene un lugar en mi corazón y ha dejado su granito en mí. Orgullosa de ser Morales Mandujano.

(Alma, tío, Cucú, primos, Flaco, Gato, Susa, y más).

A mis amigos:

Porque son la familia que he escogido, por apoyarme, escucharme y aguantarme, por su "amistad" y por formar parte fundamental de mi vida. Por que de cada uno tengo una palabra y recuerdo especial que han completado mi vida.

A todos y cada uno de ustedes mi agradecimiento y cariño.

(Claus, Memo, pKa, Raúl, Benito, Pasa, Beto, Gony, Maty, Yolis, Chopis, Chiwo, Erick, Alfredo, Joni y suss21)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A Gonzo:

Por ser más que un compañero de tesis y haberme dado la oportunidad de conocer su loca cabeza y abrirme su corazón. Disfruté mucho el trabajo contigo Bobby, muchas GRACIAS y te deseo lo mejor!!!!!!

Al Profesor Pablo:

Por su siempre buena disposición para ayudar, su comprensión, tolerancia, paciencia, sus conocimientos compartidos y su calidad humana. Por ser el mejor asesor!

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

Ing. Juan Rafael Garibay Bermúdez

Jefe de la División de Ciencias Físico-matemáticas y las Ingenierías

Por su gran ayuda y buena disposición para asesorarnos en el tratamiento estadístico de los resultados, indispensable para el desarrollo de la tesis.

Dr. René Miranda Ruvalcaba y su Sección de Química Orgánica.

Por su interés, ayuda, buena disposición, conocimientos compartidos y amistad brindada desde siempre y en cada momento de la carrera. Por demostrar que la ciencia no está peleada con los sentimientos y la calidad humana.

(Prof. René, Profra. Bety, Gabriel, Roberto, Conchita, Raymundo, Benjamín, Prof. Bernardo)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

E

AGRADECIMIENTOS

Gonzalo

A DIOS:

Por darme la oportunidad
de vivir y ver concluido este trabajo

A mis padres:

Sr. Ernesto Ignacio González García
Sra. Raquel Páez Guerra
Por todo el apoyo, atención e impulso
necesario para la terminación de mis estudios

A mis hermanos:

Irene Zatarain Páez
Iván González Páez
Raquel G. González Páez
Por la atención que tuvieron en
todo momento

A mis compañeros:

Fernando (Chaparro)
Hilario (Pelayito)
Lestie M.
Por la ayuda recibida durante el
trabajo experimental

Al profesor y amigo:

MVZ. Pablo Martínez Labat
Por toda la ayuda brindada, todos
los consejos y momentos.
GRACIAS PROF.

A los profesores:

Ing Bermúdez (C-4)
Dr. Miranda. (C1-)
Por su ayuda y tiempo que
sin ellos hubiera sido
imposible la terminación
de este trabajo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Personal de Lab. de Parasitología:
En especial a Gerardo por
la ayuda recibida

y

AL PERSONAL:

Cesar C. C (Por toda la ayuda. Gracias)
Fabiola (por hacerme el paro)
Paola (que te puedo decir)
Nadia (por ser mi amiga)
Al Chaparro (no te enojas chapa)
Al Pelayo (por los momentos)
Al Chaquet (por los momentos)
Al Ronaldo (sigue asi)
Al Quique (Gracias por los reactivos brother)
Al Chino y al Hapo (por ebrios)
Al Paquito (buena onda paquito)
Al Vegeta
A Héctor y la Gorda (por ser amigos)
A Miguel Lescas (por ser amigo)
Leslie (por los momentos)
Greta (Gracias)
A los Cachus (incluyendo a Fede)
Al equipo de tocho femenil QFB-24
Toño
El Roto
Al Iguala
Al Memo (mi chavo)
J.M.Z.B.
E.M.S.J
C.Z.Z.P
Y a todos...
Gracias por ser parte de mi vida.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE GENERAL

	Páginas
1.- Introducción	1
2.- Epidemiología de la Toxocariasis	3
3.- <u>Toxocara canis</u>	8
3.1.- Morfología de <i>T. canis</i>	8
3.2.- Ciclo de vida del parásito	10
3.3.- Patogenia de la Toxoacriasis	14
3.3.1 - Los mecanismos de evasión empleados por nemátodos, hasta ahora conocidos son:	16
3.3.1.1.- Muda de componentes de la superficie de la superficie.	16
3.3.1.2.- Enzimas antioxidantes	16
3.3.1.3.- Resituación en los tejidos	17
3.3.1.4.- Camuflaje con moléculas de origen del hospedador o expresión de moléculas similares a las del hospedador sobre la superficie: imitación molecular.	17
3.3.1.5.- Inmunomodulación	17
3.4.-Respuesta del hospedador	22
3.5.- Genes y familias de genes de importancia en <i>Toxocara canis</i>.	28
3.5.1.- Miosinas	28
3.5.2.- Lecitinas de tipo C.	28
3.5.3.- Cistein proteasa: Asparangil endopeptidasa	29
3.5.4.- Olfactomedina	29
3.5.5.- Acuaporina y Prohibitina	30
3.6.-Manifestaciones del Síndrome de Larva Migrans Visceral	31
3.7.- Manifestaciones del Síndrome de Larva Migrans Ocular	35
3.8.- Manifestaciones de la Toxocariasis Encubierta	37
4.- Diagnóstico y Tratamiento	39
4.1.- Diagnóstico	39
4.2.- Tratamiento:	45
4.2.1.- Antihelminticos utilizados:	51
4.2.1.1.- Avermectinas	53
4.2.1.1.1.- Ivermectina.	53
4.2.1.1.2.- Doramectina	58
4.2.1.2.-Milbemicinas:	62
4.2.1.2.1.- Moxidectina	62

H

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

	Páginas
5.- Prevención y Control	69
6.- Objetivos	71
6.1.- Objetivo General	71
6.2.- Objetivos Particulares:	71
6.2.1.	71
6.2.2.	71
6.2.3.	72
6.2.4.	72
7.- Metodología experimental	73
8.- Resultados	78
9.- Discusión	88
10.- Conclusiones	94
11.- Bibliografía.	95

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE DE TABLAS

	Páginas
1.- Seroprevalencia de anticuerpos hacia <i>T. canis</i> .	5
2.- Grado de eficacia de los fármacos modernos anti-nematódicos.	46
3.- Fármacos activos contra macro y microfilarias.	66
4 - Conteo de larvas de <i>Toxocara canis</i> en cerebro.	78
5.-Conteo de larvas de <i>Toxocara canis</i> en músculo esquelético.	79
6.- Conteo de larvas de <i>Toxocara canis</i> en pulmón.	80
7.- Eficacia de los fármacos evaluados.	81
8.- Estadística descriptiva del ensayo.	82
9.- Análisis de varianza de los resultados	83
10.-Prueba de Tukey. Comparación múltiple entre fármacos.	84
11.- Grupos homogéneos de fármacos por Prueba de Tukey	84
12.- Prueba de Tukey. Comparación múltiple entre órganos.	86
13.- Grupos homogéneos de órganos por Prueba de Tukey.	86

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE DE FIGURAS

	Páginas
1.-Gusano adulto de <i>Toxocara canis</i> .	8
2.- Huevo no larvado de <i>Toxocara canis</i> .	9
3.- Huevo larvado de <i>Toxocara canis</i> .	9
4.-Larva de <i>Toxocara canis</i> .	9
5.-Ciclo biológico de <i>T. canis</i> .	13
6.- Migración de la larva de <i>T. canis</i> a través del cuerpo humano.	33
7.- Estructura química general de las lactonas macrocíclicas.	52
8.- Estructura química de la Ivermectina	54
9.- Estructura química de la Doramectina.	59
10.- Estructura química de la Moxidectina.	63
11.- Diagrama metodológico.	76
12.- Gráfico 1. Actividad antiparasitaria en base al fármaco.	85
13.- Gráfico 2. Actividad antiparasitaria en base al órgano.	87

RESUMEN

Toxocara canis pertenece a la familia Toxocaridae, superfamilia Ascaroidea, orden Ascaridia. Aunque estos parásitos no representan elevada patogenicidad, las larvas juegan un papel más importante que los adultos en la enfermedad. *Toxocara spp* son nemátodos parásitos del intestino delgado de perros, gatos y otros carnívoros salvajes; siendo la infestación humana causada mayoritariamente por parásitos del perro (*Toxocara canis*). Se han descrito tres formas clínicas de toxocariasis, Larva Migrans Visceral (VLM), Larva Migrans Ocular (OLM) y toxocariasis encubierta. La incidencia real de la infestación sintomática, de su historia natural y la probabilidad de una infestación congénita, es desconocida.

Los agentes antihelmínticos más frecuentemente utilizados para complicaciones severas de VLM son: Dietilcarbamaína, Tiabendazol, Albendazol, y Mebendazol. Relacionado al tratamiento, nuestro objetivo fue comparar la actividad antiparasitaria de la Ivermectina con dos principios de reciente desarrollo que pertenecen a la misma familia química, que son la Moxidectina y la Doramectina, para definir el nivel de destrucción del parásito *Toxocara canis* en animales infestados artificialmente como modelo biológico experimental.

Se formaron 4 lotes de 15 cada uno con posterior tratamiento un mes posterior a la primoinfección, contando con un lote y uno para cada medicamento.

Se suministraron huevos larvados viables de *T. canis* vía oral, obtenidos a partir de perros jóvenes. Un mes después de la primoinfección se trataron los animales con Ivermectina, Moxidectina y Doramectina a una concentración del 1% y con una dosis

única de 200 microgramos por kilogramo de peso. Posteriormente los animales fueron sacrificados y necropsiados, extrayendo el cerebro, músculo esquelético y pulmón.

La eficacia de los medicamentos se determinó en base a la recuperación de larvas en cada uno de los órganos, mediante una digestión artificial de los mismos y el conteo microscópico de las larvas.

Los resultados obtenidos favorecieron a la Ivermectina con mayor eficacia (50.13%), la Doramectina con eficacia intermedia (25.70%) y finalmente la Moxidectina con baja eficacia (19.72%). Sin embargo, se realizó el tratamiento estadístico de los datos, mediante la prueba de Tukey, que reflejó a la Ivermectina como único medicamento con actividad antiparasitaria significativa, así como al músculo esquelético, el órgano más afectado por las larvas.

Lo que se concluye del trabajo realizado, es que la efectividad antihelmíntica de los medicamentos corresponde al siguiente orden: Ivermectina > Doramectina > Moxidectina; no obstante se requieren de multidosis para lograr una eficacia del 100%, siendo importante mencionar que se ha observado una reducción de la efectividad de la Ivermectina contra larvas enquistadas de *Toxocara canis* en la última década.

1.- INTRODUCCIÓN

La Parasitología es una rama de la Biología considerada como ciencia encargada del estudio de los parásitos. Entendiendo como parásito a un organismo de escala evolutiva baja que depende metabólicamente de un hospedero. Su raíz etimológica se compone de *para* (a un lado) y *sitos* (alimento), lo que quiere decir que la palabra "parásito" significa "a un lado del alimento". La importancia de los parásitos para el humano radica, en que son agentes patogénicos importantes por causar enfermedades de alta incidencia principalmente en países subdesarrollados.

Toxocara spp son nemátodos parásitos del intestino delgado de perros, gatos y otros carnívoros salvajes, y al menos 16 especies de *Toxocara* han sido descritas. La infestación humana es causada mayoritariamente por parásitos del perro (*Toxocara canis*) que es el más estudiado y, en menor grado, por parásitos del gato (*Toxocara cati*)³

Otras especies del género incluyen a: *T. vitulorum* (bóvidos) y *T. pteropodis* (murciélagos). Un género asociado es *Toxascaris leonina*, puede infestar al perro o al gato a nivel intestinal exclusivamente y presenta algunas semejanzas morfológicas¹

Toxocara(T.) canis pertenece a la familia Toxocaridae, superfamilia Ascaridoidea, orden Ascaridida.¹ Las larvas juegan un papel más importante que los parásitos adultos en la enfermedad, aunque en términos generales son parásitos de no muy elevada patogenicidad.¹

La incidencia real de la infestación sintomática, de su historia natural y de la probabilidad de una infestación congénita, es desconocida.³

En 1952, Beaver *et al.* introdujeron el término "larva migrans visceral" para denotar un síndrome clínico resultado de la invasión de las vísceras humanas por la larva de los nemátodos que normalmente parasitan a los animales inferiores.

El hecho de que los humanos conviven e incluso cohabitan con el perro, hace que consideremos importante y relevante enfatizar el papel que estos parásitos tienen con respecto a la salud del hospedero. La probabilidad de infestación por *Toxocara canis* a los humanos es alta en países tercermundistas, y dado el desarrollo nacional, es preocupante y de consideración este parásito, debido a las manifestaciones clínicas de la enfermedad que desencadena en el hombre.

Por lo anterior, surge la necesidad de crear y evaluar medicamentos nuevos que actúen contra dichos parásitos. En el caso particular de este trabajo, se pretende evaluar la actividad de dos medicamentos de reciente desarrollo y compararlos con un medicamento de actividad antiparasitaria conocida. Los tres medicamentos pertenecen a la familia de las Lactonas Macroclínicas y poseen actividad antiparasitaria contra nemátodos de perro. Personalmente, creemos que la Toxocariasis al ser enfermedad de tipo zoonótico, es importante y primordial tratarla desde el vector de infestación, en este caso el perro.

2.- EPIDEMIOLOGÍA DE LA TOXOCARIASIS

Los perros mayores de 6 meses suelen tener menos toxocaros adultos en el intestino que los cachorros, en los que son muy frecuentes, particularmente en criaderos cuyas condiciones favorecen la contaminación ambiental con huevos del parásito.

A pesar de que se ha apuntado cierta resistencia relacionada con la edad de los perros previamente infestados por *T. canis*, se tiene constancia de que éstos no desarrollan inmunidad protectora y que pueden contribuir de modo significativo a la contaminación del medio con los huevos del parásito.

Las larvas somáticas de las perras constituyen el principal reservorio de la infestación. Además las hembras de *T. canis* son enormemente prolíficas, pues pueden liberar hasta 200 000 huevos por día, de modo que en los exámenes practicados a cachorros son habituales eliminaciones de varios miles de huevos por gramo de heces, los cuales resisten bien las condiciones del medio y de muchos desinfectantes de uso común.⁵

Cuando un perro ingiere huevos infestantes de *T. canis*, las larvas eclosionan en el intestino delgado, penetran la pared intestinal accediendo a la sangre y a la circulación linfática. Las larvas invaden el hígado, los pulmones, y otros tejidos. En la mayoría de los perros, el proceso de maduración larvaria se interrumpe en la mayoría de los tejidos, pero en perras gestantes, *T. canis* reanuda su desarrollo y migra a través de la placenta, infestando a los fetos. Después del nacimiento de los cachorros, las larvas continúan su

proceso de maduración, migrando de los pulmones al tracto gastrointestinal por la traquea, y consiguen su maduración en el tracto gastrointestinal de los cachorros.

Las hembras llegan a ser reinfestadas mientras transportan a sus cachorros. La principal fuente de huevos son cachorros menores de 3 meses y perras lactantes.¹³

La toxocariasis humana es un serio problema epidemiológico en muchos países. *Toxocara canis*, el parásito de carnívoros caninos, es el principal agente y en menor grado *Toxocara cati*, que parasita a los felinos. La incidencia mundial de *Toxocara canis* muestra que la frecuencia es del 96-100% en cachorros y del 3-81% en perros adultos. Un estudio similar muestra que la frecuencia para *Toxocara cati* en gatos está en el rango del 6-59%.⁶

El síndrome de larva migrans es un problema de salud pública. El hombre actúa como hospedero no natural en donde la larva de *Toxocara* no se desarrollará pero migrará y sobrevivirá por mucho tiempo.¹⁴

Esa enfermedad es predominante en los niños. Los varones son infestados más a menudo que las mujeres (a razón de 1.5:1); esto refleja una gran susceptibilidad por el comportamiento aventurero en los varones. La enfermedad ocular es más común en niños de entre 5 y 12 años de edad. La enfermedad visceral puede desarrollarse a todas edades, pero es más probable que ocurra en niños menores de 5 años de edad.¹⁰

La tendencia de algunos niños de comer tierra (pica geofágica) es el principal factor de riesgo de la infestación. La compulsión de comer tierra por un desorden conductual

puede afectar del 2% al 10% de los niños entre los 1 a 6 años de edad. La pica está frecuentemente asociada con deficiencia de hierro o zinc. Alrededor del 40% de los pacientes con complicaciones oculares mostraron una historia clínica de pica.¹⁴

La incidencia de anticuerpos en la toxocariasis en pequeños mamíferos sugiere una fuerte contaminación ambiental con los huevos infestantes de *Toxocara spp.* Los niveles de anticuerpos pueden ser un indicador del número de huevos ingeridos por los hospederos paraténicos.⁶

Las personas que habitan en ambientes contaminados con huevos de *Toxocara spp.* también están expuestos a un gran riesgo de infestación. La seroprevalencia en poblaciones humanas ha sido estimada que varía del 2% al 19% en adultos y del 5% al 23% en niños.⁶ (Tabla 1)

Tabla 1 Seroprevalencia de anticuerpos hacia *T. canis*.

Area	Muestra de la Población	Seroprevalencia	Referencia
Bedford, Ing	Niños	14.6%	Josephs DS ³
Londres	Sangre de adultos donadores	2.6%	de Savigny DH ¹
Australia	Sangre de adultos donadores	7%	Nicholas WL ³
St. Lucía	Niños	86%	Thompson DE ¹²
Suecia	Adolescentes	7%	Ljungstrom I ²
Venezuela	Clase media	1.8%	Lynch NR ³
Venezuela	Clase baja	20%	Lynch NR ³
Venezuela	granjeros	25.6%	Lynch NR ³
Venezuela	Indios Amazónicos	34.9%	Lynch NR ³
EUA	niños	4.6-7.3%	Hermann N ¹⁴
Alemania	niños	2.5%	Lamina J ¹⁴
Caribe	niños	83%	Thompson DE ¹²
Países bajos	niños	19%	Tolan . R ¹³
Brasil	niños	39%	Idem
Rep. Checa	niños	5.8-36%	Idem
España	niños	0-37%	Idem
Cuba	niños	5.2%	Idem

Jordania	niños	10.9%	Ielcm
Colombia	niños	47.5%	Ielcm
Nepal	niños	81%	Ielcm
Rep. Eslov.	niños	13%	Ielcm

La toxocaríasis se encuentra principalmente en los trópicos donde las condiciones ambientales favorecen la supervivencia de los helmintos en el suelo.³

El modo de transmisión al humano es por ingestión de los huevos infestantes de *Toxocara* del suelo contaminado (sapro-zoonosis), o por consumo de vegetales crudos. Algunas infestaciones pueden ocurrir por la ingestión de la larva con productos cárnicos poco cocinados y en tejido muscular de hospederos paraténicos tales como gallinas, ganado vacuno y caracoles.

Muchas personas infestadas con *Toxocara* no son tratadas porque no presentan signos o porque las pruebas serológicas no son específicas o no requeridas para la mayoría de las personas.¹⁴

El tratamiento de la toxocaríasis en humanos por el uso de antihelmínticos es insatisfactorio, ya que los síntomas pueden continuar por periodos largos después del tratamiento y, en el caso de la larva migrans ocular, el paciente está en riesgo de perder la vista del ojo afectado.¹⁵

Aunque hay casos reportados de muertes repentinas debido a la infestación por *T. canis*, la mortalidad es muy inusual. La principal alteración es la disminución de la agudeza visual en el OLM. Algunas evidencias sugieren que la toxocaríasis puede ser uno de los factores causantes de asma alérgica.¹³

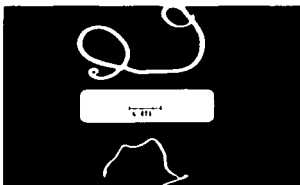
Otras especies animales además del ratón, conejos y cobayos, en donde las respuestas a la migración sistémica de la larva de *T. canis* han sido estudiadas, incluyen ovejas, cabras, cerdos y tortugas.¹⁶

3.- TOXOCARA CANIS

3.1.- MORFOLOGÍA DE *T. canis*

Los machos de *Toxocara canis* miden 4-10 cm x 2-3 mm de diámetro y las hembras de 5-18 cm. La boca se cierra con tres labios y lateralmente hay dos alas cervicales que miden 2.5 x 0.2 mm y tienen forma de punta de lanza (Figura 1).

Fig. 1. Gusano adulto de *Toxocara canis*



Los huevos son esféricos de 75-90 μm y poseen una cubierta gruesa y rugosa con varias capas concéntricas. Son de color marrón oscuro, no segmentados y su contenido ocupa prácticamente todo el espacio interior.⁵ (Figura 2)

La estructura de la cáscara del huevo con varias capas, la externa albuminosa, otras tres quitinosas, otra fibrilar e internamente la capa lipóidea, proporciona una fuerte resistencia frente a las agresiones del medio exterior, en cualquier fase del desarrollo. Toleran perfectamente el frío y en condiciones óptimas de humedad y temperatura pueden conservar su vitalidad durante meses.⁹ (Figura 3)

Fig 2 y 3. Huevo no larvado y larvado de *T. canis*



La larva L-2 de *T. canis* tiene 500 μm de longitud por 20 μm de ancho y una motilidad activa.¹ (Figura 4)

Fig.4 Larva de *Toxocara canis*.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.2.- CICLO DE VIDA DEL PARÁSITO

El ciclo biológico de *T. canis* es complejo, con cuatro posibilidades de infestación: directa, mediante la ingestión de huevos embrionados; placentaria o prenatal; galactógena, por la leche materna, y a través de hospedadores paraténicos.⁵

Toxocara canis puede seguir el ciclo de vida convencional de un nemátodo ascárido, los huevos que entran al hospedero por vía oral, emergen como larvas en el estómago y penetran el epitelio. La larva entonces invade los tejidos blandos penetrando a los pulmones y regresando a través de la tráquea y esófago al tracto gastrointestinal. El ciclo completo de desarrollo se lleva a cabo solamente en perros y en especies cánidas relacionadas.¹

Las larvas que eclosionan del huevo penetran en la mucosa del intestino delgado, pasan a la circulación sanguínea e inician una larga migración extraintestinal de tipo denominado ascaroideo. A las 24-48 horas, llegan al hígado por vía portal. Algunas quedan retenidas en él a causa de las reacciones inflamatorias tisulares, otras continúan hacia los pulmones a través de la circulación, pasando por las venas hepática y cava posterior, el corazón derecho y la arteria pulmonar. Las L-2 representan el estadio infestante, que tras su llegada a los pulmones, pueden seguir dos vías. La migración traqueodigestiva, que sucede generalmente en cachorros menores de 6 semanas, se inicia al atravesar los alveolos y ascender por el árbol bronquial para ser deglutidas con las secreciones traqueobronquiales y pasar por el aparato digestivo. El desarrollo continúa en el estómago y finaliza en el intestino, mudando a L-5, y alcanzando el estado adulto a las 3-5 semanas postinfestación, con la consiguiente eliminación de

huevos en las heces. En los perros de más de 6 semanas, la mayor parte de las L-2 que llegan a los pulmones ya no pasan a la luz alveolar, sino que continúan en la circulación y son distribuidas por el organismo (migración somática). Las larvas invaden los pulmones, hígado, riñones, útero, glándulas mamarias, músculos esqueléticos, etc., permaneciendo concentradas en ellos durante meses y años, sin proseguir su desarrollo.

Esta migración somática, que cobra más importancia con la edad del perro, también tiene lugar cuando el hombre y otros hospedadores no habituales se infestan con *T. canis*.

En las perras a partir del día 40-42 de gestación, las larvas somáticas que permanecen en reposo se activan y movilizan hacia la placenta y glándula mamaria. El mecanismo principal de infestación de los perros por *T. canis* es el transplacentario y, en segundo término, el transmamario. Entre el 95.5% y el 98.5% de los ascáridos intestinales los adquieren los cachorros por vía placentaria.

El estado inmunitario y hormonal determina la reactivación de las larvas tisulares, pasando en su mayor parte a través de la placenta hacia el hígado del feto. Experimentalmente, se ha logrado la movilización de estas larvas empleando prolactina, hidrocortisona y oxcitocina en las perras.

Los perros, zorros y lobos pueden adquirir la infestación al depredar hospederos paraténicos (roedores, aves, etc), en cuyo caso tampoco se ha demostrado migración intraorgánica, de modo que el desarrollo de los adultos tiene lugar en el intestino en unas 4-5 semanas. Las perras que se reinfestan en la última fase de gestación o de la lactación, contribuyen directamente a la infestación de los cachorros lactantes y con ello, tras un período de prepatencia de 4-5 semanas, contaminan el medio⁵

En primates, la larva de *T. canis* puede sobrevivir en estado recluido al menos por nueve años.

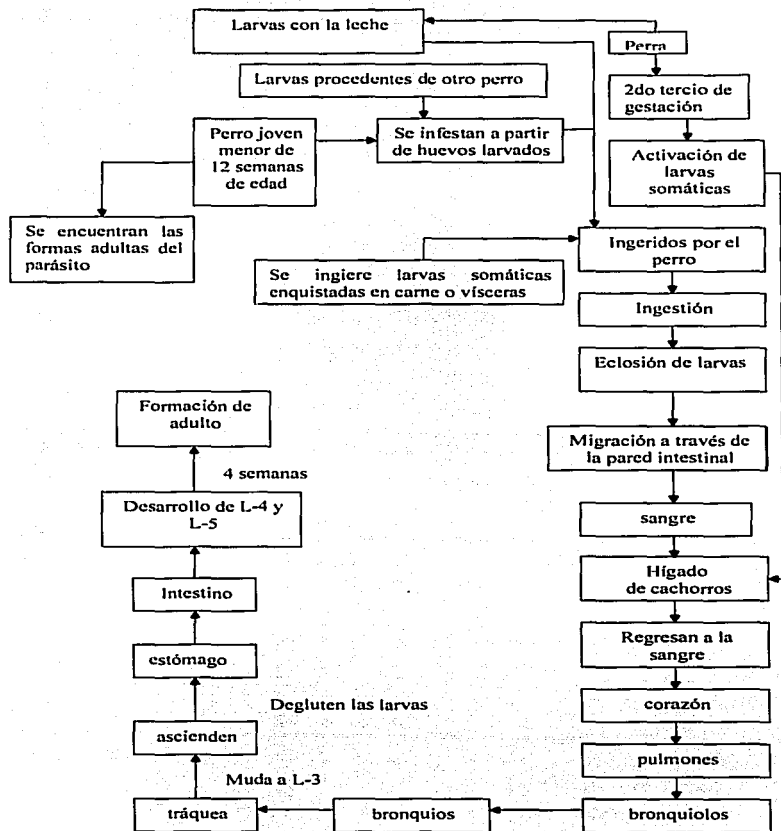
Si huevos de *T. canis* son ingeridos por hospederos no cánidos (por ejemplo humanos), las larvas penetran al epitelio mucosal pero tiempo después quedan en una fase de desarrollo restringido en el tejido.

No obstante, las larvas no muestran un crecimiento o diferenciación morfológica, y no pueden completar su ciclo de desarrollo, pero mantienen un metabolismo activo mostrando un comportamiento migratorio regularmente hacia músculo y tejido nervioso. Sus recorridos por todo el cuerpo en esta fase nos dan el estado clínico de la larva migrans visceral y ocular.¹

El estado de desarrollo restringido es un rasgo común entre los estadios larvarios del nemátodo ya sea en especies de vida libre o en especies parasitarias.

En hospederos muridos la larva se incuba rápido después de una inoculación oral de huevos infestantes, encontrándose un pico máximo en número de larvas dentro del lumen del intestino entre 4-6 horas. Las larvas entonces penetran rápidamente a todas las partes de la pared intestinal, especialmente en el íleon, con un pico máximo en número de larvas de entre 4-8 horas. Dentro de la pared intestinal las larvas acceden a los linfáticos aferentes y a las venas portales y migran hacia el hígado. El pico máximo en número de larvas y la mayoría del total de las larvas recuperadas, están presentes dentro del hígado alrededor de 2 días postinfestación.⁷

Fig 5. Ciclo biológico de *T. canis*²⁴



3.3.- PATOGENIA DE LA TOXOCARIASIS

Generalmente sólo se observan trastornos en los cachorros, ya que los adultos adquieren resistencia a las reinfestaciones.⁴

Si la infestación prenatal es muy intensa, pueden morir los cachorros entre las 48 y 72 horas post-parto.⁹ Las infestaciones moderadas en cachorros normalmente no cursan con manifestaciones apreciables en la fase de migración extraintestinal. En cambio, las intensas pueden manifestarse por tos, taquipnea, flujo nasal y síntomas nerviosos de intranquilidad, que podrían deberse a la acción irritativa de los adultos en el intestino, o bien a larvas erráticas en el Sistema Nervioso Autónomo (SNA). Paralelamente, se observan alteraciones digestivas como emisión de heces blandas, a veces diarreicas y con frecuencia se acompañan de abundante mucosidad y sangre. El abdomen está muy dilatado, con reacción dolorosa a la palpación y no es rara la eliminación de nemátodos con los vómitos o de forma espontánea con las heces. El raquitismo que se observa con frecuencia en los cachorros puede obedecer a invasiones intensas por ascáridos.⁵

El apetito es variado, oscilando entre muy voraz hasta la anorexia. Puede existir vómito con expulsión de gusanos por la boca; a veces también por el ano. Hay prurito anal, obstrucción intestinal. Igualmente puede haber debilidad y parálisis, convulsiones, rigidez muscular, etc. También puede haber peritonitis secundaria o perforación intestinal.

En cachorros muy jóvenes, se encuentra en la necropsia extensas lesiones hepáticas y pulmonares ocasionadas por la migración de larvas.

En cachorros de más edad, existen enteritis difusa con zonas de hemorragias, pudiendo localizarse los gusanos adultos en la luz del intestino delgado, en estómago y a veces en los conductos biliares.

Concomitantemente a la parasitación por *T. canis* pueden existir otras parasitosis o enfermedades metabólicas, bacterianas o víricas que compliquen el cuadro patológico.⁹

La variabilidad de las características clínicas en la toxocariasis puede estar relacionada con la resistencia de la larva, diferentes rutas de migración, la cantidad de antígeno secretor-excretor (TES) y las diferentes respuestas inmunes de los hospederos.¹²

Los daños provienen de las migraciones larvarias y de su localización en diferentes tejidos y órganos. Ejercen acción traumática, acompañada de la mecánica obstructiva a su paso por la pared intestinal, hígado, pulmones, con la ruptura de capilares y alveolos. Es difícil concretar la acción expoliadora, que es histófaga y sobre líquidos tisulares y lo mismo sucede con la inmunogénica, ejercida por medio de sustancias liberadas con las mudas de las larvas, que pueden tener efectos positivos o negativos en caso de reacciones anafilácticas.⁵

La habilidad de la larva en estado restringido de *T. canis* para sobrevivir dentro de los tejidos por muchos años, depende de mecanismos muy potentes de inmunoevasión y de mecanismos anti-inflamatorios operados por el parásito.

Las macromoléculas secretadas son las candidatas primarias como mediadores evasivos de la respuesta inmune.²³

3.3.1.- Los mecanismos de evasión empleados por nemátodos, hasta ahora conocidos son:⁽³²⁾

3.3.1.1.- Muda de componentes de la superficie de la cutícula.

Los componentes de 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.

3.3.1.2.- Enzimas antioxidantes.

Los radicales de 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 aspectos dañinos de sus productos.

Los nemátodos poseen cantidades relativamente altas de estas enzimas en comparación con las presentes en tejidos del hospedador, lo que sugiere que pueden ser

empleados adicionalmente para protegerse contra los radicales libres de oxígeno liberados durante la respuesta del hospedador.

3.3.1.3.- Resituación en los tejidos.

Allí donde la resistencia viene mediada localmente, como por ejemplo en el sitio de fijación de un parásito, la separación y resituación en un nuevo sitio puede ser una solución temporal para evitar la resistencia del hospedador.

3.3.1.4.- Camuflaje con moléculas de origen del hospedador o expresión de moléculas similares a las del hospedador sobre la superficie: imitación molecular.

La evolución paralela de hospedador y parásitos 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 adsorción 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.

3.3.1.5.- Inmunomodulación

Es la actividad de cualquier factor de un parásito que reduce la efectividad de la inmunidad del hospedador o, de alguna forma, modula los intentos del hospedador para expresar una respuesta potencialmente protectora.³²

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.²³

Las moléculas excretoras-secretoras contienen más del 40% de carbohidratos de los cuales la mayoría son N-acetilgalactosamina y galactosa que son unidades terminales de los grupos sanguíneos tipo A y B respectivamente.³¹

La superficie externa de la larva de *T. canis* está cubierta de glicocalix rico en carbohidratos llamada cubierta de superficie, una envoltura vellosa de 10 nm 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 nemátodos, tanto los parásitos como los de vida libre, y esto directamente significa que la evasión inmune puede ser una adaptación simple hacia el parasitismo.

Esta superficie externa implica fuertes cargas negativas, uniéndose a colorantes catiónicos tales como rojo de rutenio y ferritina cationizada, pero la identidad de este grupo de cargas está por determinarse.²³

La larva L-2 de *T. canis* excreta una mezcla compleja de glicoproteínas llamada antígenos excretorios-secretorios los cuales facilitan la migración de la larva e inhiben los efectos nocivos de la respuesta inmune del hospedador. Los TES activan la vía alterna del complemento y pueden también ligarse a 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 el 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 es dirigida en contra de los TES más que por la larva misma.³

La magnitud de la infestación humana es difícil de determinar: una alta proporción de niños son seropositivos a los anticuerpos contra *T. canis*, pero la infestación sintomática (larva migrans visceral y ocular) no son frecuentes. Desafortunadamente, los resultados de la infestación incluyen invasión del cerebro y ojos, y si la evidencia de la función neurológica dañada es correcta, la magnitud de la patología inducida por *T. canis* puede ser mucho mayor que la documentada actualmente.¹

La migración de la larva de *T. canis* dentro del cerebro de roedores y de niños está asociada con el deterioro de las funciones neuropsicológicas y con una conducta alterada. De cualquier manera, la severidad de los cambios de conducta causada por la migración de la larva dentro del cerebro se reduce si al ratón se le propician múltiples infestaciones más que en una dosis única equivalente.⁷

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

Numerosos casos humanos, incluyendo algunos fatales, involucran al ojo, cerebro, corazón y otros órganos, han sido reportados en la mayor parte del mundo. También es bien sabido, que la variedad de síntomas neurológicos, incluyendo convulsiones, delirio, parálisis y meningitis se desarrollan en algunos pacientes. La patogénesis de estas manifestaciones se ha mantenido desconocida. Algunos autores sugieren que puede haber una correlación entre estos síntomas neurológicos y la presencia de la larva de *T. canis* formando granulomas en el S.N.C.

Done *et al.* mostró que en una inoculación experimental en cerdos con huevos embrionados de *T. canis*, la presencia de la larva en el cerebro y en la médula espinal se asoció con signos nerviosos, los cuales son aparentemente provocados por la reacción del hospedero hacia la larva estática más que por el daño que resulta de la migración activa de la larva.⁴

En ratones sacrificados dentro de las primeras dos semanas de infestación se encuentra un número abundante de larvas en el hígado, pulmones y en bazo, también se encuentran en gran proporción en músculo y cerebro, considerando que en aquellos

ratones sacrificados en 1 a 6 meses después de la infestación, la mayor proporción de larvas se encuentra en el cerebro y en músculo.¹¹

3.4.- RESPUESTA DEL HOSPEDADOR

Una gran cantidad de larvas de *T. canis* permanecen dentro de los tejidos por mucho tiempo postinfestación. Esto indica una falta de adecuación del sistema inmune humano para intervenir en infestaciones por helmintos.¹⁸

El ataque inmune está dirigido hacia la capa externa de la larva de *T. canis* la cual es altamente antigénica por la alta glicosilación de los productos TES. La muda de esta capa externa pretende que el ataque por anticuerpos o células efectoras sea evadido.

Además, la mitad de los carbohidratos de la capa externa asemejan a la composición y estereoquímica de los epítomos del grupo sanguíneo de los mamíferos, lo cual puede explicar el incremento de las concentraciones de isohemaglutininas durante la toxocaríasis y otras infestaciones ascáridas.¹²

Los helmintos inducen una expansión de los linfocitos Th2. No está claro si esta respuesta que incluye aumento de la concentración de IgE total, eosinofilia y mastocitosis es importante en la respuesta inmunitaria protectora o si es responsable de la patología que se observa en algunas parasitosis o si, tal vez, interviene en los dos aspectos.

El papel de las células Th1 y Th2 ha llegado a constituir un dogma, con las afirmaciones categóricas que actualmente se manejan, en las que las respuestas mediadas por células Th1 acaban con parásitos intracelulares y respuestas Th2 eliminan los extracelulares. Según Allen y Maizels, sería importante no establecer afirmaciones

tan categóricas dentro del tipo de respuesta Th1 o Th2 y, en lugar de esto, considerar la existencia de mecanismos superpuestos implicados en la defensa inmunitaria mediante citocinas individuales y las rutas efectoras que son inducidas.³²

Consecuentemente con estas observaciones, el aumento del número de mastocitos y eosinófilos, así como las altas concentraciones de IgE e IgG4 son características de los individuos infestados por helmintos. Se desconoce si la respuesta Th2 tras la infestación por helmintos es beneficiosa para el hospedador o para el parásito. Esta cuestión merece gran interés debido a que la IgG4 puede bloquear los mecanismos mediados por IgE, aunque ambos isotipos están promovidos por el mismo tipo de citocinas Th2.³²

La eosinofilia y la elevada concentración de IgE, las cuales son regularmente apreciables en el síndrome de larva migrans visceral y de la toxocariasis encubierta, se deben a la actividad y al número elevado de las células T con un modelo TH2 en la secreción de citocinas (IL-4 e IL-5) y en la reducción de linfocitos TH1. La IL-4 amplifica la producción de IgE y la IL-5 facilita la diferenciación y la adhesión vascular de los eosinófilos.¹²

Fattah *et al* (1986) utilizó suero y larvas L-2 de *T. canis* de un paciente con VLM para observar la interacción de los eosinófilos con la cutícula de la larva. Ellos reportaron que los eosinófilos se unieron y se degranularon sobre la cutícula de la larva dentro de los primeros 40 minutos de introducción. Sin embargo, después de 3 horas, los eosinófilos se habían desprendido de la cutícula y no había daño alguno en la larva, la cual permaneció viva en el suero por al menos 1 semana después. Se demostró que

los eosinófilos intervienen en el ataque contra la larva de *Trichinella spiralis* pero estos fueron ineficientes contra la larva de *T. canis*.¹⁸

Jones RE. (1994) no encontró receptores para IgE en eosinófilos de ratones infestados con *T. canis* por lo que esas células son incapaces de matar a las larvas por mecanismos dependientes de IgE. Los eosinófilos obtenidos de lavados broncoalveolares de los pulmones de los ratones infestados con *T. canis* fueron caracterizados por citometría de flujo con respecto a anticuerpos citofílicos y sus receptores Fc de superficie. Estos eosinófilos fueron negativos para sIgM, sIgA, sIgE y FcεRII, pero fueron positivos para sIgG1 y FcγRII.³⁴

La demostración de que los eosinófilos y la IgE pueden matar parásitos *in vitro* ha provocado la extendida creencia de que estas respuestas Th2-dependientes son principalmente responsables de la destrucción de parásitos extracelulares. Sin embargo, *in vivo* tiene lugar una notoria contradicción. En la mayoría de las infestaciones por helmintos aparecen grandes cargas de parásito a pesar de las abundantes respuestas Th2 y la evidencia directa, *in vivo*, del papel de los eosinófilos, IgE o mastocitos para controlar la infestación por helmintos es escasa.³²

La cinética de la respuesta inflamatoria producida por un desafío parasitario ha sido estudiada por la infusión de larvas de nemátodos dentro de las glándulas mamarias de ovejas sensibilizadas, seguido de la recolección celular por lavado mamario en diferentes periodos. Dentro de las primeras 10 horas de infusión se observa un dramático flujo de eosinófilos y neutrófilos en el lumen de la glándula. Para el segundo día después de la infusión, los neutrófilos estuvieron completamente ausentes del lavado mamario, mientras que el número de

eosinófilos se incrementó regularmente hasta el día 5, acompañado por la acumulación de células T CD4+. Es posible que la primera respuesta, involucre el reclutamiento de neutrófilos y eosinófilos mediada por una reacción de hipersensibilidad de tipo 1, involucrando la secreción de factores quimiotácticos de eosinófilos y neutrófilos por desgranulación de estas células cebadas, mientras que el reclutamiento posterior de eosinófilos solamente es típico de una respuesta de tipo Th2 involucrando la producción de IL-5 y de factores quimiotácticos específicos de eosinófilos por sensibilización de células T.

Se ha observado la aparición de 2 ondas de infiltrados eosinófilos han sido observadas en algunos sistemas parasitarios que incluyen a *T. hydatigena* (Meeusen *et al.*, 1990) y *F. hepática* (Meeusen *et al.*, 1995) en ovejas y *A. suum* en cerdos (Eriksen, 1981). En infestaciones experimentales con *T. canis* en ratones deficientes de células T, la segunda onda de eosinófilos se demostró que es dependiente de células T, mientras que la primera onda no es dependiente de células T y que esta puede ser inducida directamente por los productos del parásito.³⁵

Parece ser que las células CD4+ son parte de un sistema efector complejo en el entrapamiento de larvas en el hígado.¹⁴ La relevancia biológica del fenómeno de entrapamiento de larvas en el hígado tanto en el hospedero como del parásito no ha sido determinada.²⁴

Las infestaciones por *T. canis* inducen una respuesta de hipersensibilidad de tipo retardada, así como un infiltrado eosinofílico en el tejido infestado, el cual persiste por

algunas semanas, además de la producción de IgE. Está demostrado que estas tres respuestas están bajo el control de las células Th2 CD4+. Estas células producen IL-4 e IL-5, donde su producción es estimulada por la interacción entre antígenos provenientes de la cutícula de la larva de *T. canis* presentadas por un macrófago u otra célula presentadora de antígeno (APC) y receptores de células T (TCR). Otras moléculas coestimuladoras están involucradas, y en un estudio realizado, se ha demostrado que la producción de IL-4 e IL-5 depende de cual factor coestimulador es detectado por la célula T.

Esto significa que es el genoma del hospedero, el cual determina si o no la IL-4 o la IL-5, o ambas, serán producidas cuando la célula TH2 se una con la APC apropiada. Por ejemplo, si un hospedero infestado está deficiente de moléculas de superficie coestimuladoras las cuales promueven la producción de IL-4. Entonces, la falta de IL-4 puede no estimular la parte apropiada de la respuesta inmune adecuada para generar una defensa efectiva. Si las células Th2 no se activan sin la presencia de las interleucinas apropiadas, entonces la producción de inmunoglobulinas por las células B y la proliferación de eosinófilos puede no ser estimulada.

Esta interdependencia entre la respuesta celular y humoral significan que la deficiencia o la mutación de un gen el cual codifica para una molécula puede reducir la efectividad de la respuesta inmune completa hacia una infestación en particular. Esto quizás explique la posibilidad del inmenso número de casos en donde la infestación por *T. canis* produzca una enfermedad crónica y no específica, y el número relativamente pequeño de casos donde el VLM resulta.¹⁸

La ausencia de síntomas alérgicos en las infestaciones por helmintos adquirida naturalmente, a pesar de la elevada concentración de IgE en suero y a la aparición de eosinófilos, puede deberse a las concentraciones extremadamente altas de IgG₄ bloqueante que están también presentes. Es interesante que el resultado clínico de las infestaciones por helmintos puede, además, depender de la proporción de IgE e IgG₄.³²

3.5.- GENES Y FAMILIAS DE GENES DE IMPORTANCIA EN *TOXOCARA CANIS*.

3.5.1.-Miosinas

Las miosinas de los nemátodos producen una fuerte respuesta inmune celular y humoral y estas han sido investigadas como candidatas para vacunas. La miosina es un motor ubicuo de actina basado en la motilidad de organismos eucariontes desde las amibas hasta los humanos. En nemátodos la miosina es esencial para la motilidad de la larva, pero cuando es liberada se convierte en el antígeno principal en *Brugia malayi*, *Onchocerca volvulus* y *Wuchereria bancrofti*.¹

La miosina proveniente de *Toxocara canis* es fuertemente antígenica como la de otros nematodos parásitos.⁴⁶

3.5.2.-Lectinas de tipo C.⁽¹⁾

La más prominente proteína secretada por la larva de *Toxocara canis* es una glicoproteína de 32 kDa llamada TES-32, misma que muestra una similitud en la secuencia con la familia de las lectinas de tipo C involucradas en el sistema inmune de mamíferos, tal como las selectinas, las cuales intervienen en la inflamación del tejido y otras como receptores de superficie celular. El dominio de reconocimiento del carbohidrato de la TES-32 muestra alrededor del 30% de similitud con las lectinas de mamíferos tal como el receptor de manosa en macrófagos.

La mayoría de los homólogos de mamíferos de la TES-32 están involucrados en la defensa inmune en contra de patógenos. *Toxocara canis* es entonces secretor de cantidades copiosas de proteína la cual imita un grupo esencial de proteínas inmunes.

Los roles biológicos de las lectinas son profundamente importantes para la supervivencia del parásito. Por ejemplo, las lectinas secretadas pueden actuar como competidores solubles con las selectinas de la superficie celular del hospedero bloqueando la adhesión leucocitaria en el endotelio vascular y prevenir los primeros pasos de la extravasación y de la infiltración del tejido las cuales son características de la respuesta inflamatoria.

3.5.3.-Cistein proteasa: Asparangil endopeptidasa

Las Asparangil Endopeptidasas (AEPs) o leguminasas son un nuevo grupo de cistein proteasas de las legumbres, esquistosomas y mamíferos con una pequeña similitud a las enzimas parecidas a la papaína. En esquistosomas adultos las AEP parecidas a enzimas son hemoglobinasas funcionales, las cuales sirven como una herramienta para el diagnóstico. Usando peptidos específicos que contienen asparangina, se ha encontrado que *Toxocara canis* expresa esta actividad.

3.5.4.- Olfactomedina

La Olfactomedina es una glicoproteína que se encontró primeramente en la mucosa de la matriz. cuya forma es una cubierta extracelular en el neuroepitelio olfatorio de las ranas.

La expresión de esta proteína por *Toxocara canis* es particularmente interesante en cuanto a la cantidad de mucinas extracelulares en la biología del parásito. Más

recientemente, homólogos de la olfactomedina han sido reportados en el cerebro de mamíferos y en proteínas relacionadas reconocidas en *Caenorhabditis elegans*.

3.5.5.- Acuaporina y prohibitina

La Acuaporina es una proteína que forma el canal de agua, la alta presión hidrostática contenida en los nemátodos depende de las proteínas como lo acuaporina. La Prohibitina es un inhibidor del ciclo celular, la cual puede ser relevante en cuanto a la larva de *Toxocara canis* en el desarrollo restringido.

3.6.- MANIFESTACIONES DEL SÍNDROME DE LARVA MIGRANS VISCERAL

La larva migrans visceral (VLM) humana es un síndrome resultado de la migración prolongada de la larva de nemátodo a través de órganos internos en el hospedero. El síndrome de VLM usualmente ocurre en niños (1 a 4 años de edad) que tienen pica, lo cual quiere decir que ellos ingieren huevos embrionados de *T. canis* adquiriendo la infestación¹⁷ y se presenta como un síndrome clínico con una eosinofilia crónica¹⁶, fiebre, tos y broncoespasmos, dolor abdominal, y elevados niveles de γ GT¹⁴.

La hepatoesplenomegalia, linfadenitis y signos broncopulmonares son predominantes. Infestaciones severas pueden causar miocarditis o fallas respiratorias. La epilepsia está asociada con hallazgos positivos en pruebas serológicas para *Toxocara*, pero la pica es también común en pacientes con epilepsia. Otros autores mencionan que la infestación por *T. canis* no causa la epilepsia porque se encontró que la infestación no ocurrió más frecuentemente en niños con epilepsia de una etiología desconocida que en niños cuya epilepsia fue de etiología establecida.¹⁷

El síndrome de larva migrans visceral está usualmente, pero no invariablemente, asociado con una pronunciada hipergamaglobulinemia de tipo IgE, eosinofilia y una incrementada concentración de isohemaglutininas de tipo A y B.¹²

Numerosos casos humanos, incluyendo algunos fatales han sido reportados en todo el mundo e involucran al ojo, cerebro, corazón y otros órganos. También es bien sabido que la variedad de síntomas neurológicos, incluyendo convulsiones, delirio, parálisis y

meningitis se desarrollan en algunos pacientes. La patogénesis de estas manifestaciones se ha mantenido desconocida. Sugieren algunos autores que puede haber una correlación entre estos síntomas neurológicos y la presencia de la larva de *T. canis* formando granulomas en el Sistema Nervioso Central (SNC).⁴

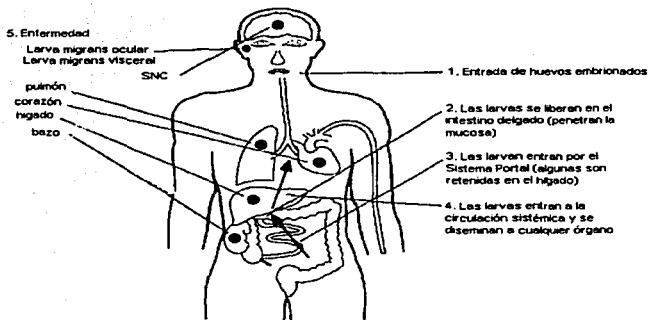
Otras larvas ascaridoideas, incluyendo *Toxocara cati* y *Baylisascaris procyonis* han sido incriminadas en casos humanos adicionales de VLM, pero la evidencia serológica sugiere que *T. canis* continua siendo la causa predominante mundial de VLM humana.¹⁶

Hay casos reportados de humanos con síntomas neurológicos agudos quienes murieron y se encontró a la autopsia que tenían larvas de *T. canis* en el cerebro.¹⁷

En el VLM la aparición de urticaria y granulomas son comunes, monoartritis y evidencia de vasculitis en venas pequeñas pueden estar presentes.¹³

Después de la ingestión de huevos infestantes de *T. canis* por los humanos, la larva se libera en el estómago y migra al interior de la mucosa en la parte superior del intestino delgado y penetra vía sangre y vasos linfáticos a través del cuerpo, encontrándose larvas somáticas en muchos órganos. El hígado es un importante sitio de control de la migración de la larva.¹⁴ (Figura 6)

Fig 6- Migración de la larva de *T. canis* a través del cuerpo



El nivel general de la invasión por la larva de *T. canis* comienza en un nivel elevado y decrece rápidamente durante los primeros 10 días de infestación. Esto puede ser debido al ataque de la respuesta inmune del hospedador y a la destrucción de cierta proporción de larvas. El número de larvas encontradas en el hígado decrece de la misma manera, mientras que el número de larvas encontradas en el SNC se incrementa debido al curso de la infestación. Esto puede ser debido a que la respuesta inmune es mucho menos agresiva en el tejido neuronal, ya que puede haber riesgo de dañar al cerebro o a la médula espinal. También la larva se encuentra en alta proporción en la carcasa.¹⁸

Histológicamente el típico granuloma por *Toxocara* se describe como un núcleo que lo constituye la larva, que está rodeada de leucocitos eosinófilos en desintegración y tejido conjuntivo con alteración fibrinoide intensa, con un halo periférico de células epiteliales y macrófagos.⁸

3.7.- MANIFESTACIONES DEL SÍNDROME DE LARVA MIGRANS OCULAR

Los nemátodos oculares fueron primeramente observados bajo el microscopio en 1950 durante investigaciones de ojos extirpados. se reporta que eran larvas L-2 de *Toxocara canis*.¹⁰

El síndrome de larva migrans ocular fue descrito hace 40 años después del análisis de 47 ojos extirpados por retinoblastoma: 23 tuvieron larvas o residuos hialínicos en lesiones granulomatosas eosinofílicas, los cuales fueron identificados como *T. canis* RF3-4.

Esto tiende a ocurrir en adolescentes y adultos, lo cual no está asociado con el contacto con cachorros y está raramente acompañado por eosinofilia o en una concentración sobresaliente de IgE. Los anticuerpos séricos contra los productos TES son pocos o ausentes y pueden ser evidentes solo en biopsias del humor vítreo.¹²

La ruta de migración de la larva hacia el ojo es desconocida. Se piensa que ocurre en tres formas: 1) a través de las arterias 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 (CSF) hacia la coroides.

Los granulomas eosinofílicos son el hallazgo más frecuentes en la toxocariasis ocular humana. No obstante, la etiología de estos granulomas es desconocida, Watzke reportó

que las larvas dentro del granuloma siguen siendo móviles después de la muerte del hospedero.¹⁹

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 usualmente situados en la mácula o en el segmento posterior y puede incluir uveítis, papilitis, corioretinitis o endofalmitis.¹²

Las lesiones han sido descritas en la retina y en el iris. Esto es a través de que bajas dosis de huevos infestantes 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.

Estas larvas errantes pueden, eventualmente, terminar en los capilares de la retina. Si estas son muy largas para los capilares de la retina, estas horadarán la pared de los vasos creando lesiones y la pérdida de la visión.¹⁸

La toxocariasis ocular puede tener una prueba de ELISA negativa debido a la baja concentración de anticuerpos en esta presentación de la enfermedad.²⁰

3.8.- MANIFESTACIONES DE LA TOXOCARIASIS ENCUBIERTA

Cuadro clínico muy frecuentemente no reconocido, mal diagnosticado ya que transcurre enteramente en modalidad subclínica, apenas identificable por las pruebas serológicas con un sinnúmero de síntomas inespecíficos.⁸

La toxocariasis encubierta ha sido descrita con una serie de síntomas que son inespecíficos, pero juntos forman una enfermedad reconocible. Los síntomas inducen dolor abdominal, anorexia, sueño y comportamiento alterado, adenitis cervical, ronquera, problemas respiratorios¹⁸, dolor de cabeza asociado con una normal o ligeramente elevada eosinofilia.²⁰ La toxocariasis encubierta es tal vez más frecuente que el VLM y el OLM. Los síntomas asociados con el VLM y OLM son fáciles de identificar si se examinan correctamente. Sin embargo, los síntomas de la toxocariasis encubierta no se manifiestan por sí mismos en forma característica o específica.¹⁸

El término de toxocariasis encubierta se refiere a un síndrome menos específico que fue reconocido por el uso extenso de ensayos de serodiagnóstico para infestaciones por *Toxocara*.

La eosinofilia es menos frecuente y menos pronunciada que en el VLM y los títulos de anticuerpos contra *Toxocara* también son menores.¹³

El grupo de pacientes sin manifestaciones clínicas y serología positiva pueden ser pacientes con toxocariasis encubierta, quizá, los anticuerpos detectados pertenecen a

infestaciones residuales, subsecuente a la muerte de la larva, los anticuerpos solo desaparecen después de un periodo largo.²⁰

4.- DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LA TOXOCARIASIS

4.1.- DIAGNÓSTICO

En los animales se basa en la demostración de huevos en las heces. Sólo los síntomas pulmonares que afectan a toda la camada 1-2 semanas después del nacimiento hacen sospechar la infestación. Con frecuencia, los cachorros eliminan nemátodos 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 nemátodos en el intestino delgado, confirman el diagnóstico.⁵

El hallazgo de laboratorio más significativo es la eosinofilia intensa, que coincide con la fase de migración larvaria y que fácilmente supera el 50% en la primera semana de vida. La actividad enzimática de GLDH y ALT aumentan notablemente durante esta fase de migración, con niveles máximos a los pocos días del nacimiento.⁵

Ya que la larva de *T. canis* no se desarrolla hacia la etapa adulta en humanos y los síntomas de la larva migrans visceral no poseen características específicas, el diagnóstico definitivo vía examinación de deposiciones es imposible. La biopsia no es aceptada para los pacientes y es también impráctica porque puede ser requerido el corte múltiple del tejido para encontrar las larvas de *T. canis*.

Por eso los métodos de inmunodiagnóstico son generalmente los procedimientos principales para las infestaciones por *T. canis*.²¹

Las técnicas serodiagnósticas son herramientas confiables para detectar anticuerpos y antígenos circulantes. El valor de las herramientas de

inmunodiagnóstico en seroepidemiología depende de los valores predictivos positivos en el sistema de prueba usado. Este valor a su vez depende del predominio de las infestaciones en la población y en la especificidad del método utilizado. Las larvas de *T. canis* en estado infestante producen antígenos secretores-excretorios (TES) o extractos larvarios. Estos productos, que *in vitro* se mantienen en la etapa de L-2, son utilizados para ELISA con una alta especificidad reportada del 92-95% y de una sensibilidad del 73-78% en títulos diagnosticados de 1:32. ELISA indirecta se utiliza para determinar la presencia de anticuerpos totales de tipo IgG, IgE e IgM hacia TES; además de ser un método específico, sensible y estable.^{14,21,23}

Los tipos de TES que actualmente se reconocen son los siguientes: ⁽²³⁾

TES-26

El gen para TES-26 es uno de los más altamente expresados en el estado de larva infestante. Es una proteína funcional fijadora de fosfatidiletanolamina.

TES-32

El TES-32 es la proteína (lectina-I de tipo C) más abundante de los productos secretados por el parásito. Y se conoce por reactividad con anticuerpos monoclonales que también se expresa en la matriz cuticular de la larva del parásito.

Las lectinas de tipo C son azúcares que unen proteínas que intervienen en eventos clave en la inflamación cuando las células y moléculas nocivas son el foco

sobre sitios de invasión. Las lectinas del hospedero son requeridas para precisar señales de carbohidratos "peligrosos" hacia la iniciación de la inflamación alrededor del parásito y la liberación de esta lectina parasitaria puede bloquear este proceso.

TES-45 y TES-55

Son dos glicoproteínas que ya han sido identificadas a nivel genético, pero la evidencia que se ha obtenido es de que pueden ser también lectinas.

TES-70

Es una glicoproteína relativamente abundante, secretada, que recientemente se encontró que es un nuevo tipo de lectina C. (lectina-4 de tipo C)

TES-120

Es el componente principal de la capa superficial de la larva de *T. canis*. Y se identificó como una mucina.²³ Ha sido identificado como el componente principal de la capa superficial de la larva de *T. canis*. TES-120 es la proteína más abundante sintetizada por la larva, la cual preferentemente incorpora Serina y Treonina. La identificación de esta mucina en la superficie puede explicar la propiedad de no-adhesividad del parásito. Las mucinas están estrechamente relacionadas con el estatus de adhesión celular, tanto a través de las cargas electroestáticas como por los efectos estéricos de largas cadenas que sobresalen de la superficie.

Esta mucina interactúa con las células del hospedero, tal vez a través de estructuras oligosacáridas que están relacionadas con carbohidratos de mamíferos, de manera que bloquea la extravasación, inflamación y la activación de la respuesta en la infestación. Estas actividades están siendo ampliamente investigadas como una ruta para entender la habilidad del parásito para sobrevivir por años en los tejidos de los hospederos mamíferos.³³

TES-400

Puede ser un componente análogo a los proteoglicanos de mamíferos tales como Agrecan y Brevican los cuales contienen dominios de lectina dentro de estructuras altamente glicosiladas.²³

De Savigny *et al.* (1979) concluyó que ELISA TES-Ag es un método sensible y específico para el diagnóstico de la larva migrans de *T. canis*. El uso de ELISA TES-Ag para detectar anticuerpos contra *T. canis* no requiere la preabsorción de suero con antígenos de huevos embrionados de *Ascaris suum*.²¹

Se ha reportado que no existen reacciones cruzadas entre el TES-Ag y el suero de individuos infestados con *Ascaris lumbricoides*, *Entamoeba coli* o *Giardia lamblia*. También reportó que sueros de humanos infestados con *Trichuris* reaccionaron con TES-Ag. Se consideró que estos sujetos probablemente habían estado expuestos a huevos de *T. canis*.²¹

La prueba de ELISA TES-Ag tiene que ser interpretada con precaución porque los productos TES contienen derivados parasitarios tales como sustancias sanguíneas del

grupo A y B humanas, lo cual puede complicar la interpretación de la prueba cuando el suero humano con isohemaglutininas anti-A o anti-B es examinado.

La prueba de anticuerpos isotipo específicos (IgE) hacia TES sin la interferencia de anticuerpos IgG es usada, pero la especificidad y sensibilidad son moderadas. Este método puede ser utilizado como complemento para la detección de IgE específica.

No todos los pacientes con elevados niveles de IgE total demuestran IgE anti-*Toxocara* específica, no obstante, la presencia de IgE específica es probable que esté asociada a una infestación activa.

Otros métodos para el diagnóstico del síndrome de larva migrans son: el de "Anticuerpos Monoclonales" (IgM), los cuales reconocen epítopos específicos de antígenos de Excreción-Secreción; o bien, el uso del método específico de "Difusión en gel de Ouchterlony" usando extractos de gusanos adultos.

Los métodos anteriormente descritos, son empleados como diagnóstico presuntivo del síndrome, siendo necesaria la confirmación de los resultados.

Por otro lado, parece prometedor como prueba diagnóstica, el ensayo de la "Reacción en Cadena de la Polimerasa" (PCR), la cual detecta DNA de *T. canis* en el tejido hepático de ratones experimentalmente infestados.

El Western blot (prueba específica para IgE) para el inmunodiagnóstico de humanos con toxocaríasis es utilizada con alta sensibilidad y especificidad anulando los

problemas de reactividad cruzada con sueros positivos a otras enfermedades helmínticas, por lo que se recomienda como complemento de la técnica de ELISA para la confirmación de resultados.¹⁴

La caracterización molecular de las proteínas centrales PG (proteoglicanos) de *T. canis* y la utilización de estas proteínas como antígenos servirá para estudios inmunodiagnósticos en la toxocariasis humana. Las proteínas centrales PG recombinantes de *T. canis* específicamente reaccionan con suero de pacientes con toxocariasis, sin embargo no es posible distinguir entre *Toxocara canis* y *Toxocara cati*. El antígeno recombinante no reacciona con muestras de sueros con filariasis, ascariasis, angiostrongyliasis y gnathostomiasis.²³

Las pruebas serológicas para OLM tienen una muy baja sensibilidad, probablemente como resultado del poco peso de la larva y los largos periodos entre la infestación y las pruebas. La solución definitiva para el diagnóstico podría ser la demostración de anticuerpos en el humor vítreo utilizando la prueba de ELISA TES-Ag o la micro prueba de Ouchterlony la cual requiere solo pequeñas cantidades de fluido ocular (10-20 µl).¹⁴

Una prueba definitiva para la toxocariasis encubierta no existe. Títulos anti-*Toxocara* positivos en presencia de debilidad crónica, malestar, dolor abdominal o signos alérgicos acompañados por eosinofilia y la ausencia de respuesta hacia los alérgenos soporta el diagnóstico de la toxocariasis encubierta.¹³

4.2.- TRATAMIENTO

En perros son útiles frente a *T. canis* las sales de piperacina (adipato, citrato, difosfato) que son bien toleradas por los cachorros, lo que facilita el tratamiento de infestaciones prenatales: su aplicación a dosis de 110-200 mg/kg, tiene buena eficacia frente a los adultos intestinales, pero menor frente a los estadios inmaduros.

El Pamoato de pirantel (5 mg/ kg) es eficaz incluso en cachorros con toxocaras juveniles en intestino. La dosificación repetida con concentraciones menores, es más eficaz que la concentración alta en una sola dosis y prácticamente como adulticida.

El Nitroscanate micronizado en dosis única de 25-50 mg/kg, es activo también contra larvas y adultos de otros nemátodos intestinales y céstodos del perro, siendo bien tolerados por cachorros y perras gestantes.

El Mebendazol controla bien los ascáridos (dos veces al día durante 2-3 días) También es activo el Levamisol por vía intramuscular (7.5 mg/kg) o por vía oral (10 mg/kg).⁵

Existen otros como Albendazol. (25 mg/kg oral 3 a 5 días), Clorhidrato de tetramisol (1 ml al 1%/kg sc), Diclorvos (30 mg/kg oral), Febendazol (50 a 100 mg/kg oral 3 días), Oxibendazol (300 mg/kg/1 toma oral).⁹

Tabla 2. Grado de eficacia de fármacos modernos anti-nematódicos.⁵²

Año de introducción al mercado	Fármaco	Actividad antinematódica	Actividad adicional antiparasitaria
Tetrahidropirimidinas			
1966	Pirantel	<i>Ancylostoma</i> , <i>Ascaris</i> , <i>Enterobius</i> , nemátodos de caballo xx, <i>Necator</i> , nemátodos de cerdo xx, nemátodos de rumiantes xx, <i>Trichinella</i> , <i>Trichostrongylus</i>	Céstodos de caballo x
	Oxantel	<i>Trichuris</i>	
	Combinación de Oxantel/Pirantel	<i>Ascaris</i> , <i>Enterobius</i> , anquilóstomos, <i>Trichuris</i>	
	Morantel	Nemátodos de rumiantes xx	
Imidazotiazoles			
1965	Tetramisol	Nemátodos de cerdo xx	
	Levamisol	<i>Ascaris</i> , anquilóstomos, <i>Strongylus</i>	<i>Angiostrongylus (A) malaysiensis (xE)</i>
	Butamisol	Nemátodos de cerdo xx, nemátodos de aves de corral xxx, nemátodos de rumiantes xx	
Bencimidazoles			
1961	Tiabendazol	<i>Capillaria</i> , nemátodos de caballo xx, nemátodos de cerdo x, <i>Strongyloides</i> , <i>Trichostrongylides</i> xx	<i>A. cantonensis</i> , <i>A. malaysiensis</i> , larva migrans cutánea, <i>Dracunculus medinensis</i>
	Cambendazol	Nemátodos de caballo xxx, nemátodos de cerdo x, <i>Strongyloides</i> , <i>Trichostrongylides</i> (ganado xx, ovejas xx)	
1966	Parbendazol	Nemátodos de cerdo, <i>Trichostrongylides</i> xxx	
1973	Oxibendazol	Nemátodos de caballo xxx, <i>Trichostrongylus</i> xx	
1971	Mebendazol	<i>Ancylostoma</i> , <i>Ascaris</i> , <i>Capillaria</i> , <i>Enterobius</i> , nemátodos de caballo xxx, <i>Necator</i> , <i>Trichinella</i> , <i>Trichostrongylides</i> xx,	<i>A. malaysiensis (xE)</i> , <i>Dracunculus medinensis</i> , <i>Giardia</i> , tremátodos, céstodos

		<i>Trichuris</i>	
1971	Flubendazol	<i>Enterobius</i> , nemátodos de cerdo <i>xx</i>	Céstodos
	Fenbendazol	Nemátodos de caballo <i>xxx</i> , nemátodos de cerdo <i>xx</i> , <i>Trichostrongylus xxx</i>	Larva de <i>Toxocara canis (sE)</i> , céstodos, tremátodos.
1975	Oxfendazol	Nemátodos de caballo <i>xxx</i> , <i>Trichostrongylides xxx</i>	Larva de <i>Toxocara canis (sE)</i> , céstodos
1979	Albendazol, Ciclobendazol	<i>Ancylostoma</i> , <i>Enterobius</i> , <i>Necator</i> , <i>Trichinella</i> , <i>Trichostrongylides xxx</i> , <i>Trichuris</i>	Larva migrans cutánea, <i>Giardia</i> , céstodos y tremátodos
Profármacos benzimidazólicos			
1978	Febantel	Nemátodos de caballo <i>xxx</i> , nemátodos de cerdo <i>xx</i> , <i>Trichostrongylides xxx</i>	
1970	Tiofanato	Nemátodos de cerdo <i>xx</i> , <i>Trichostrongylus xxx</i>	
Avermectinas y Milbemicinas			
1973	Milbemicina	Nemátodos de perro	Filarias, ectoparásitos
1985	Abamectina	Nemátodos de rumiantes	Filarias, ectoparásitos
1980	Ivermeetina	Nemátodos de caballo <i>xxx</i> , nemátodos de cerdo <i>xx</i> , nemátodos de rumiantes <i>xxx</i>	Filarias, ectoparásitos
	Milbemicin-oxima	Nemátodos de perro <i>xxx</i> , nemátodos de rumiantes <i>xxx</i>	Filarias, ectoparásitos
1992	Moxidectina	Nemátodos de rumiantes <i>xxx</i>	Filarias, ectoparásitos
1993	Doramectina	Nemátodos de rumiantes <i>xxx</i>	Ectoparásitos
1996/97	Eprinomectina	Nemátodos de rumiantes <i>xxx</i>	Ectoparásitos
2000	Selamectina	Nemátodos de perro	Filarias, ectoparásitos

x baja eficacia, xx moderada eficacia, xxx alta eficacia, sE eficacia experimental

La aplicación simultánea a la madre de 500 µg/kg de Ivermectina, los días 38, 41, 44 y 47 de gestación, tuvo una eficacia del 98% contra las larvas de *T. canis*; así mismo, la aplicación de 1 mg/kg el día 20 de gestación, seguido de dosis de 50 µg/kg, 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, costosos y la colaboración estrecha del propietario, lo cual no siempre resulta fácil en la práctica.⁵

Sin embargo, la mayoría de los pacientes humanos se recuperan sin terapia. El tratamiento con agentes antihelmínticos está indicado para complicaciones severas, tales como complicaciones cerebrales, pulmonares y cardíacas. Ya que el tratamiento con antihelmínticos puede generar una reacción inflamatoria aumentada, los corticosteroides algunas veces son utilizados con o sin terapia específica.¹³

Como los signos y síntomas de los varios síndromes de la toxocariasis resultan de respuestas inflamatorias crónicas y agudas dirigidas hacia los productos excretores-secretorios y no necesariamente de las larvas, el tratamiento está inicialmente dirigido hacia los síntomas, por ejemplo, los broncodilatadores, antihistamínicos y ocasionalmente esteroides sistémicos están indicados.¹⁰

El tratamiento de la toxocariasis encubierta debe de ser individualizado. La decisión del tratamiento depende de la edad del paciente, de la severidad de los síntomas y de la certeza del diagnóstico.¹³

En pacientes con OLM, el tratamiento no requiere una terapia con antihelmínticos pero se recurre a corticosteroides locales y la cirugía.¹³

Los agentes antihelmínticos utilizados para complicaciones severas de VLM tales como complicaciones cerebrales, pulmonares y cardíacas son los siguientes: Dietilcarbamazina, Tiabendazol, Albendazol y Mebendazol. Las respuestas terapéuticas de los pacientes con VLM son evaluadas clínicamente y por el conteo de eosinófilos en sangre periférica. Los títulos de anticuerpos contra *Toxocara* no reflejan la respuesta al tratamiento.¹³

Varios fármacos potentes con amplio y elevado espectro contra nemátodos adultos están actualmente disponibles para el tratamiento de perros y gatos. Sin embargo, las dosis comercialmente recomendadas no han resultado en la eliminación total de los estadios larvales de *Toxocara spp.* en el tejido, los cuales son la principal fuente de transmisión vertical. Uno de los factores que se puede considerar en la variación de la eficacia anti-larval de los compuestos antihelmínticos es la posibilidad de la quimiosusceptibilidad de las larvas de *Toxocara* pueda variar durante su parasitismo en hospederos paraténicos.

De hecho, las larvas migratorias durante el curso de migración en la primera o segunda semana de infestación han sido más susceptibles a la acción del fármaco que aquellas larvas ya establecidas en el músculo y cerebro.²⁵

Los mecanismos inmunológicos del conjunto de células Th1 y Th2 humanas pueden proporcionar nuevos medios de terapia en infestaciones por helmintos, incluyendo la inhibición selectiva de la actividad de células Th2 y/o la amplificación de respuestas de tipo Th1.¹⁴

Existe una dicotomía entre ambas subpoblaciones de Th, ya que las citocinas Th2 (IL-4, IL-10) inhiben la actividad funcional de Th1 y viceversa, las citocinas Th1 (IFN- α) inhiben la actividad Th2. Se han observado en los tratamientos de desensibilización con veneno de avispa en los que se ha descrito una disminución en la producción de citocinas Th2 (IL-4, IL-5), paralelo a un aumento en la secreción de citocinas tipo 1 (IFN- α).³⁶

4.2.1.- Antihelmínticos utilizados

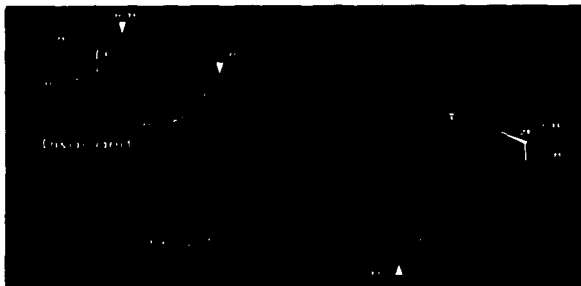
Los productos antiparasitarios empleados en el siguiente trabajo son del grupo de las lactonas macrocíclicas. Representan un grupo de fármacos extremadamente potentes como antinematódicos, insecticidas y acaricidas. Estos a su vez se dividen en dos subgrupos que son: avermectinas y milbemicinas.⁴⁹

Históricamente, las milbemicinas fueron descubiertas en 1973 como compuestos insecticidas y ascaricidas como protección de las cosechas por los científicos de Sankyo, y su nombre refleja lo siguiente: *mylthe* ácaro + *myc* hongos + *in* producto farmacéutico. Sin embargo, la potencia total de este grupo químico no fue empleado sino hasta el descubrimiento de la actividad acaricida, insecticida y antinematódica de las avermectinas cuyo nombre refleja: *a* sin + *verm* gusano + *ect* ectoparásito + *in* producto farmacéutico.⁵¹

Dentro de las avermectinas tenemos a la Ivermectina, Doramectina, Eprinomectina y Selamectina y dentro de las milbemicinas tenemos a la Milbemicina y a la Moxidectina.

Las lactonas macrocíclicas son compuestos lipofílicos de peso molecular moderado, las cuales subsecuentemente son absorbidas en el torrente sanguíneo y distribuidas ampliamente a través de los tejidos del cuerpo de los animales tratados oralmente, subcutáneamente o tópicamente. En general, siguen un equilibrio, la grasa es el reservorio principal de estos fármacos, pero niveles considerables son encontrados en el hígado, en donde las lactonas macrocíclicas son metabolizadas, conjugadas y excretadas en la bilis. La excreción en la orina es baja, generalmente menos del 3% de la dosis, y el resto se elimina por heces.³⁹

Fig 7 Estructura química general de las lactonas macrocíclicas.⁴⁰



Su estructura química básica consiste en una lactona macrocíclica, una adición espirocetal fusionada en el C-17 al C-19 con un radical en el C-25 y una unidad de hexahidrobenzofurano fusionada en el C-2, C-7 y C-8. (Figura 7). Las avermectinas incluyen un azúcar (oxi-disacárido) sustituida en la posición C-13 mientras que para las milbemicinas esta posición no está sustituida. Diferentes grupos alquilo pueden ser sustituidos en la posición C-25 de ambos subgrupos.

Las lactonas macrocíclicas tienen actividad de amplio espectro en contra de un elevado rango de nemátodos y artrópodos y esa efectividad en contra de endoparásitos y ectoparásitos les han dado el nombre de endectocidas.⁴⁰

Dentro de esta clasificación de las lactonas macrocíclicas utilizamos dos avermectinas (Ivermectina y Doramectina) y una milbemicina (Moxidectina) que a continuación se describen:

4.2.1.1.- Avermectinas

Las avermectinas están disponibles en los Estados Unidos de América para el uso de salud animal. Todas son productos de la fermentación del *Streptomyces avermiltis*. Durante la fermentación, el actinomiceto produce 4 pares de homólogos cercanamente relacionados. Estos pares son además subdivididos dentro de los principales componentes, A1a, A2a, B1a y B2a y de los componentes menores, A1b, A2b, B1b y B2b.

La avermectina B1a sirve de base para el análogo semisintético 22,23-dihidro el cual ocupa al menos el 90% del componente activo de la Ivermectina comercial. El otro componente de la Ivermectina es el B1b, en cantidades no mayores al 10%.

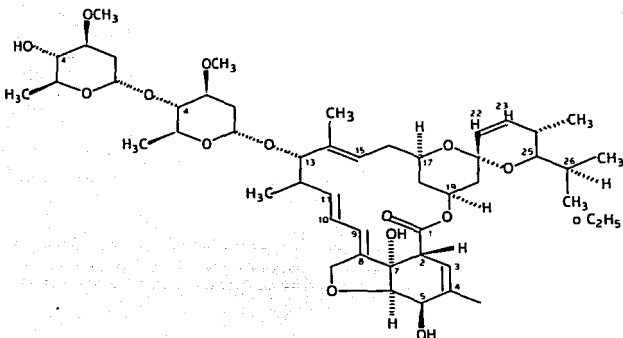
La Doramectina fue producida por los laboratorios de Pfizer como resultado de una mutación inducida del *Streptomyces avermiltis*. Después de la mutación, el actinomiceto produce un rango de avermectinas, una de las cuales es la Doramectina.⁴⁵

4.2.1.1.1.- Ivermectina

La Ivermectina fue la primera lactona macrocíclica que se desarrolló para uso comercial. Esta es una mezcla de dos Avermectinas que fueron inicialmente producidas de forma natural por la fermentación del *Streptomyces avermiltis* y entonces modificada químicamente en ciertas posiciones en la posición 5 del componente benzenofurano y en la posición 22, 23 y 26 del sistema espirocetal (Figura 8)⁴⁰

La Ivermectina revolucionó la quimioterapia antiparasitaria en animales destinados a la alimentación, quimioterapia en gusanos del corazón en animales de compañía y quimioterapia en *Onchocerca volvulus* en humanos.⁴⁷

Fig 8. Estructura química de la Ivermectina⁴⁰



Los dos componentes de la Ivermectina son el 22,23- dihidroavermectina B_{1a} y el 22,23-dihidroavermectina B_{1b}. Ambos tienen tres hidrógenos agregados, cada uno en la posición 22, 23 y adicionado al oxígeno en la posición 5. Además, la Avermectina B_{1a} tiene un C₂H₅ adicionado en la posición 26, mientras la Avermectina B_{1b} tiene un CH₃ adicionado en la posición 26.

La Ivermectina es una mezcla que incluye 80% del componente 22,23-dihidroavermectina B_{1a} y 20% del componente 22,23-dihidroavermectina B_{1b}.⁴⁰

- CLASE TERAPÉUTICA²⁶⁻³⁰: Endectocida

- ORIGEN: MERCK
- DESCRIPCIÓN²⁶⁻³⁰: Polvo blanco, muy poco soluble en agua, poco soluble en ciclohexano, altamente soluble en metil etil cetona, propilenglicol y polietilenglicol.

- FORMAS FARMACEUTICAS DE USO²⁶⁻³⁰: Solución inyectable subcutánea, Solución tópica de aplicación pour on, Solución oral, pasta oral, tabletas, comprimidos y bolo ruminal. Presentaciones combinadas: Solución 1% con clorsulon al 10% inyectable; solución 3% con closantel suspensión 4% inyectable. La solución utilizada en este trabajo fue de ivermectina al 1% con 60% de glicerinformal y 40% de propilenglicol como diluyentes.

- ACCION FARMACOLÓGICA²⁶⁻³⁰: Antiparasitario de amplio espectro contra endoparásitos y ectoparásitos de bovinos, equinos, ovinos, caprinos, cerdos, caninos y felinos. Hay referencias de uso en camélidos.

La Ivermectina potencializa la acción inhibitoria neuronal en el cordón nervioso central de los parásitos que es mediada por el ácido gama amino butírico (GABA). Estos medicamentos estimulan la liberación presináptica del GABA y/o su conexión a los receptores post sinápticos. La activación de los receptores GABA érgicos abre el canal del cloro, hiperpolarizando la neurona y por lo tanto, inhibiendo la transmisión nerviosa. Esta acción resulta en parálisis flácida y la eliminación del parásito.

- INDICACIONES DE USO, DOSIS RECOMENDADAS, VIAS DE APLICACIÓN²⁶⁻³⁰: 200µg/kg de peso corporal para bovinos, ovinos y caprinos (inyección subcutánea); 200 µg/kg de peso corporal para equinos (pasta oral); 300

µg/kg de peso corporal para cerdos (inyección subcutánea); 500 µg/kg de peso corporal para bovinos (solución tópica); bolo ruminal conteniendo 1.72 g (12 mg/día) para bovinos; 200 µg/kg de peso corporal (solución oral) para ovinos y caprinos; 6 µg/kg de peso corporal para caninos (tabletas) y 24 µg/kg de peso corporal para felinos (tabletas).

- **ORIENTACIÓN EN INDICACIONES DE USO²⁶⁻³⁰:**

1. Bovinos y ovinos:

Parásitos gastrointestinales: *Haemonchus* sp., *Ostertagia ostertagi*, *Ostertagia lyrata*, *Trichostrongylus* sp., *Cooperia oncophora*, *Cooperia punctata*, *Cooperia pectinata*, *Oesophagostomum radiatum*, *Strongyloides papillosus*, *Nematodirus helvetianus*, *Nematodirus spathiger*, *Toxocara vitulorum* y *Trichuris* spp.

Parásitos pulmonares: *Dictyocaulus viviparus*, *Dictyocaulus filaria*.

Ectoparásitos: *Sarcoptes* sp., *Haematopinus* sp., *Dermatobia hominis*, *Boophilus microplus*, *Cochliomyia hominivorax*, *Linognathus vituli*, *Psoroptes* spp. También está indicado como auxiliar en el control de la población de la mosca de los cuernos (*Haematobia irritans*) y como preventivo de miasis en el ombligo de terneros recién nacidos y en las heridas de castración.

2. Porcinos

Parásitos gastrointestinales: *Ascaris suum*, *Hyostrongylus rubidus*, *Oesophagostomum* spp., *Strongyloides ramsoni*.

Parásitos pulmonares: *Metastrongylus* spp.

Parásitos renales: *Stephanurus dentatus*.

3. Equinos

Parásitos gastrointestinales: *Parascaris equorum*, *Strongylus* spp., *Oxiurus equi*.

Parásitos pulmonares: *Dictyocaulus arnfieldi*

4. Felinos

Parásitos Gastrointestinales: *Ascaris* spp., *Ancylostoma* spp., *Uncinaria* spp.

Ectoparásitos: *Sarcoptes* spp., *Notoedres* spp., *Otodectes* spp.

5. Caninos

Dirofilaria immitis

6. Camélidos sudamericanos

Sarcoptes scabiei var. *Aucheniae*

Lamanema chavezii

Algunos parásitos internos

7. Humanos

Onchocerca volvulus (ceguera de las montañas)

- TOXICIDAD¹¹: A dosis relativamente altas, los estudios de toxicidad en animales presentan alteraciones visuales y del SNC. A altas dosis causa la muerte por insuficiencia respiratoria. La Ivermectina es teratogénica en ratas, conejos y en ratones

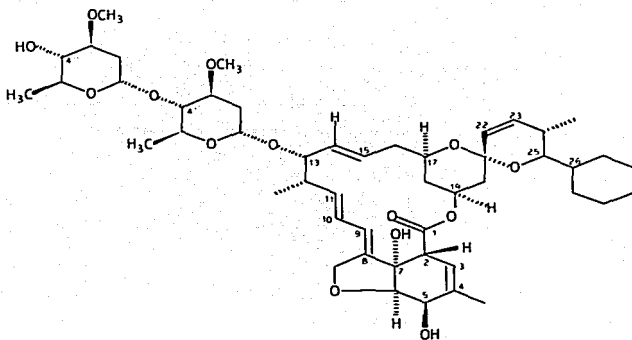
en o para dosis maternotóxicas. Los ratones son las especies más sensibles a los efectos de la Ivermectina a dosis de maternotoxicidad de 0.2 mg/kg al día.

4.2.1.1.2.- Doramectina

La Doramectina es una lactona macrocíclica sintetizada de un Avermectina producida por una cepa mutante del *Streptomyces avermitilis*. Su nombre químico es 25-ciclohexil-5-o-dimetil-25-de(1-metil propil) avermectina I_a (Figura 9)⁴⁰

La Doramectina es comercializada solo para animales destinados a la alimentación.⁴⁷

Fig.9 Estructura química de la Doramectina²⁶



- CLASE TERAPEUTICA²⁶⁻³⁰: Endectocida
- ORIGEN: Pfizer
- DESCRIPCIÓN²⁶⁻³⁰: Polvo cristalino, uniforme, de color blanco a marrón claro. Prácticamente insoluble en agua, soluble en isopropanol (60 mg/ml), fácilmente soluble en metanol (110 mg/ml) y en cloruro de metilo (530 mg/ml)
- FORMAS FARMACEUTICAS DE USO²⁶⁻³⁰: Suspensión de doramectina 1% (utilizada en este trabajo) con 60% de glicerinfomal y 40% de propilenglicol como diluyentes.
- ACCION FARMACOLÓGICA²⁶⁻³⁰: Antiparasitario de amplio espectro contra endoparásitos y ectoparásitos de bovinos, ovinos y cerdos.

La Doramectina potencializa la acción inhibitoria neuronal en el cordón nervioso central de los parásitos que es mediada por el ácido gama amino butírico (GABA). Estos medicamentos estimulan la liberación presináptica del GABA y/o su conexión a los receptores post sinápticos. La activación de los receptores GABAérgicos abre el canal del cloro, hiperpolarizando la neurona y por lo tanto, inhibiendo la transmisión nerviosa. Esta acción resulta en parálisis flácida y la eliminación del parásito.

Nuevas teorías indican que las Avermectinas interactúan con canales de cloro independientes de GABA.

- **INDICACIONES DE USO, DOSIS RECOMENDADAS, VIAS DE APLICACIÓN²⁶⁻³⁰:** Endoparasitícida y Ectoparasitícida: 200 µg/kg de peso corporal para bovinos y ovinos (inyección subcutánea o intramuscular); 300 µg/kg de peso corporal para cerdos (inyección intramuscular).

- **ORIENTACIÓN E INDICACIONES DE USO²⁶⁻³⁰:**

1. Bovinos:

Parásitos gastrointestinales: (adultos y cuarto estadio de larvas): *Haemonchus contortus*, *Haemonchus placei*, *Haemonchus similis*, *Ostertagia ostertagi* (incluyendo larvas inhibidas), *Ostertagia lyrata*, *Trichostrongylus axei*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Trichostrongylus longispicularis*, *Cooperia oncophora* (incluyendo larvas inhibidas), *Cooperia punctata*, *Cooperia pectinata*, *Cooperia spatulata*, *Cooperia surnabada* (sin.: *memasterii*), *Oesophagostomum radiatum*, *Strongyloides papillosus*, *Nematodirus helvetianus*, *Nematodirus spathiger*, *Bunostomum phlebotomum*, *Trichuris discolor* y *Trichuris ovis* (adultos).

Parásitos pulmonares: (adultos y cuarto estadio de larvas): *Dictyocaulus viviparus*.

Parásitos del ojo: *Thelazia* spp.

Ectoparásitos: Ácaros (*Sarcoptes scabiei*, *Psoroptes ovis*), piojos (*Haematopinus eurysternus*, *Linognathus vituli*, *Solenopotes capillatus*), Ura (*Dermatobia hominis*, *Hypoderma bovis*, *Hypoderma lineatum*), Bicheras (*Cochliomyia hominivorax*). También está indicado como auxiliar en el control piojos masticadores (*Damalinea bovis*) y de la garrapata común del bovino (*Boophilus microplus*).

2. Ovinos

Parásitos gastrointestinales: *Haemonchus contortus* (adultos, L4), *Ostertagia circumcincta* (adultos, L4, incluyendo larvas inhibidas), *Trichostrongylus axei* (adultos, L4), *Trichostrongylus colubriformis* (adultos, L4), *Trichostrongylus vitrinus* (adultos, L4), *Chabertia* spp., *Cooperia oncophora* (adultos, L4), *Cooperia curticei* (sólo L4), *Oesophagostomum venulosum* (sólo adultos), *Nematodirus* spp. (adultos, L4), *Trichuris* spp.

Parásitos pulmonares: *Dictyocaulus filaria*.

Ectoparásitos: Ácaros (*Psoroptes ovis*), miasis (*Cochliomyia hominivorax*) gusano de la cabeza (*Oestrus ovis*).

3. Porcinos

Parásitos gastrointestinales: (adultos y cuarto estadio de larvas): *Ascaris suum*, *Hyostrongylus rubidus*, *Oesophagostomum dentatum*, *Oesophagostomum quadrispinulatum*, *Trichuris suis*, *Strongyloides ramsoni* (adultos).

Parásitos pulmonares: *Metastrongylus* spp.

Parásitos renales: *Stephanurus dentatus*.

Ectoparásitos: piojos (*Haematopinus suis*), ácaros (*Sarcoptes scabiei*).

- TOXICIDAD²⁶⁻³⁰: No ofrece acciones tóxicas a las dosis recomendadas. No tiene acción carcinogénica, teratogénica ni mutagénica. Para la FDA (USA) es un producto de categoría A (compuesto de bajo riesgo)

4.2.1.2.- Milbemicina

Las milbemicinas incluyen a la Milbemicin oxima, producida por la fermentación del actinomiceto *Streptomyces hygroscopicus aureolacrimosus*, y la Moxidectina, producida por una modificación química de la Nemadectina, un producto de la fermentación del *Streptomyces cyanogriseus noncyanogenus*.⁴⁵

4.2.1.2.1.- Moxidectina

La Moxidectina es un antibiótico semisintético macrólido; análogo al Nemadectin (23-metiloxima), originado durante la fermentación del *Streptomyces cyanogriseus*. (Figura 10)²⁶⁻³⁰

La Moxidectina tiene un tiempo de vida media en tejido graso de 13 a 15 días mientras que para la Ivermectina es de 1 a 2 días.⁴⁸

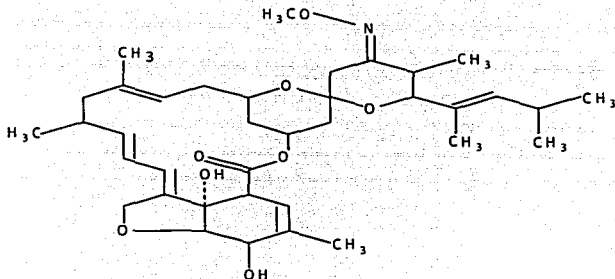
Su denominación química es [6R, 23E, 25S (E)]-5-o-dimetil-28-deoxi-25-(1,3-dimetil-1butenil)-6,28-epoxi-23-(metoximino)milbemicina B.(Fig 6.)²⁶⁻³⁰

- CLASE TERAPEUTICA²⁶⁻³⁰: Endectocidas
- ORIGEN²⁶⁻³⁰: Fort-Dodge

- FORMAS FARMACEUTICAS DE USO²⁶⁻³⁰: Solución inyectable 1% (utilizada en este trabajo) con 60% de glicerinal y 40% de propilenglicol como diluyentes. Solución tópica al 0.5% (pour-on), solución oral 0.2% y gel oral 2%.

ACCION FARMACOLÓGICA²⁶⁻³⁰: La Moxidectina potencializa la acción inhibitoria neuronal en el cordón nervioso central de los parásitos que es mediada por el ácido gama amino butírico (GABA). Estos medicamentos estimulan la liberación presináptica del GABA y/o su conexión a los receptores post sinápticos. La activación de los receptores GABA érgicos abre el canal del cloro, hiperpolarizando la neurona y por lo tanto, inhibiendo la transmisión nerviosa. Esta acción resulta en parálisis flácida y la eliminación del parásito.

Fig.10 Estructura química de la moxidectina²⁶⁻³⁰



- INDICACIONES DE USO, DOSIS RECOMENDADA VIAS DE APLICACIÓN: Antiparasitario de amplio espectro contra endoparásitos y ectoparásitos de bovinos, ovinos²⁶⁻³⁰, caballos y perros.⁴²⁻⁴³

Resulta particularmente importante la especial sensibilidad del *Haemonchus contortus* frente a este principio activo, lo que posibilita tratar aun en presencia de cepas resistentes frente a otros endectocidas.²⁶⁻³⁰

La Moxidectina puede ser solamente usada en perros después de un examen contra gusanos del corazón y no debe de ser usada en gatos⁴³

Vía inyectable: 200 µg/kg de peso corporal (sol. 1%: 1 ml por cada 50 kg de peso corporal); Pour on: 500 µg/kg de peso corporal; equinos: 400 µg/kg de peso corporal en gel oral.²⁶⁻³⁰; perros: 3 µg/kg de peso corporal.⁴³

- ORIENTACIÓN E INDICACIONES DE USO⁴²:

1. Caballos y Pony:

Parascaris, Oxyuris, Trichostrongylus, Habronema, Gasterophilus (segundo y tercer estadio)

2. Perros

Para la prevención de infestaciones con gusanos del corazón.

- TOXICIDAD²⁶⁻³⁰: Leve toxicidad oral DL₅₀= 50-100 mg/kg; Levemente irritante en piel y desaparece a las 48 horas; Levemente irritante en ojos y desaparece a las 72 horas; No es genotóxico, cancerígeno, embriotóxico ni teratógeno.

Por otro lado, se menciona que las lactonas macrocíclicas inhiben la succión faríngea más que la motilidad en *Haemonchus contortus*. La inhibición de la ingestión causada por el fármaco puede representar el mecanismo de acción antihelmíntico actual de las lactonas macrocíclicas, más que la parálisis de la musculatura somática. También se demostró que la ingestión de 3-O-[³H]-metilglucosa y el metabolismo de la glucosa son inalterados por el fármaco, sugiriendo que la ruta de entrada de este nutriente esencial es transcuticular más que oral.

Datos electrofisiológicos demuestran que los canales de calcio regulados por GABA no son los blancos más sensibles de las lactonas macrocíclicas en las membranas musculares de *Ascaris suum*.

Utilizando un medidor de la motilidad, se encontró que la Ivermectina a concentraciones $\geq 10^{-8}$ M reduce la motilidad en *Haemonchus contortus* en un 75%; este grado de inhibición no es fácilmente aparente y es de importancia incierta. Además, las concentraciones de Ivermectina entre 10^{-10} y 10^{-9} M paralizan la faringe de esos organismos. Concentraciones similares reducen la alimentación en *Trichostrongylus colubriformis in vitro* pero efectos en la motilidad de este parásito ocurren solo a concentraciones $\geq 10^{-7}$ M. Estos resultados indican que la faringe es más sensible a la acción de la Ivermectina que a la acción paralizante de los músculos axiales y se sugiere que la interrupción de la función desempeñada por la faringe (e.g., ingestión de nutrientes, excreción) puede ser crítica en la acción de este compuesto. La faringe es el único órgano muscular en la alimentación en nemátodos. La Ivermectina no es el único antihelmíntico que influye en la succión faríngea. La Piperacina y el Levamisol también

han mostrado que inhiben la motilidad de la faringe a concentraciones farmacológicas relevantes.⁴⁴

Las lactonas macrocíclicas inducen parálisis de la faringe y no afectan la absorción de la 3-O-metilglucosa por *Haemonchus contortus in vitro* considerando que la cutícula es el sitio principal de absorción de glucosa de este nemátodo. Dentro del hospedero, la mayoría de los requerimientos nutricionales son probablemente satisfechos por las altas cantidades de eritrocitos consumidos por el parásito. Ya que los eritrocitos no cruzan la cutícula de los nemátodos, es más probable que los nutrientes derivados de la sangre del hospedero requieran ingestión. Además las filarias adultas aparentemente cuentan con absorción transeuticular más que con ingestión oral de nutrientes por lo que la hipótesis es consistente en cuanto a que las lactonas macrocíclicas no tienen actividad macrofilaricida.⁴⁴

Sin embargo, existen reportes en Medicina humana de que la Ivermectina es utilizada como fármaco microfilaricida empleado en la profilaxis de la onchocercosis y en las infestaciones filariales. (Tabla 3)

Tabla 3.- Fármacos activos contra de macro y microfilarias.⁵²

Año de introducción o descubrimiento	Fármaco	Efectos en otros parásitos	Efectos contra filarias
Fármacos con predominancia en efectos microfilaricidas			
1947/48	Dietilcarbamazina		<i>Brugia</i> spp., <i>Loa loa</i> , <i>Onchocerca volvulus</i> , <i>Wuchereria bancrofti</i>
1965	Levamisol	Nemátodos intestinales	<i>B. malawi</i> , <i>W. bancrofti</i> ,
		Nemátodos,	<i>Dirofilaria immitis</i> , <i>L. loa</i> , <i>O. volvulus</i> , <i>W.</i>

1980	Ivermectina	artrópodos	<i>banerofit</i>
1993	Doramectina	Nemátodos, artrópodos	Microfilaria en modelos murinos
1990	Milbemicina A-4 oxima	Nemátodos, artrópodos	<i>D. immitis</i> , microfilaria en modelos murinos
1980's	Milbemicina D	Nemátodos, artrópodos	<i>D. immitis</i>
1990	Moxidectina		<i>D. immitis</i> , microfilaria en modelos murinos
1955	Metrifonato	<i>Ascaris</i> , <i>Schistosoma</i> <i>haematobium</i> , insecticida	Microfilaria de <i>O. volvulus</i>
Drogas con predominancia en efectos macrofilaricidas			
1916	Suramin	Tripanosomas	<i>Brugia. Wuchereria</i> (macrofilaria), <i>O.</i> <i>volvulus</i> (adulto)
1971	Flubendazol, Mebendazol, Albendazol	Nemátodos, céstodos, tremátodos, <i>Giardia</i> .	<i>Brugia. O. volvulus</i> , <i>Wuchereria</i> , también efectos embriostáticos
1984	Arsenamida (tiacetarsamida)		<i>D.immitis</i> (perro)
Combinaciones de los fármacos			
	Ivermectina/ Dietilcarbamicina Ivermectina/ Albendazol		Filariasis linfática
Fármacos con efectos micro y macrofilaricidas			
1980	Benzotiazoles		<i>Brugia. Dipetalonema</i> , <i>Onchocerca</i> .

La resistencia hacia las lactonas macrocíclicas como antiparasitarios ha sido reportada mundialmente. Estudios de campo e *in vitro* han mostrado que los parásitos resistentes a las avermectinas también son resistentes a las milbemicinas sugiriendo un mecanismo de acción común. Sin embargo, la información obtenida en otros ensayos es controversial y ha indicado que los mecanismos de acción y de resistencia están lejos de comprenderse.⁴⁹ Los factores selectivos para la resistencia incluyen: tratamiento

masivo, uso frecuente de antihelmínticos, uso de la misma clase de antihelmínticos por períodos prolongados, dosis incompletas y resistencia genética.⁴⁰

5.- PREVENCIÓN Y CONTROL

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 perros a campos de recreo, donde los niños pueden estar en contacto con el excremento del animal.¹³

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.¹³ La erradicación de *T. canis* es difícil por la complejidad de su ciclo de vida.¹²

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

La base del control de la toxocariasis es el tratamiento de los perros infestados, en especial cachorros y madres, con lo que se reduce la contaminación medioambiental con huevos infestantes de parásitos. Además, es necesario eliminar las deyecciones caninas, con limpieza frecuente y a fondo, para eliminar los huevos.

El control del censo canino conlleva la retirada de perros callejeros o vagabundos, junto con la educación sanitaria sobre el riesgo de transmisión de VLM que, en gran parte, es desconocido.⁵

Dada su elevada frecuencia en los perros es preciso establecer de forma preventiva programas de desparasitación que eliminen de los animales las formas adultas del parásito así como en la destrucción de las formas larvianas enquistadas en el cuerpo de los animales adultos que, en el caso de los perros son responsables de la transferencia de forma congénita y lactogénica por lo que resulta importante evaluar la actividad de productos antiparasitarios contra esta forma de los organismos, que es la finalidad de este trabajo.

6.- OBJETIVOS

6.1.- OBJETIVO GENERAL

Por medio de un ensayo en ratones inoculados con larvas de *Toxocara canis*, comparar la actividad antiparasitaria de la Ivermectina con dos medicamentos de reciente desarrollo que pertenecen a la misma familia química, que son la Moxidectina y la Doramectina, para definir el nivel de destrucción del parásito *Toxocara canis* en los animales infestados artificialmente.

6.2.- OBJETIVOS PARTICULARES

6.2.1.- Inducir toxocariasis en ratones, inoculando vía oral huevos larvados de *Toxocara canis* obtenidos de gusanos adultos en perros jóvenes, con el fin de desencadenar la enfermedad.

6.2.2.- En animales infestados, administrar un medicamento de actividad identificada (Ivermectina) contra larvas enquistadas de *Toxocara canis*, por vía subcutánea a dosis única de 200 microgramos por kilogramo de peso, para posteriormente utilizarlo como referencia.

6.2.3.- Administrar dos medicamentos (Doramectina y Moxidectina) de reciente desarrollo y sin actividad antihelmíntica identificada, a ratones infestados con *Toxocara canis*, por vía subcutánea a dosis única de 200 microgramos por kilogramo de peso, con el objeto de evaluar y comparar su eficacia.

6.2.4.- Establecer diferencias de actividad antiparasitaria contra larvas enquistadas de *Toxocara canis*, entre los tres medicamentos evaluados: Ivermectina, Doramectina y Moxidectina, para lograr establecer y sugerir, considerando su efectividad, el mejor medicamento para el tratamiento de la toxocariasis en perros.

7.- METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Se formaron 4 lotes de 15 ratones cada uno:

Lote 1) Testigo

Lote 2) Tratamiento con 200 µg de Moxidectina / kg de peso

Lote 3) Tratamiento con 200 µg de Doramectina / kg de peso

Lote 4) Tratamiento con 200 µg de Ivermectina / kg de peso

- *Inóculo*

La obtención del inóculo fue a partir de cadáveres de perros procedentes del antirrábico de Cuautitlan Izcalli que fueron necropsiados, se extrajo el tracto digestivo incidiéndolo 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 disecaron 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 de Petri a temperatura ambiente por un lapso de dos a tres semanas con el objeto de esperar el desarrollo del segundo estado larvario, el cual fue utilizado para inocular los animales experimentales. La viabilidad de los huevos larvados se determinó en base al desarrollo de las larvas en el interior del huevo y a la motilidad de las mismas; siendo en este caso del 73%.

- *Inoculación*

Se inocularon 1000 huevos larvados viables, evaluados previamente por microscopía óptica, para que cubrieran las condiciones necesarias de maduración e infestar a los animales de experimentación. los huevos larvados se suministraron oralmente por medio de sondas para alimentación de prematuros a cada animal.

- *Animales*

Ratones blancos CDI con un peso aproximado de 27-30 g.

- *Tratamiento*

Los medicamentos se diluyeron con 40% de propilenglicol (diluyente) y 60% de glicerol formal (diluyente), y se administraron por vía subcutánea un mes después de la infestación.

- *Antihelmínticos utilizados*

Los productos antiparasitarios empleados en el siguiente trabajo son: IVOMEC (Ivermectina), DECTOMAX (Doramectina) y CYDECTIN (Moxidectina), todos a una concentración del 1%, a dosis de 200 µg/kg de peso, y administrados por vía subcutánea.

- *Técnica de recuperación de larvas*

Los animales se sacrificaron un mes después del tratamiento por dislocación cervical con posterior incisión de forma longitudinal, se desprendió la piel del cadáver de forma manual y se hizo la disección del cerebro, pulmones, y músculo esquelético del miembro pélvico.

Una vez realizada la disección estos órganos se cortaron finamente y se envolvieron en una gasa para la posterior introducción en un jugo gástrico artificial (pepsina 6g, HCl 6 ml y Agua destilada 1000 ml) con agitación regular en tubos a temperatura ambiente por 3 días. Cada tubo contenía entre 15 a 40 ml de jugo gástrico artificial.

Se hizo un cambio de medio al tercer día sustituyendo el jugo gástrico artificial por formol al 5% en cada tubo, centrifugando el tubo para la obtención del sedimento y se analizaron las muestras en microscopios ópticos.

▪ **Conteo larvario**

Se contó el número de larvas por órgano (cerebro, músculo esquelético y pulmón) y revisando la totalidad del sedimento de cada tubo y posteriormente se registraron los datos del número de larvas a una hoja de cálculo y se trataron estadísticamente por un análisis de varianza estableciendo su comparación mediante la prueba de Tukey (Software SPSS 10.0 para Windows) (Ver figura 11).

▪ **Efectividad de los medicamentos:**

La efectividad de los medicamentos se obtuvo en base a la recuperación de larvas en los diferentes órganos estudiados, de la forma siguiente:

Lote testigo:

No. total de larvas: 1856 (Cerebro) + 6500 (Músc. Esq.) + 54 (Pulmón) = 8410 larvas

Lote tratado con Moxidectina:

No. total de larvas: 1613 (Cerebro) + 5075 (Músc. Esq.) + 63 (Pulmón) = 6751 larvas

8410 larvas	100%	X = 80.27% de larvas
6751 larvas	X	recuperadas

$100\% - 80.27\% = \underline{19.72\% \text{ Efectividad}}$

Lote tratado con Doramectina:

No. total de larvas: 1400 (Cerebro) + 4775 (Músc. Esq.) + 73 (Pulmón) = 6248 larvas

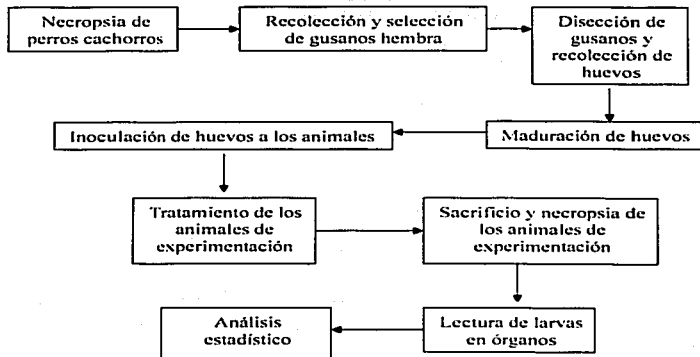
8410 larvas	100%	X= 74.29% de larvas
62498 larvas	X	recuperadas
100% - 74.29% = <u>25.70% Efectividad</u>		

Lote tratado con Ivermectina:

No. total de larvas: 884 (Cerebro) + 3200 (Músc. Esq.) + 10 (Pulmón) = 4194 larvas

8410 larvas	100%	X= 49.87% de larvas
4194 larvas	X	recuperadas
100% - 49.87% = <u>50.13% Efectividad</u>		

Figura 11.-Diagrama metodológico



Dentro de la evaluación de los medicamentos se trabajó con un total de 60 ratones que se distribuyeron en 4 lotes de 15 animales cada uno, utilizando como órganos de estudio únicamente el cerebro, músculo esquelético de la pierna y pulmones, obteniendo del conteo de larvas por órganos los siguientes resultados (Ver Tablas 4, 5, y 6).

8.- RESULTADOS

El comportamiento de migración de las larvas en todos los animales experimentales siguió los patrones descritos por los diferentes investigadores, presentándose así mayor asentamiento en músculo esquelético, seguido de cerebro y finalmente en pulmón a los sesenta días de inoculación. Los animales testigo (inoculados y no tratados) presentaron como era de esperarse, la mayor concentración de larvas con una sumatoria total de 8410 organismos recuperados distribuidos de la siguiente manera: 1856 para cerebro, 6500 para músculo esquelético y 54 para pulmón, se encontraron variaciones importantes en cuanto a la presencia de larvas por tejido, de modo que en músculo esquelético hubo desde 0 hasta 875 larvas ($X=433.33$); en cerebro de 0 hasta 327 larvas ($X=123.73$) y el pulmón de 0 a 15 ($X=3.6$). En los grupos tratados con los diferentes medicamentos, se observó actividad en cerebro contra las larvas, siendo la Ivermectina la que disminuyó la tasa larvaria en mayor proporción con 884 larvas; seguida de la Doramectina con 1400 y finalmente la Moxidectina con 1613 larvas, que comparadas con el grupo testigo presentaron diferencias variables que fueron más importantes con la Ivermectina (Ver Tabla 4).

Tabla 4. Conteo de larvas de *Toxocara canis* en cerebro

CEREBRO	Número de larvas			
	Testigo	Moxidectina	Doramectina	Ivermectina
1	41	247	41	79
2	0	120	61	28
3	133	6	199	130
4	91	63	7	43
5	9	280	34	46

6	196	186	17	11
7	131	76	135	43
8	130	121	62	71
9	327	85	172	70
10	201	65	91	36
11	212	7	75	47
12	99	129	145	7
13	94	83	136	86
14	83	74	152	157
15	109	71	73	30
TOTAL	1856	1613	1400	884

En el segundo órgano usado como referencia, el músculo esquelético, el comportamiento de los medicamentos fue el mismo que para cerebro, encontrándose 5075 larvas en el lote tratado con Moxidectina, 4775 larvas para la Doramectina y 3300 para la Ivermectina, mostrando diferencia con el lote testigo (6500 larvas). (Ver Tabla 5)

Tabla 5. Conteo de larvas de *Toxocara canis* en músculo esquelético

MÚSCULO	Número de larvas			
	Testigo	Moxidectina	Doramectina	Ivermectina
1	5	13	0	2
2	29	33	39	2
3	27	1	11	12
4	8	11	6	8
5	4	19	9	13
6	27	28	4	12
7	35	17	0	13

8	31	14	14	7
9	0	18	19	12
10	18	2	22	10
11	24	13	17	0
12	10	20	26	29
13	10	6	7	3
14	20	3	5	7
15	12	5	12	2
TOTAL por gramo de músculo	260	203	191	132
TOTAL por peso completo de la carcaza (25 g)	6500	5075	4775	3300

En el pulmón, que es considerado un órgano de paso, se observó un comportamiento migratorio diferente a los otros tejidos, por lo que no hubo diferencia entre los lotes testigo (54 larvas) y los tratados con Moxidectina (63 larvas) y Doramectina (73 larvas), con respecto a lo observado en el lote tratado con Ivermectina (10 larvas). (Ver Tabla 6)

Tabla 6. Conteo de larvas de *Toxocara canis* en pulmón

PULMON	Número de larvas			
	Testigo	Moxidectina	Doramectina	Ivermectina
1	1	4	0	0
2	2	1	7	0
3	1	0	10	0
4	9	14	15	1
5	5	9	8	0
6	15	2	2	0
7	0	9	6	0

8	4	4	1	6
9	8	0	13	2
10	2	0	1	0
11	0	1	6	1
12	2	15	0	0
13	0	2	2	0
14	5	1	0	0
15	0	1	2	0
TOTAL	54	63	73	10

En función a los resultados obtenidos (Tablas 4, 5 y 6), se determinó la eficacia del medicamento mediante el promedio de larvas de cada órgano para su análisis estadístico (ver Tabla 7).

Tabla 7. Eficacia de cada fármaco

FÁRMACO	EFICACIA (%)
Moxidectina	19.72
Doramectina	25.70
Ivermectina	50.13

(Eficacia obtenida basándose en la disminución de larvas en el conteo)

La Tabla 8 presenta las variables y valores empleados para el desarrollo de las pruebas estadísticas en el experimento, tales como la Media y la Desviación estándar de cada uno de los datos.

Tabla 8.- Estadística descriptiva.

Variable dependiente: Larvas

FARMACO	ORGANO	MEDIA	Desviación std.	N
1	A	123.73	84.62	15
	B	433.33	277.69	15
	C	3.60	4.27	15
	TOTAL	186.89	245.64	45
2	A	107.53	77.88	15
	B	338.33	234.30	15
	C	4.20	5.09	15
	TOTAL	150.02	198.39	45
3	A	93.33	59.37	15
	B	318.33	264.49	15
	C	4.87	4.91	15
	TOTAL	138.84	202.97	45
4	A	58.93	41.58	15
	B	220.00	180.82	15
	C	0.67	1.59	15
	TOTAL	93.20	140.55	45
TOTAL	A	95.88	70.47	15
	B	327.50	248.03	15
	C	3.33	4.41	15
	TOTAL	142.24	201.53	

Tomando en cuenta que el análisis de varianza con un grado de significación de 0.05, nos muestra una significancia de 0.026 para la relación entre fármacos y de 0.000 para la relación entre órganos (Tabla 9), es posible realizar el análisis estadístico de los resultados experimentales bajo dos esquemas: 1) la comparación entre fármacos y/o 2) la comparación entre órganos, considerando siempre como variable dependiente el número de larvas.

Tabla 9.- Análisis de varianza.

Recurso	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrada	F	Sig.
Modelo corregido	345231.928*	11	31384.721	19.900	0.000
Intercepto	252300.672	1	252300.672	159.975	0.000
FARMACO	201174.194	3	67058.065	3.178	0.026
ORGANO	33459916.211	2	1672958.106	79.284	0.000
FARMACO*ORGANO	19228.456	6	3204.743	2.032	0.064
Error	264956.400	168	1577.121		
Total	862489.000	180			
Total corregido	610188.328	179			

a = R cuadrada = 0.512 (R cuadrada ajustada = 0.480)

* Intersección o relación.

Para que las comparaciones entre los dos factores deseados fuera estadísticamente válida, se recurrió a la Prueba de Tukey, la que nos arroja lo siguiente: 1) para la comparación entre el comportamiento de los fármacos, la Ivermectina es la única con una significancia (0.012) estadísticamente válida para ser comparada con el Lote testigo, ya que tanto la Doramectina (0.397) como la Moxidectina (0.624) salen del rango del nivel de significancia, lo cual nos descarta su posible comparación con los anteriores (Tabla 10)

Tabla 10.- Prueba de Tukey.- Comparación múltiple entre fármacos respecto a su actividad contra larvas de *Toxocara canis*.

FARMACO (I)	FARMACO (J)	Diferencia de Medias (I-J)	Error Std.	Sig.	95% Intervalo de Confianza	
					Lím. Inf.	Lím. Sup.
1	2	36.87	30.62	0.624	-41.81	115.54
	3	48.04	30.62	0.397	-30.63	126.72
	4	93.69*	30.62	0.012	15.02	172.36
2	1	-36.87	30.62	0.624	-115.54	41.81
	3	11.18	30.62	0.983	-67.50	89.85
	4	56.82	30.62	0.247	-21.85	135.50
3	1	-48.04	30.62	0.397	-126.72	30.63
	2	-11.18	30.62	0.983	-89.85	67.50
	4	45.64	30.62	0.443	-33.03	124.32
4	1	-93.69*	30.62	0.012	-172.36	-15.02
	2	-56.82	30.62	0.247	-135.50	21.85
	3	-45.64	30.62	0.443	-124.32	33.03

1.- Lote testigo; 2.- Moxidectina; 3.- Doramectina; 4.- Ivermectina
 * La diferencia de medias es significativa en un nivel de 0.05

La Prueba de Tukey empleada para establecer la diferencia mínima honesta entre medias para los grupos tratados, mostró que sólo la Ivermectina es estadísticamente diferente al lote testigo. (Ver Tabla 11)

Tabla 11. Grupos homogéneos de fármacos por Prueba de Tukey.

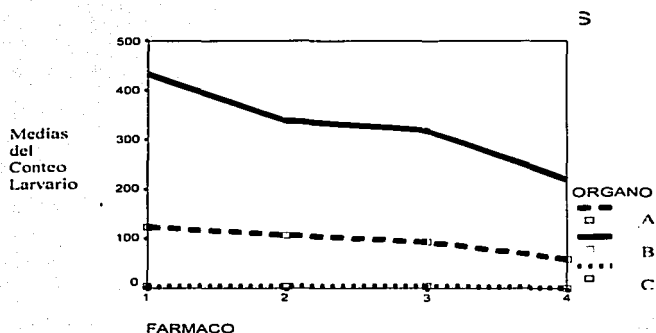
FARMACO	N	SUBGRUPO	
		1	2
4	45	93.20	
3	45	138.84	138.84
2	45	150.02	150.02
1	45		186.89
Sig.		0.247	0.397

1.- Lote testigo; 2.- Moxidectina; 3.- Doramectina; 4.- Ivermectina.

El Gráfico 1 a continuación, esquematiza la actividad antiparasitaria de los tres medicamentos administrados en cada uno de los órganos evaluados; demostrando la

mayor eficacia para la Ivermectina, seguida de la Doramectina y por último para la Moxidectina, destacando la mayor actividad antiparasitaria en músculo esquelético.

Gráfico 1. Actividad antiparasitaria en base al fármaco.



Eje X.- Fármaco; Eje Y: Margen estimado de Medias (Cuento larvario)
 FARMACO: 1.- Testigo; 2.-Moxidectina; 3.- Doramectina; 4.- Ivermectina
 Serie A.-Actividad en cerebro; Serie B.-Actividad en Músculo esquelético;
 Serie C.-Actividad en Pulmón.

Por otro lado, 2) la comparación del número de larvas entre órganos es posible entre cerebro, músculo esquelético y pulmón, debido a su alto nivel de significancia (0.000 y 0.001) en los tres casos (Ver Tabla 12).

Tabla 12. Prueba de Tukey. Comparación múltiple entre órganos en presencia de larvas de *Toxocara canis*.

Variable dependiente: LARVAS

ORGANO (I)	ORGANO (J)	Diferencia de Medias (I-J)	Error Std.	Sig.	95% Intervalo de Confianza	
					Lím. Inf.	Lím.Sup.
A	B	-231.62*	26.52	0.000	-293.77	-169.46
	C	92.55*	26.52	0.001	30.39	154.71
B	A	231.62*	26.52	0.000	169.46	293.77
	C	324.17*	26.52	0.000	262.01	386.32
C	A	-92.55*	26.52	0.001	-154.71	-30.39
	B	-324.14*	26.52	0.000	-386.32	-262.01

A.- Cerebro; B.- Músculo esquelético; C.- Pulmón

* La diferencia de medias es significativa en un nivel de 0,05

Una vez más, la Prueba de Tukey conjunta por grupos homogéneos a los órganos evaluados, mostrando que el cerebro, músculo esquelético y pulmón son estadísticamente diferentes entre sí, por lo que al no existir intersección entre ninguno de los grupos, es posible la comparación entre todos ellos. (Ver Tabla 13)

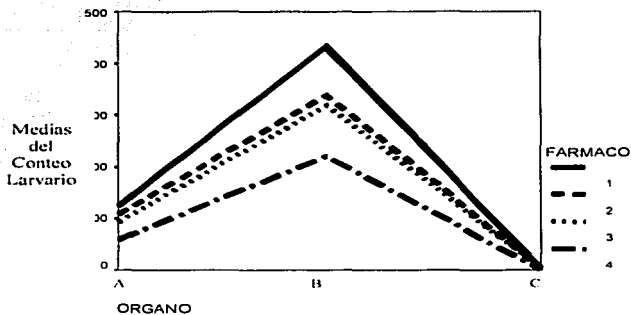
Tabla 13. Grupos homogéneos de órganos por Prueba de Tukey.

ORGANO	N	SUBGRUPO		
		1	2	3
C	60	3,33		
B	60		95,88	
A	60			327,50
Sig.		1,000	1,000	1,000

A.- Cerebro; B.- Músculo esquelético; C.- Pulmón

El Gráfico 2, esquematiza la evolución del conteo larvario por órgano de cada uno de los medicamentos, en el que resulta importante resaltar que el órgano de principal asentamiento larvario es el músculo esquelético, y que el medicamento con la mayor eficacia antiparasitaria nuevamente es la Ivermectina.

Gráfico 2.- Actividad antiparasitaria en base al órgano.



Eje X.- Órgano; Eje Y: Margen estimado de Medias (Conteo larvario)

Serie 1.-Lote Testigo; Serie 2.-Actividad de la Moxidectina;

Serie 3.-Actividad de la Doramectina; Serie 4.- Actividad de la Ivermectina.

A.- Cerebro, B.- Músc. Esquelético, C.- Pulmón

De acuerdo con el análisis de resultados agrupados en las diferentes Tablas y las pruebas estadísticas aplicadas, la Ivermectina es el medicamento con mayor efecto contra larvas de *Toxocara canis*, y el órgano más afectado por éstas es el músculo esquelético.

9.- DISCUSIÓN

La infestación por *Toxocara canis* en perros es un problema muy común que debe atacarse bajo dos perspectivas, en el primer caso, la eliminación de los gusanos adultos.

Este tipo de fases tienen altas probabilidades de desarrollarse debido a la posible transmisión congénita y transplacentaria principalmente, esto hace necesaria la desparasitación de los animales en el período más temprano posible para reducir las posibilidades de reinfestación de animales ya parasitados y la diseminación en el medio ambiente hacia otros animales y a los seres humanos también. En el segundo caso está la infestación por los estados larvarios, que pueden estar presentes primariamente en los perros adultos, que son los hospederos paraténicos más importantes: en particular las perras que resultan una de las fuentes más importantes de contaminación hacia su descendencia y la continuación del parasitismo en esta especie debiéndose establecer un esquema de desparasitación que permita eliminar los estados larvarios para cortar el ciclo biológico, debiendo considerarse el impacto que tienen a nivel de población humana en la que causan el síndrome de larva migrans visceral en el que se deben destruir los estados larvarios para prevenir las lesiones derivadas de la migración persistente de los organismos así como reducir los efectos del asentamiento definitivo en las zonas que sirven como depósito definitivo. Con los principios existentes se han realizado estudios exhaustivos en torno a la actividad contra las formas adultas del parásito y a nivel general resultan muy efectivos y de utilidad, pero sólo resuelven una parte del problema quedando el referente a las fases larvianas en los hospederos paraténicos y en este sentido hay pocos estudios y con observaciones limitadas para identificar efectividad contra estas fases existiendo poca información publicada que describa este aspecto.

Las lactonas macrocíclicas son un grupo de principios que surge en los 80's con la Ivermectina y en años recientes aumenta su importancia con la aparición de nuevos compuestos cobrando importancia y popularidad debido a sus propiedades endectocidas que se van extendiendo prácticamente por todas las especies y han alcanzado ya a los seres humanos. Presentan ventajas por encima de muchos de los grupos antihelmínticos existentes, por ejemplo, con relación a su acceso a casi todas partes del cuerpo permitiendo la remoción de los estados larvarios y adultos de muchos nemátodos lo cual previamente ya ha sido demostrado con la Ivermectina, los principios del mismo grupo que teóricamente presentan una estructura química muy semejante deben poseer propiedades parecidas en lo que refiere a su espectro de actividad para considerarlos como candidatos para eliminar las larvas de este parásito muy por encima de otros principios conocidos. Al monitorear esto inicialmente en un hospedero paraténico en el que las larvas tienen un alto grado de adaptación y puede predecirse el comportamiento que van a seguir para estudiar la actividad antiparasitaria se tiene un modelo que nos puede dar una idea de qué podemos esperar en los perros y también en los seres humanos, en los que finalmente se generan lesiones importantes.

El patrón migratorio observado en las larvas en este estudio correspondió al descrito en la literatura con una migración aleatoria que lleva gradualmente al depósito en dos tejidos específicos que son el cerebro y la musculatura esquelética, que son áreas muy específicas, después de sucesivas oleadas de desplazamiento por todo el cuerpo.²⁵

Los resultados obtenidos muestran que los tres fármacos evaluados presentan diferentes grados de efectividad contra las larvas basándose en la recuperación larvaria: esto es, la Moxidectina con un 19.72% de actividad, Doramectina con un 25.70% de actividad y la Ivermectina con un 50.13% de actividad (Ivermectina > Doramectina > Moxidectina). (Tabla 7). En el estudio estadístico con el análisis de varianza complementado con la Prueba de Tukey para establecer las diferencias honestas entre medias, nos revela significancia (0.012) favorable a la Ivermectina con mayor actividad larvicida.

Los antecedentes de la Ivermectina usada contra larvas incluyen el estudio de, Abo-Shehada A., Herbert L., en 1984; en un modelo en ratones con una aplicación de Ivermectina en la misma dosis usada en este trabajo, así como con Levamisol (150 mg kg⁻¹ sc), al mes de inoculados, reportan el 78 - 79% de reducción en el conteo larvario, mientras que para Albendazol y Fenbendazol (100 mg kg⁻¹ en ambos casos) fue de un 43-44% (Ivermectina y Levamisol > Albendazol y Fenbendazol).⁵⁴

Martínez J.P., et al., en 1993; también en un ensayo con varios principios detecta que el producto más eficaz a dosis única contra larvas enquistadas de *Taxocara canis* en ratón, fue la Ivermectina (0.2 mg kg⁻¹ sc) con un 91% de efectividad (que esta por encima de los valores de Abo-Shehada et al), comparado con Metrifonato (50 mg kg⁻¹ o) con un 43%, Dietilcarbamazina (50 mg kg⁻¹ o) con un 45.5%, y Nitroscanate (50 mg kg⁻¹ o) con un 13.4% (Ivermectina > Metrifonato > Dietilcarbamazina > Nitroscanate).⁵⁵

Fok E., Kassai T., 1998, trabajando con la Ivermectina (0.6 mg kg⁻¹ o por alimento) encuentra los niveles de remoción más bajos reportados en la literatura con 7.6 - 33.7%

que están por debajo de los encontrados en este trabajo que pueden estar relacionados con el uso intensivo del producto y son los más cercanos como parámetro de utilización del principio.⁵⁵ Carrillo M., Barriga O., en 1987, trabajando con levamisol y comparándolo con la Ivermectina reporta con una dosis de 6 mg kg⁻¹ (sc) del primer compuesto una efectividad del 17% en la carcasa, a 12 mg kg⁻¹ (sc) tuvo un porcentaje del 36% en carcasa y cerebro, en tanto que la Ivermectina (0.4 mg kg⁻¹ sc) disminuyó un 57% del parasitismo total y un 40% en el del hígado comparado con el control, que son resultados que se aproximan a los observados en este trabajo.⁵⁶

Los resultados encontrados en este estudio fueron significativamente más bajos que los datos antecedentes en nuestro país lo sugiere que a lo largo de 18 años de uso persistente de este principio con los fines más diversos, en cuanto a las parasitosis que se tratan, han llevado a una reducción de la actividad contra las larvas la cual no ha sido permanentemente monitoreada en el tiempo ya que no existe información en torno a esto citada en la literatura. Sin embargo se ha venido popularizando la utilización del principio a lo largo del tiempo, ya sea como un adulticida en helmintos intestinales o contra algunos ectoparásitos, resultando relevante el hecho de la introducción de productos específicamente diseñados y registrados como medicamentos para perros y con indicaciones para el tratamiento preventivo de la dirofilariasis o como tratamiento para eliminar formas adultas, pero sin considerar su potencial contra las larvas enquistadas.

En la literatura no hay antecedentes sobre estudios de la actividad de la Moxidectina ni de la Doramectina contra larvas de *Toxocara canis* por lo que en este trabajo es la primera vez que se utilizan estos medicamentos para dicho fin y los resultados

encontrados muestran que su actividad fue muy inferior a la de la Ivermectina (Moxidectina 19.72% y Doramectina 25.70%) y aún a pesar de tratarse de dos principios que presentan una gran semejanza estructural con la Ivermectina y que se les atribuyen propiedades lipofílicas que en teoría hacen que la liberación de los productos ocurra de forma gradual significando esto un efecto residual que mantiene presente la actividad del producto situación que no se observó en este trabajo, considerando el lapso que se dio después del tratamiento que habría permitido que se manifestara esta propiedad, estos principios en consecuencia se comportan diferente lo cual ofrece ventaja a la Ivermectina y permiten considerar a esta última como primera opción dentro del grupo químico con nivel de actividad similar al de principios de otras familias de antihelmínticos como los bencimidazólicos.

La literatura (25) describe que las larvas instaladas en el cerebro tienen menor exposición a la actividad de los medicamentos en unión a que la barrera hematoencefálica del cerebro que impide el acceso a los compuestos convirtiendo este órgano en una zona de depósito de larvas y en este trabajo se encontró una reducción significativa de estas en este órgano después del tratamiento con Ivermectina con respecto al lote testigo, lo que hace suponer, al menos bajo estas condiciones experimentales, que el fármaco fue capaz de atravesar la barrera hematoencefálica y destruir gran parte de los organismos residentes.

La vía de administración de estos fármacos puede ser considerada una ventaja ya que permite la distribución del principio de manera uniforme, homogénea y directa al torrente sanguíneo, permitiendo su absorción de una manera gradual y continua; propiedades que la hacen la vía de administración ideal para las condiciones

experimentales requeridas. Los 3 fármacos usados en dosis única de 200 μg de medicamento por kilogramo de peso, presentaron algún grado de actividad por lo que su uso necesariamente representa una reducción de la carga de larvas por lo cual la aplicación de dosis repetitivas con intervalos definidos podrá generar una disminución gradual de la carga parasitaria, que representa mayor utilización del medicamento y en consecuencia mayor inversión en lo económico. El aspecto de dosis repetitivas se ha ensayado durante los últimos meses en otro trabajo en el laboratorio de Parasitología de esta Facultad y con dosis de 200 μg kg^{-1} a intervalos mensuales se ha logrado la eliminación casi del 100% de las larvas en tejido muscular con movilización de larvas del cerebro hacia tejido muscular usando 5 tratamientos y parece ser una opción efectiva en el tratamiento (Tesis en proceso de Publicación).

Por último otro camino que es la alternativa incluye analizar el efecto de dosis más elevadas a la usada en este trabajo con el principio más efectivo que fue la Ivermectina.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

10.- CONCLUSIONES

Se indujo una infestación con larvas de *Toxocara canis* obteniendo un comportamiento semejante al descrito en la literatura especializada.

Todos los principios utilizados de la familia de las lactonas macrocíclicas empleadas en este trabajo tuvieron actividad antiparasitaria contra las larvas enquistadas de *Toxocara canis* y el principio que mostró la mayor efectividad para su eliminación fue la Ivermectina con una eficacia de 50.8%, la Doramectina tuvo una con eficacia intermedia con 25.5% y finalmente la Moxidectina fue la que tuvo la eficacia más baja con 17.5%.

Los resultados obtenidos sugieren que el uso de dosis únicas de los medicamentos no resultan en una eliminación total de los estados larvarios del parásito, debiendo optarse por la aplicación de tratamientos periódicos en varias ocasiones para provocar una reducción gradual de la carga larvaria, siendo muy útil este aspecto cuando el esquema es aplicado en las perras gestantes sin representar un riesgo de toxicidad o teratogenicidad para los animales, lo cual previene la infestación lactogénica o transplacentaria..

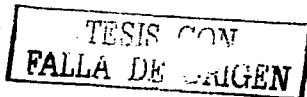
Considerando que la Ivermectina es un principio que ya se encuentra en uso en otros países como antiparasitario destinado a uso humano (tratamiento de la oncocercosis humana) puede ser un buen candidato para emplearlo en el tratamiento del síndrome de larva migrans visceral.

11.- BIBLIOGRAFIA

1. Matzels RM, Tetteh KA, Loukas A. *Toxocara canis*: genes expressed by the arrested infective larval stage of a parasitic nematode. *International Journal of Parasitology*. 30 (2000) 495-508
2. Angus M.D. *Helminthología Veterinaria*. México, Ed. El Manual Moderno, S.A. de C.V., 1983. pp:70-72
3. Gillespie, S.H. Human toxocaríasis. *Communicable Disease Report 3* (1993) 230-50
4. Tomimura T, Yokota M, Tokiguchi H. Experimental Visceral Larva Migrants in Monkeys. I. Clinical, Hematological, Biochemical and Gross Pathological Observations on Monkeys Inoculated with Embryonated Eggs of the Dog Ascarid, *Toxocara canis*. *Jap J. vet. Sci.* 38 (1976) 533-548
5. Cordero del Campillo M, Rojo F.A, Martínez A.R, Sánchez M.C, Hernández S, Navarrete I, Díez P, Quiloz H, Carvahlo M. *Parasitología veterinaria*. Madrid, Ed. Mc Graw-Hill-Interamericana., 1999. pp:636-641
6. Havasiová-Reiterová K, Tomasovicová O, Dubinský P. Effect of various doses of infective *Toxocara canis* and *Toxocara cati* eggs on the humoral response and distribution of larvae in mice. *Parasitol. Res.* 81 (1995) 13-17
7. Parsons J.C, Grieve R.B. Kinetics of liver trapping of infective larvae in murine toxocaríasis. *J. Parasitol* 76:4 (1990), 529-536
8. Rovedo E, Jörg M.E, Barros J.C, Tarducci S. Toxocaríasis (larva migrans visceral). Un caso de la forma clínica encubierta y revisión del tema. *Hospital Materno Infantil de Mar del Plata*
9. Flores A.J. Toxocaríasis: zoonosis por nematodos. *Nuestros Perros* no 5 (1992)
10. Gillespie S.H. Human toxocaríasis. *Journal of Applied Bacteriology* 63 (1987) 473-479

11. Margaret H.D. Smith M.D. Beaver P.C. Persistence and distribution of *Toxocara* larvae in the tissues of children and mice. *Pediatrics* 12 (1953) 491-497
12. Kerr-Muir M.G. *Toxocara canis* and human health. *BMJ* (1994) 309:5-6
13. Tolan R.W. Konop R. Barton L.L. Raunch D. Steele R. Toxocariasis. *EMedicine Journal* 2:5 (2001)
14. Aspects of *Toxocara* epidemiology, human Toxocariasis. *Critical Reviews in Microbiology* 23 (1997) <http://www.library.uu.nl/digiarchief/dip/diss.01754824.c2.pdf>
15. Helwig A.B. Lind P. Nansen P. Visceral larva migrans: migratory pattern of *Toxocara canis* in pigs. *International Journal for Parasitology* 29 (1999) 559-565
16. Parsons J.C. Bowman D.D. Grieve R.B. Pathological and Haematological responses of cats experimentally infected with *Toxocara canis* larvae. *International Journal of Parasitology* 19:5 (1989) 474-488.
17. Warley G. Green J.A. Frothingham T.E. Sturmer R.A. Walls K.W. Pakalnis Y.A. Ellis G.S. *Toxocara canis* Infection: Clinical and Epidemiological associations with seropositivity in Kindergarten children. *Journal of Infectious Diseases* 149:4 (1984) 591-597
18. Mustoe F. *Toxocara canis*: A Review. Stage 3 Biological Imaging. Independent studies. (1999). <http://serigo.derhs.ac.uk/BiologicalImaging/Shows/15599/im.toxocara%20canis.pdf>
19. Takayanagi T.H. Akao N. Suzuki R. Tomoda M. Tsukidate S. Fujita K. New animal model for human ocular toxocariasis: ophthalmoscopic observation. 1999.
20. Radman N.E. Archelli S.M. Fonrouge R.D. Guardis M del V. Linzitto O.R. Human Toxocariasis. Its seroprevalence in the city of La Plata. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 95:3 (2000) 281-285.
21. Jin-Luo Z. Ni-Wang G. Yang C. Luo C. Wen Cheng S. Lino L. Detection of circulating antigens and antibodies in *Toxocara canis* infection among children in Chengdu, China. *J Parasitol.*, 85:2 (1999) 252-256

22. Yamasaki H, Iai H, Watanabe Y, Mak J.W, Zasmy N, Araki K, Chooi L.P, Kita K, Aoki T. Molecular characterization of a cDNA encoding an excretory-secretory from *Toxocara canis* second stage larvae and its application to the immunodiagnosis of human toxocarosis. *Parasitology International* 47 (1998) 171-181
23. Maizels R. Biology of *Toxocara canis*. Rick Maizels's *Toxocara* page http://helius.btu.edu.au/cicaph/maizels/rmm_Toxocara.html
24. Parsons J.C, Coffman R.L., Grieve R.B. Antibody to interleukin 5 prevents blood and tissue eosinophilia but not liver trapping in murine larval toxocarosis. *Parasite Immunology* 15 (1993) 501-508
25. 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 (1998) 243-259
26. Martindales. *The Extra Pharmacopoeia* (Edic. XXIX, 1989)
27. Code of Federal Regulations, U.S.A., 1996, Tomo 21. Apartados: 520.1192, 520.1193, 520.1194, 520.1195, 520.1196, 522.1192, 552.1193, 556.334
28. The Merck Index of Chemicals, Drugs and Biologicals, 12ª edición, 1996. Número 5264
29. USP DI Update (Vol. 1 y 2) 1996
30. U.S PAT. 4, 199, 596 (1979, 1980 DE MERCK & CO).
31. Meghji M, Maizels R.M. Biochemical Properties of larval excretory-secretory glycoproteins of the parasitic nematode *Toxocara canis*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 18 (1986) 155-170
32. Soto C. Inmunología de la infección por helmintos. *Rev. Esp. Alergol Inmunol Clin*. 13: 6 (1998) 297-313
33. Gems D, Maizels R.M. An abundantly expressed mucin-like protein from *Toxocara canis* infective larvae; the precursor of the larval surface coat glycoproteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 93 (1996) 1665-1670



34. Jones R.E., Finkelman F.D., Hester R.B., Kayes S.G. *Toxocara canis*: Failure to find IgE receptors (FcεR) on eosinophils from infected mice suggests that murine eosinophils do not kill helminth larvae by IgE-dependent mechanism. *Experimental Parasitology*. 78 (1994) 64-75
35. Mecusen N.T. Immunology of helminth infections, with special reference to immunopathology. *Veterinary Parasitology*. 84 (1999) 259-273
36. Subiza J., Serna R.R. Inmunoterapia con vacunas alergénicas. *Centro de Asma y Alergia Subiza*. <http://www.clinicasubiza.com/data/conceptbas/inmunoterapia.htm>
37. Parasite Neurobiology. <http://www.aber.ac.uk/~mpg.www/edu/neuro/neuro1st.html>
38. Martínez L.P. *Apuntes de Parasitología humana*. FIESC-1 (2000)
39. NRA Special Review of Macrocyclic lactones. *Chemical Review Section 1998* Canberra Australia. http://www.nra.gov.au/chemres_macrocplst/
40. Johnstone C. Parasites and Parasitic Disease of Domestic Animals. *University of Pennsylvania*, 2000
41. <http://www.inchem.com>
42. Corwin R.M., Nahm J. Anthelmintic drugs. *University of Missouri. College of Veterinary Medicine*, 1997
43. <http://www.pstplacc.com>
44. Geary T.G., Sims S.M., Thomas E. M., Vanover L., Davis J.P., Winterrowd C.A., Klein R.D., Ho N.F.H., Thompson D.P. *Haemonchus contortus*: Ivermectin-Induced Paralysis of the Pharynx. *Experimental Parasitology*. 77 (1993) 88-96
45. Ryan W.G. Ivermectin/ Doramectin/ Moxidectin - Structure and Generation. *Veterinary Bulletin*. (1999)

46. Obwaller A, Duchêne M, Bruhn H, Steipe B, Tripp C, Kraft D, Wiedermann G, Auer H, Aspöck H. Recombinant dissection of myosin heavy chain of *Toxocara canis* show strong clustering of antigenic regions. *Parasitol. Res.* 87 (2001) 383-389
47. Michael B, Meinke P.F, Shoop W. Comparison of Ivermectin, Doramectin, Selamectin and eleven intermediates in an nematode larval development assay. *J. Parasitol.* 87(3) (2001) 692-699
48. Le Jambre L.F, Dobson R.J, Lenane I.J, Barnes E.H. Selection for anthelmintic resistance by macrocyclic lactones in *Haemonchus contortus*. *International Journal for Parasitology* 29 (1999) 1101-1111
49. Köhler P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *International Journal for Parasitology*. 31 (2001) 336-345
50. Geerts S, Coles G.C, Gryseels B. Anthelmintic resistance in human helminths: learning from the problems with worm control in livestock.
51. Shoop W.L, Mrozik H, Fisher M.H. Structure and Activity of avermectins and milbemycins in animal health. *Veterinary Parasitology* 59 (1995) 139-156
52. Harder, A.: Chemotherapeutic approaches to nematodes: current knowledge and outlook: *Parasitol Res.* 88 (2002), 272-277.
53. Hawkins, J.A., Comparison of the persistent Activity of IVOMEC (Ivermectin) 1% Injection and Other Macrocyclic Lactone Endectoecides in Cattle. *Vet. Parasitol.* 70 (1997) 219-224.
54. Abo-Shehada M.N., Herbert I.V., Anthelmintic effects of levamisole, ivermectine, albendazol and fenbendazole, on larval *Toxocara canis* infection in mice. *Res. Vet. Sci.* 36 (1) (1984) 87-91.
55. Congreso AMMVEPE. Estudio Comparativo sobre la eficacia de diferentes antihelmínticos contra larvas enquistadas de *Toxocara Canis*. Martínez L., González L.C., Carrillo M.L., Alba H.F., Monterrey, Nvo. León, México, 1993.



56. Carrillo M., Barriga O., Anthelmintic effects of levamisole, hydrochloride or ivermectine on tissue toxocarasis of mice. *Am. J. Vet. Res.* 48 (2) (1987) 281-283.