



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“EFECTO ANTIPARASITARIO  
DEL FENBENDAZOL SOBRE LARVAS  
DE *Toxocara canis* ALOJADAS EN  
TEJIDOS DE RATONES BLANCOS  
CEPA CD1”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

P R E S E N T A N :

**MARIBEL OLIVARES NAZARIO**

**GIEBELE VARGAS SÁNCHEZ**

ASESOR DE TESIS:

M. en C. JUAN PABLO MARTÍNEZ LABAT

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2008.



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.

## DEDICATORIA

A mis padres:

Floritulia Sánchez Urbán y Anastasio Jaime Vargas Hernández, los pilares más importantes de mi vida y mis mejores amigos.

A mis hermanos:

Xóchitl Yoali, Ixchel, Viani y Cuauhtémoc  
Por su amor inmensurable y su apoyo incondicional.

A mi amada Universidad.

Gie-Bele Vargas Sánchez

## **AGRADECIMIENTOS:**

A la vida que me ha dado tanto...

A mis padres por demostrarme día a día su amor, confianza, respeto y por enseñarme a luchar por lo que uno quiere.

A mis hermanos por creer siempre en mí, apoyarme en todos mis sueños y compartir conmigo la alegría de la vida.

A toda mi familia por transmitirme en cada momento su confianza y fortaleza.

A mis amigos por formar parte de mi vida y por todo lo que juntos hemos aprendido.

A todos mis profesores por compartir sus conocimientos y valores.

A Don Rafa por apoyarnos siempre en la obtención de cachorros, importantes para la realización de este trabajo.

A cada uno de los integrantes del Laboratorio de Parasitología de la FESC por convivir con nosotras en un ambiente de respeto, por su apoyo y asesorías a lo largo de la experimentación.

A Maribel porque juntas logramos concluir una mas de nuestras metas, por su amistad y respeto en todo momento.

A nuestro asesor Juan Pablo Martínez Labat por su confianza, paciencia y apoyo durante la realización de este trabajo, por sus enseñanzas y por todo lo que de él aprendí.

A la Universidad por permitirme ser parte de ella.

Gie-Bele Vargas Sánchez

## DEDICATORIAS

A todas aquellas personas que me han apoyado incondicionalmente a lo largo de los años: mis padres, amigos (hermanos) y profesores. Sin ustedes mi vida no sería la misma.

Libiam nè lieti calici  
Che la bellezza infiora,  
E la fuggevol ora  
S'inebri a voluttà (...)

Tra voi saprò dividere  
Il tempo mio giocondo;  
Tutto è follia nel mondo  
Ciò che non è piacer.  
Godiam, fugace e rapido  
È il gaudio dell'amore;  
È un fior che nasce e muore,  
Nè più si può goder.

Giuseppe Verdi,  
Francesco Maria Piave

Ando vagabundo y me tiendo a mis anchas a mirar  
un tallo de hierba estival.  
Mi lengua, cada átomo de mi sangre, se formaron  
de este suelo, de este aire.  
He empezado a vivir, y sólo espero no dejar  
de hacerlo hasta mi muerte.

Walt Whitman

Un hombre nada puede desear a menos que antes comprenda que sólo debe contar consigo mismo; que está solo, abandonado en la tierra en medio de sus infinitas responsabilidades, sin ayuda, sin más propósito que el que él mismo se fija, sin otro destino que el que él mismo se forja sobre la tierra.

Jean-Paul Sartre

Si venimos de la nada y vamos hacia la nada, yo propongo que pasemos el tiempo que nos queda celebrando la existencia misma de la vida.

Lou Marinoff

Maribel Olivares Nazario

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional  
Autónoma de México, mi casa de  
estudios.

A todos los profesores que me han  
apoyado a lo largo de la carrera,  
principalmente al Dr. Enrique  
Ángeles Anguiano, por haberme  
abierto las puertas de su  
laboratorio y por haber sembrado  
en mí el entusiasmo por la  
investigación.

Agradezco con especial cariño al  
profesor Gerardo Cruz Jiménez, por  
su atenta disposición a escucharme y  
a compartir conmigo fragmentos de  
su valiosa existencia; por todas las  
veces que me ha ayudado a  
levantarme y a apreciar la alegría de  
vivir. De todo corazón, muchísimas  
gracias.

Al profesor Pablo Martínez Labat,  
por su increíble e infinita paciencia,  
así como por su apoyo incondicional  
tanto en el ámbito académico como  
en el personal; por la confianza que  
depositó en nosotras y por permitir  
acercarnos al maravilloso ser  
humano que es. Sin él esta  
investigación hubiera sido imposible.

A Gie-bele, por haber soportado  
mi obsesión por la ortografía, la  
gramática, la sintaxis, la  
concordancia y la calidad en el  
trabajo.

A los sinodales, que  
amablemente revisaron y  
aportaron sus gentiles  
contribuciones al presente texto.

Maribel Olivares Nazario

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
ÍNDICE DE GRÁFICOS	VI
ÍNDICE DE TABLAS	VII
GLOSARIO	IX
LISTA DE ABREVIATURAS	XIV
RESUMEN	XVII
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Morfología.	2
1.2 Epidemiología.	5
1.3 Ciclo biológico.	9
1.4 Mecanismos de acción patógena.	13
1.5 Manifestaciones clínicas.	14
1.5.1 Manifestaciones clínicas en el humano.	14
1.5.1.1 Síndrome de larva migrans visceral.	15
1.5.1.2 Síndrome de larva migrans ocular u oftálmica.	17
1.5.1.3 Síndrome de larva migrans cerebral.	18
1.5.1.4 Síndrome benigno o encubierto.	19
1.5.2 Manifestaciones clínicas en animales.	20
1.6 Respuesta del hospedador.	21
1.7 Diagnóstico.	23
1.7.1 Diagnóstico en humanos.	23
1.7.1.1 Clínico.	24
1.7.1.2 Inmunológico.	24
1.7.1.3 Histopatológico.	26

1.7.1.4	Imagenología.	26
1.7.1.5	Biología molecular.	26
1.7.2	Diagnóstico en animales.	27
1.8	Tratamiento.	28
1.8.1	Tratamiento en humanos.	29
1.8.2	Tratamiento en animales.	30
1.9	Prevención y control.	30
1.10	Fenbendazol.	32
2.	JUSTIFICACIÓN	36
3.	OBJETIVOS	37
3.1	Objetivo general.	37
3.2	Objetivos particulares.	37
4.	MATERIALES Y DISEÑO METODOLÓGICO	38
4.1	Material y equipo de laboratorio.	39
4.2	Material biológico.	39
4.3	Reactivos y soluciones.	39
4.4	Diseño metodológico.	40
4.4.1	Obtención de huevos.	41
4.4.2	Mantenimiento y desarrollo de larvas de <i>T. canis</i> .	41
4.4.3	Determinación de la viabilidad de los huevos de <i>T. canis</i> .	41
4.4.4	Inducción de la parasitosis.	42
4.4.5	Lotes de los ratones de experimentación.	42
4.4.6	Tratamiento de los animales.	44
4.4.7	Tratamiento estadístico	47
5.	RESULTADOS	48
6.	DISCUSIÓN	56
7.	CONCLUSIONES	70
8.	REFERENCIAS	71



ANEXO 1: Resultados directos (sin procesar) en cada unidad experimental, por lote.	XIX
ANEXO 2: Procedimientos estadísticos y cálculo del porcentaje de eficacia.	XXV
a. Análisis de varianza del total de larvas encontradas en los seis lotes.	XXV
b. Análisis de varianza del total de larvas encontradas en cerebro en los seis lotes.	XXVII
c. Análisis de varianza del total de larvas encontradas en músculo esquelético en los seis lotes.	XXIX
d. Prueba de Tukey para el total de larvas encontradas en los seis lotes.	XXXI
e. Prueba de Tukey para el total de larvas encontradas en cerebro en los seis lotes.	XXXII
f. Prueba de Tukey para el total de larvas encontradas en músculo esquelético en los seis lotes.	XXXIII
g. Porcentaje de eficacia de los tratamientos para el total de larvas.	XXXIV
h. Porcentaje de eficacia de los tratamientos para el total de larvas enquistadas en cerebro.	XXXIV
i. Porcentaje de eficacia de los tratamientos para el total de larvas enquistadas en músculo esquelético.	XXXV

## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Morfología de la parte anterior de <i>Toxocara canis</i> . a) Aletas cervicales y labios. b) Detalle de labios y orificio oral.	3
Fig. 2. Macho y hembra de <i>T. canis</i> adultos.	4
Fig. 3. Fase larvaria de <i>T. canis</i> (L-3).	4
Fig. 4. Morfología de los huevos de <i>T. canis</i> . a) Huevos sin embrionar. b) Huevos embrionados o larvados.	5
Fig. 5. Ciclo biológico de <i>T. canis</i> .	12
Fig. 6. Acción mecánica y obstructiva provocada por la fase adulta de <i>T. canis</i> .	13
Fig. 7. Lesiones hemorrágicas en pulmón de jerbos provocadas por la migración larvaria de <i>T. canis</i> .	13
Fig. 8. Sitios anatómicos que pueden ser afectados en el Síndrome de Larva Migrans.	14
Fig. 9. Radiografía de tórax: presencia de infiltrados pulmonares bilaterales en un paciente con síndrome de larva migrans visceral.	16
Fig. 10. Presencia de L-2 de <i>T. canis</i> en globo ocular de un paciente con toxocariosis ocular.	18
Fig. 11. Síndrome de larva migrans cerebral. a) Presencia de L-2 de <i>T. canis</i> en cerebro de un paciente con toxocariosis cerebral. b) Migración larvaria de <i>T. canis</i> en cerebelo de un jerbo a los 100 días p.i.	19
Fig. 12. Manifestaciones clínicas debidas a la infección por <i>T. canis</i> en cachorros (hinchazón abdominal y pelaje hirsuto).	20
Fig. 13. Mecanismos celulares de respuesta inmune inducidos por la presencia de <i>T. canis</i> en los individuos afectados.	22
Fig. 14. Western Blot con antígeno E/S de <i>T. canis</i> de	

habitantes de área tropical (a-f: muestras problema; g: control negativo; h: control positivo).	25
Fig. 15. Presencia de <i>T. canis</i> adulto en heces de un cachorro menor de seis meses.	28
Fig. 16. Estructura química de la molécula del fenbendazol.	33
Fig. 17. Presentación comercial de PANACUR® PLUS tabletas.	34
Fig. 18. Biotransformación del fenbendazol en sus diferentes metabolitos.	35
Fig. 19. Diseño metodológico que se siguió a lo largo de la experimentación.	40
Fig. 20. Diseño metodológico 1.	43
Fig. 21. Diseño metodológico 2.	46
Fig. 22. Mecanismo de acción de los bencimidazoles.	63

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1.	Cantidad de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en cada órgano, por lote de tratamiento.	43
Gráfico 2.	Frecuencia absoluta del total de larvas de <i>T. canis</i> encontradas por lote de ratones.	44
Gráfico 3.	Larvas totales de <i>T. canis</i> encontradas en cerebro en cada lote de ratones.	46
Gráfico 4.	Larvas totales de <i>T. canis</i> encontradas en ME en cada lote de ratones.	46
Gráfico 5:	Porcentaje de eficacia de los tratamientos por lote de ratones.	49

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Esquema de tratamientos y sacrificios de los diferentes lotes.	39
Tabla 2.	Valores promedio de larvas de <i>Toxocara canis</i> encontradas en los órganos de todos los grupos de animales experimentales, aplicando en cada tratamiento una dosis mensual de 5 mg/kg de fenbendazol.	43
Tabla 3.	Valores absolutos de larvas de <i>Toxocara canis</i> encontradas en cada lote de ratones.	44
Tabla 4.	Análisis de varianza del total de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en los seis lotes de ratones.	45
Tabla 5.	Tabla de Tukey para el total de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en los seis lotes de ratones.	45
Tabla 6.	Larvas totales de <i>T. canis</i> encontradas en cerebro y ME en cada lote de ratones.	46
Tabla 7.	Análisis de varianza del total de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en cerebro en los seis lotes de ratones.	47
Tabla 8.	Tabla de Tukey para el total de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en cerebro en los seis lotes de ratones.	47
Tabla 9.	Análisis de varianza del total de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en músculo esquelético en los seis lotes de ratones.	48
Tabla 10.	Tabla de Tukey para el total de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en músculo esquelético en los seis lotes de ratones.	48
Tabla 11:	Porcentaje de eficacia (%E) por tratamiento a nivel global, en cerebro y en músculo esquelético.	49
Tabla 12.	Cantidad de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en cada órgano, por unidad experimental, en el lote de ratones	

	inoculados y no tratados [control (+)].	XII
Tabla 13.	Cantidad de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en cada órgano, por unidad experimental, en el lote de animales que recibió 1 dosis del tratamiento (Tx 1).	XIII
Tabla 14.	Cantidad de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en cada órgano, por unidad experimental, en el lote de animales que recibió 2 dosis del tratamiento (Tx 2).	XIV
Tabla 15.	Cantidad de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en cada órgano, por unidad experimental, en el lote de animales que recibió 3 dosis del tratamiento (Tx 3).	XV
Tabla 16.	Cantidad de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en cada órgano, por unidad experimental, en el lote de animales que recibió 4 dosis del tratamiento (Tx 4).	XVI
Tabla 17.	Cantidad de larvas de <i>T. canis</i> encontradas en cada órgano, por unidad experimental, en el lote de ratones no inoculados y no tratados, [control negativo (-)].	XVII

## GLOSARIO

**Acción expoliatriz:** Consiste en sustraer elementos importantes al hospedador, lo cual conduce al desarrollo de la enfermedad. Variables: a) Histófago (sustracción de tejidos); b) Hematófago (sustracción de sangre; c) Quimófago (sustracción de alimento digerido); d) Citófago (sustracción de componentes del citoplasma).

**Acción irritativa:** Se relaciona con la alimentación de los parásitos o por establecimiento de contacto continuo (por fijación o alimentación) con los tejidos.

**Acción mecánica:** Efectos derivados de la presencia por fijación, asentamiento ó crecimiento de los parásitos. Por ejemplo: acción obstructiva (implica bloquear el flujo de líquidos en órganos tubulares); o acción compresiva (presión sobre los tejidos debido al crecimiento de los parásitos).

**Acciones patógenas:** Alteraciones causadas al hospedero por interacción con los parásitos; se dividen en: acciones directas (irritativas, mecánica, tóxica, expoliatriz y traumática) o indirectas (inmunogénica e inoculatriz).

**Caquexia:** Debilidad intensa y generalizada, desnutrición.

**Celomiarrio:** Tipo de músculos que presentan fibrillas contráctiles en la periferia del cuerpo de los nematodos, sobre tres lados, faltando en la cara que va a la cavidad corporal.

**Control:** Implica la aplicación de estrategias después de que se ha presentado una enfermedad.

**Cuadro clínico:** está integrado por los signos y síntomas.

**Dentígero:** Protuberancias que desempeñan la función de corte o erosión de los tejidos, que se encuentran en los bordes de los labios en *Toxocara canis*.

**Depredación:** Relación en la que un organismo (depredador) mata para alimentarse optimizando por completo el cuerpo de su víctima (la presa) sin desperdiciar sus componentes energéticos.

**Diagnóstico:** Procedimiento(s) técnico(s) por el cual se identifica una enfermedad, entidad nosológica, síndrome, o cualquier condición de salud-enfermedad.

**Dirofilariosis:** Enfermedad producida por una especie de nematodo parásito (*Dirofilaria immitis*) que se expande de hospedero a hospedero por medio de las picaduras de mosquitos. El parásito afecta a los perros, gatos, lobos, coyotes, zorros, hurones, leones marinos, e incluso a los humanos. El gusano es llamado "gusano del corazón" porque en su fase adulta reside en el corazón del hospedero, donde puede quedarse varios años.

**Epidemiología:** Ciencia auxiliar de la medicina que estudia los eventos asociados a la presentación de las enfermedades, así como sus repercusiones en las diferentes poblaciones animales, incluido el humano.

**Epítipo:** Parte de una macromolécula que es reconocida por el sistema inmunológico.

**Estasis:** Estancamiento de sangre o de otro líquido en alguna parte del cuerpo.

**Evasión inmune:** Acciones que el parásito realiza para evitar los mecanismos de defensa del hospedador. Por ejemplo: enquistamiento, variación antigénica, mimetismo antigénico, evolución antigénica, degradación de productos defensivos, etc.



**Geofagia:** Es el consumo regular e intencional de tierra.

**Gubernáculo:** Órgano que regula la posición de las espículas en los órganos genitales de nematodos de sexo masculino.

**Hipobiosis:** También llamada dormancia o arresto larvario, es la interrupción temporal del desarrollo parasitario en un momento específico del ciclo biológico de los nematodos bajo condiciones no propicias para el desarrollo del mismo.

**Hospederos:** Organismos que alojan parásitos.

**Hospedero paraténico:** Es aquél que permite el desarrollo limitado de algunas fases (fases no maduras) del parásito. Pueden existir muchos tipos de hospederos paraténicos, pero no son imprescindibles para que concluya el desarrollo del organismo parasitario.

**Hospedero susceptible:** Es el individuo receptor de los agentes infecciosos que desarrollará la enfermedad.

**Inmunoglobulinas:** Proteínas conocidas como anticuerpo o inmunoglobulinas, son altamente específicas y producidas en respuesta a antígenos específicos.

**Interleucinas:** Conjunto de proteínas sintetizadas y expresadas por leucocitos e histiocitos; tienen como función la intercomunicación entre las distintas subpoblaciones leucocitarias, participando en la respuesta del sistema inmunitario.

**Intraorgánica:** Migración que involucra el desplazamiento del parásito por diferentes órganos extraintestinales.

**Lesiones:** Cambios de estructura de los tejidos o de órganos.

**Migraciones:** Desplazamientos que desarrollan los parásitos con la finalidad de alcanzar la zona más adecuada para su asentamiento y maduración. Existen tres variantes: a) Simples, implican el desplazamiento de los parásitos por un aparato o sistema; b) Complejas, involucran el desplazamiento del parásito por más de un aparato o sistema, existiendo diferentes grados de complejidad; c) Errática, implica desplazamientos de los parásitos hacia sitios no habituales.

**Nitroscanate:** Antihelmíntico de amplio espectro, efectivo contra céstodos, trematodos y nematodos. Es un difeniléter que interfiere con la generación de energía del parásito.

**Paragonimiosis:** Es una zoonosis parasitaria causada por especies de trematodos del Género Paragonimus. El humano se infecta al ingerir cangrejos y otros crustáceos parasitados y por manipulación de utensilios contaminados. El parásito adulto se localiza en los pulmones, produciendo una sintomatología que puede llegar a ser confundida con la tuberculosis o histoplasmosis. El diagnóstico de casos humanos se hace a través de exámenes parasitológicos e inmunológicos.

**Parásito:** (para = a un lado; sitos = alimento) Organismo que vive dentro, sobre o entre los tejidos de otro organismo, dependiendo metabólicamente, al sustraer elementos vitales para el hospedero como: agua, sangre, linfa, citoplasma y tejidos; provocándole daño.

**Parasitosis:** Es la enfermedad causada por parásitos, puede ser de dos tipos: a) Primaria, causada directamente por los parásitos, o b) Secundaria u oportunista, en la que el agente parasitario se asocia a otro organismo que ya se encuentra asentado y causando enfermedad. Por ejemplo: el virus del SIDA.

**Patogenia:** Se define como el conjunto de mecanismos por medio de los cuales el parásito origina las modificaciones que llevan al desarrollo de la enfermedad.

**Prevención:** Aplicación de estrategias que impiden la presentación de la enfermedad, como vacunas y una adecuada alimentación.

**Reservorios:** Son hospederos que se infectan, permiten la reproducción de los parásitos e incluso los diseminan, pero no desarrollan la enfermedad asociada al parasitismo.

**Signo clínico:** Cualquier cambio identificable a través de la exploración del paciente.

**Síntomas:** Cambios expresados por el paciente que corresponden a modificaciones fisiológicas o estructurales en su cuerpo.

**Tratamiento:** Involucra la aplicación de procedimientos o fármacos con la finalidad de suprimir los agentes parasitarios, las manifestaciones de la enfermedad o las secuelas de la misma. Puede ser farmacológico, psicológico, psiquiátrico o quirúrgico, entre otros.

**Vasculitis:** Inflamación de los vasos sanguíneos, puede acompañarse de sintomatología general y/o de manifestaciones locales orgánicas dependientes del órgano afectado.

**Zoonosis:** Son las enfermedades compartidas por humanos y animales.

## LISTA DE ABREVIATURAS

° C	Grados Centígrados
%	porcentaje
% E	porcentaje de eficacia
>, <	mayor que, menor que
$\mu$ , $\bar{X}$	media
$\mu\text{m}$	micrómetro
$\Sigma$	sumatoria
ABZ	albendazol
Ag	antígeno
ANOVA	análisis de varianza
cm	centímetro
CM	cuadrados medios
CT	Computed tomography
DL50	dosis letal 50
DMSH	diferencia mínima significativa honesta
DNA	Deoxyribonucleic acid
ELISA	Enzyme linked immuno sorbent assay
ER	error
E/S	Excreción – secreción
FBZ	fenbendazol
Fc	valor crítico para F
Fig	figura
FV	fuentes de variación
g.L.	grados libertad
g	gramos
H <sub>0</sub>	hipótesis nula
H <sub>A</sub>	hipótesis alternativa
Ig A	Inmunoglobulina A
Ig E	Inmunoglobulina E

Ig G	Inmunoglobulina G
Ig I	Inmunoglobulina I
Ig M	Inmunoglobulina M
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-10	Interleucina 10
kg	kilogramo
kg p.v.	kilogramo de peso vivo
KDa	kilodalton
L-2	larva de segundo estadio
L-3	larva de tercer estadio
L-4	larva de cuarto estadio
ME	músculo esquelético
mcg	microgramo
mg	miligramo
mm	milímetro
MRI	Magnetic resonance imaging
N.S	no significativa
PCR	Polymerase chain reaction
p.i.	post-infección
p.p.	post-parto
p.t.	post-tratamiento
r	repeticiones
s	desviación estándar
sc	subcutánea
SC	suma de cuadrados
SCTL	suma de cuadrados totales
SCTR	suma de cuadrados de los tratamientos
SCER	suma de cuadrados del error
SLM	Síndrome de larva migrans
SLMC	Síndrome de larva migrans cerebral
SLMO	Síndrome de larva migrans ocular

SLMV	Síndrome de larva migrans visceral
S/Tx	sin tratamiento
t, TR	tratamientos totales
TC	tomografía computarizada
Tx	tratamiento
v.o.	vía oral

## RESUMEN

La toxocariosis es causada por *Toxocara canis* (*T. canis*), nematodo intestinal de perros jóvenes. En humanos es considerada una infección accidental por ser hospederos paraténicos y porque el parásito no puede completar su ciclo biológico. Es de gran importancia como problema de salud pública por sus variadas formas de transmisión, las cuales facilitan su diseminación.

En el presente estudio se evaluó la eficacia del fenbendazol contra las formas larvares de *T. canis* enquistadas en ratones blancos, enfocándose en la búsqueda de una nueva alternativa al esquema de tratamiento ya existente.

Se emplearon 60 ratones, los cuales fueron divididos en 6 lotes. Se dejó un grupo sin inocular (control negativo), mientras que los cinco restantes fueron infectados con aproximadamente 500 huevos larvados viables de *T. canis*. Se permitió que la infección evolucionara durante 30 días, y se aplicó tratamiento con fenbendazol (5 mg/kg p.v., v.o.) a todos los grupos, excepto a un control positivo. Después de un mes, los dos lotes control y uno de los tratados (Tx 1) se sacrificaron, mientras que a los grupos restantes se les administraron dosis mensuales del fármaco, sacrificando al mismo tiempo un lote después de cada mes de la aplicación del tratamiento, hasta completar 4 administraciones. De cada animal sacrificado se extrajeron 6 órganos distintos: cerebro, riñón, pulmón, hígado, corazón y músculo esquelético (ME), los cuales fueron sometidos a digestión artificial. Posteriormente, los sedimentos de la digestión de cada órgano se examinaron en su totalidad al microscopio para cuantificar la presencia de larvas en ellos.

Los resultados obtenidos se organizaron y procesaron estadísticamente mediante Análisis de Varianza y Prueba de Tukey, además de que se obtuvieron otros parámetros como el porcentaje de eficacia (%E), tanto en

general como en específico para los dos órganos más representativos (cerebro y ME).

Los resultados a nivel global mostraron que el tratamiento produjo una reducción del 10.9% a partir de dos aplicaciones del fármaco, incrementándose hasta llegar a su máximo de 73.5% después de cuatro aplicaciones. Con respecto a cerebro, se encontró que el tratamiento produjo una reducción del 55.32% a partir de la segunda dosis, alcanzando su eficacia máxima de 63.8% después de la cuarta aplicación. En el caso de ME, el fármaco presenta una eficacia del 46.10% a partir de la tercera aplicación, incrementándose hasta llegar al 75 % después de las cuatro dosis.

Con estos datos se puede afirmar que el fenbendazol a dosis de 5mg/kg p.v., v.o. causa una importante reducción de larvas enquistadas de *T. canis* en ratones a partir de la segunda administración mensual, tanto en ME como en cerebro.



## 1. INTRODUCCIÓN

*Toxocara canis* (*T. canis*) es un nematodo parásito de perros y otros cánidos silvestres, y agente causal de la toxocariosis; es capaz de infectar a ratones y humanos, especialmente a los niños. Aunque en hospederos paraténicos no puede completar su ciclo biológico, las larvas migran a través de diferentes órganos hasta que son atacadas por una respuesta inflamatoria por parte de los hospederos y mueren. Las larvas pueden sobrevivir en los tejidos hasta 9 años. El parásito tiene 18 cromosomas en sus células somáticas. Aún no se conoce el tamaño de su genoma, pero se cree que es parecido al de *Ascaris sp.*, es decir, de  $3 \times 10^9$  pares de bases. En su superficie se encuentran proteínas que son reconocidas por el sistema inmune del hospedero, ya sea definitivo o paraténico <sup>(37, 55, 56, 59, 60)</sup>.

Se describen en el humano cuatro formas clínicas, las cuales incluyen: síndrome de larva migrans visceral (SLMV), síndrome de larva migrans ocular u oftálmica (SLMO), síndrome de larva migrans cerebral (SLMC) y síndrome benigno o encubierto.

En hospederos paraténicos, se han descrito dos fases de migración larvaria; en la primera o visceral, las larvas de *T. canis* se liberan en el intestino, inician una migración somática afectando hígado, pulmones y riñones. En la segunda o mioneurotrópica, las larvas migran afectando cerebro, músculo cardíaco y músculo esquelético, permaneciendo en este último como larvas hipobióticas que se mantienen viables e infectivas durante un periodo indefinido, equivalente a la duración de la vida de los mamíferos pequeños. Estas larvas pueden pasar de un hospedero a otro como consecuencia de canibalismo o depredación, sin que haya crecimiento ni diferenciación morfológica, hasta que lleguen a un hospedero canino susceptible. Este modo de transferencia de larvas infectivas por mediación de hospederos paraténicos o de transporte es

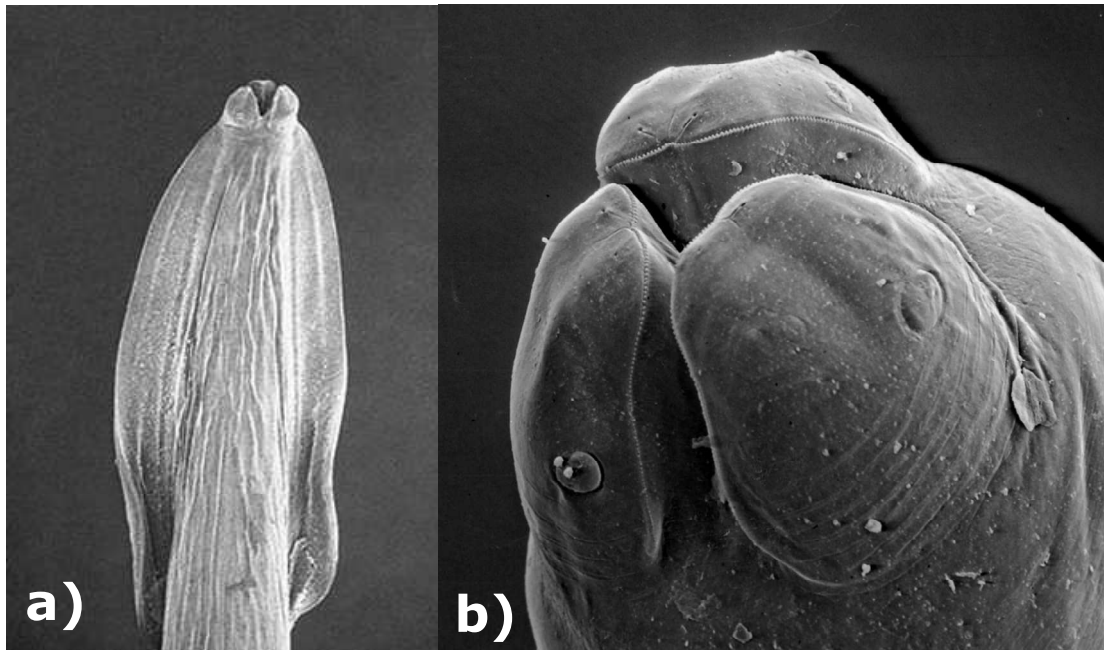
un sistema de transmisión común entre los helmintos parásitos de vertebrados carnívoros (9, 10, 21, 26, 45, 54, 55, 56, 57).

Su posición taxonómica es la siguiente (4, 19, 28, 54):

Dominio	Eucariota
Reino	Animalia
Subreino	METAZOA
Phylum	NEMATODA
Clase	SECERNENTEA (FASMIDIA)
Orden	ASCARIDIDA
Superfamilia	ASCARIDIDAE
Subfamilia	TOXOCARINAE
Género	<i>Toxocara</i>
Especie	<i>T. canis</i>

## 1.1 MORFOLOGÍA

El parásito adulto se localiza en el intestino delgado de perros jóvenes y de varios cánidos silvestres. Son vermes relativamente grandes, blanquecinos y presentan un sistema reticular superficial de crestas y nervaduras consistente en estrías transversales irregulares. En su extremo anterior poseen tres labios bien desarrollados en cuyo centro se abre el orificio oral (Fig. 1), que suele presentar rebordes dentígeros finos. Tienen aletas cervicales estrechas y lanceoladas características (Fig. 1), un esófago cilíndrico de aproximadamente 5 mm. y músculos corporales celomarios (2, 4, 5, 9, 19, 54, 55, 56).



<http://users.unimi.it/parassit/immagini.htm>; 2008.

Fig. 1. Morfología de la parte anterior de *Toxocara canis*. a) Aletas cervicales y labios. b) Detalle de labios y orificio oral.

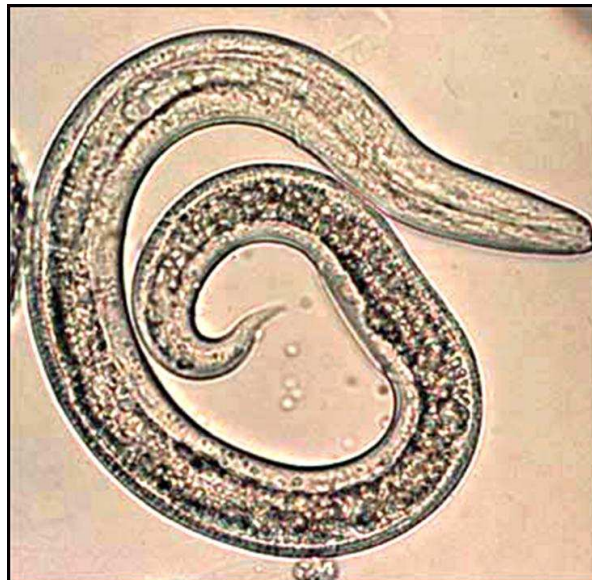
Como en la mayoría de los nematodos, los ejemplares adultos presentan sexos separados, los machos maduros miden generalmente 4-10 cm. de longitud y las hembras 6-18 cm.; aunque se han observado longitudes máximas de 13 y 20 cm., respectivamente (Fig. 2). Los machos presentan en su extremo caudal un apéndice digitiforme. Poseen una serie de papilas preanales y postanales, con espículas ligeramente desiguales y no existe gubernáculo. En la hembra, la vulva se sitúa a la altura de la quinta o la sexta parte de la longitud del cuerpo desde el extremo anterior <sup>(2, 4, 9, 19, 54)</sup>



<http://zmolu.vlcak.cz/cs/sav/zdravi.aspx>; 2008.

Fig. 2. Macho y hembra de *T. canis* adultos

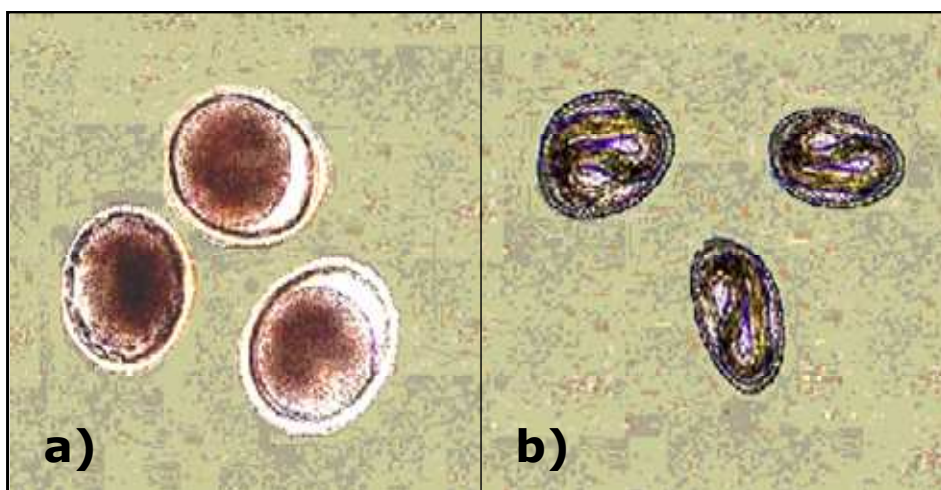
Las larvas de *T. canis* miden aproximadamente 0.4  $\mu\text{m}$  de longitud por 0.018  $\mu\text{m}$  de diámetro y son fácilmente distinguibles de las larvas de otras especies. En el medio externo siempre se encuentran en el interior del huevo <sup>(19)</sup> (Fig. 3).



<http://www.snof.org/maladies/toxocarose.html>; 2008.

Fig. 3. Fase larvaria de *T. canis* (L-2).

Los huevos son redondeados u ovoides, de unas 85 por 75  $\mu\text{m}$ , formados por varias capas concéntricas de una cubierta proteica muy gruesa y rugosa, su coloración es pardo-amarillenta y contienen un cigoto sin segmentar, que ocupa la totalidad de la cavidad interna en el momento de la puesta. Poseen depresiones en la cáscara y no están embrionados cuando se depositan (Fig. 4). Si se obtienen directamente de las hembras grávidas por histerectomía, presentarán coloración blanquecina <sup>(2, 4, 9, 18, 54, 60)</sup>.



Olivares, M. y Vargas, G.; 2008.

Fig. 4. Morfología de los huevos de *T. canis*. a) Huevos sin embrionar. b) Huevos embrionados o larvados.

## 1.2 EPIDEMIOLOGIA

La toxocariosis es probablemente la zoonosis producida por nematodos más propagada mundialmente y pueden infectarse personas de cualquier edad. El estudio epidemiológico de la toxocariosis es complejo, ya que se deben considerar tres puntos -así como su interconexión-, que son: la enfermedad de los cánidos, la contaminación ambiental y la toxocariosis humana <sup>(19)</sup>.

El parásito es cosmopolita y prevalente en regiones templadas y tropicales del mundo, con alta incidencia, patogenicidad e importancia como problema de salud pública al provocar zoonosis de amplia morbilidad. A nivel mundial se ha reportado su presencia en el 80% de los perros; por otra parte, Barriga *et. al* demostraron que están infectados 99.4 % de los recién nacidos <sup>(2, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 43, 44, 46, 52, 56, 59)</sup>.

En nuestro país se han realizado análisis que comprueban que es el parásito más común en perros menores de 6 meses. Sin embargo, su incidencia no se conoce con exactitud, puesto que los reportes varían entre 15% y 100%, tan sólo en el D.F. De cualquier manera, la contaminación del suelo con heces de perro, especialmente en áreas recreativas, constituye un enorme riesgo de infecciones parasitarias en el humano. En la Ciudad de México, el porcentaje de contaminación del suelo con este parásito es del 12.5% <sup>(19, 23, 33, 34, 55)</sup>.

Sólo los cachorros menores de seis meses alojan al parásito adulto, en tanto que los perros adultos almacenan larvas enquistadas en su cuerpo (vísceras y musculatura). Los animales que pasan el periodo crítico de la infección se recuperan por completo y expulsan los parásitos de su intestino en los primeros seis meses de vida <sup>(2, 20, 56)</sup>.

La infección del perro con *T. canis* puede adquirirse de la siguiente manera:

- Por la ingestión de huevos infectivos del suelo.
- Por la ingestión de larvas presentes en los tejidos de hospederos paraténicos (canibalismo o depredación).
- Por la recepción de larvas de la madre a través de la placenta, la leche o ambas <sup>(5, 9, 19, 20, 28, 50, 59, 60)</sup>.

Son susceptibles a la infección ratones, ratas, cerdos, corderos, hámsters y los demás mamíferos puestos a prueba hasta la fecha.

El reservorio de *T. canis* para el hombre son los perros infectados, además de otros cánidos silvestres como lobos y zorros. La fuente de infección es el suelo contaminado con los huevos infectantes. El mecanismo de transmisión es la ingestión de estos huevos mediante los alimentos, el agua o las manos contaminadas; incluso se ha identificado en la Ciudad de México su presencia en vegetales destinados a consumo humano: 1.9% en las zanahorias y 6.5% en los rábanos analizados. El 33.3% de estos huevos estaban embrionados. También se debe considerar el contacto directo con perros, ya que se ha documentado que en sus pelos pueden permanecer adheridos los huevos viables <sup>(2, 4, 5, 19, 20, 40, 55, 56, 57, 62)</sup>.

La infección del hombre es generalmente individual y aunque no se difunde de humano a humano, se han descrito pequeños brotes de hasta siete personas. En México están documentados tanto el SLMV como el SLMO; no obstante, esta enfermedad se encuentra subestimada y subdiagnosticada <sup>(2, 5, 40)</sup>.

El principal riesgo referido para la infección de los humanos lo constituye la presencia de huevos larvados en el suelo debido a la contaminación con heces de perro. Cada cachorro ligeramente infectado y no desparasitado contribuye a la contaminación ambiental con 100,000 huevos por cada gramo de heces, es decir, casi 1.4 millones de huevos de *T. canis* al día, los cuales se desarrollan hasta alcanzar el estadio infectivo en unas 3 semanas a temperaturas estivales; persisten en el suelo muchos meses y, en casos excepcionales, durante varios años, originando zonas muy infectivas. Los huevos se mantienen viables en suelos húmedos (75-85%), sombríos y frescos, pueden soportar un intervalo amplio de temperatura que oscila entre -25 °C y +37 °C, son altamente resistentes a factores físicos y químicos. Esta resistencia a las condiciones ambientales tiene gran importancia en la contaminación del suelo y en su papel como fuente de infección para perros no desparasitados y para personas que pueden infectarse en condiciones especiales. Además, debido a la acción de las lluvias, los vientos y otros factores mecánicos (roedores, aves e insectos como la mosca doméstica), es posible que los huevos se transporten

a lugares distantes y alcancen grandes concentraciones en algunos puntos. Unos miligramos de tierra recogida de la superficie de estos sitios puede contener centenares de huevos infectantes (2, 5, 9, 19, 22, 28, 39, 48, 49, 54, 56).

La geofagia o pica es un antecedente común en casos de toxocariosis, por lo que se considera un factor de riesgo importante para la infección. Los niños son los más expuestos a ser infectados porque tienen un contacto más estrecho con los perros, frecuentan parques públicos, campos de juego o aceras fuertemente contaminadas con heces de perro y se llevan tierra, manos y diferentes objetos contaminados a la boca, facilitando la ingestión de los huevos del parásito. Otros grupos de alto riesgo son los criadores de perros, los veterinarios y las personas inmunocomprometidas. En todos los casos, la mayoría de las infecciones presentan antecedentes de deficiente saneamiento ambiental en las viviendas y mala higiene personal (2, 4, 5, 12, 19, 20, 28, 38, 40, 50, 55, 57, 59, 60).

Aunque la seroprevalencia incrementa con la edad, el SLMV se presenta con manifestaciones más severas en niños, es diagnosticado principalmente a la edad de 1-7 años. Por el contrario, el SLMO es más común en adolescentes y adultos jóvenes. Estudios serológicos demuestran que del 5 al 30% de los niños de entre 1 y 6 años que tienen el hábito de comer cosas sucias tienen riesgo de estar infectados, y el 18% de la población general son positivos a reacciones de anticuerpos contra *T. canis* usando la técnica de ELISA. Sin embargo, el número de casos diagnosticados como SLMV es mucho menor que el esperado de estas prevalencias, indicando que sólo una fracción de infecciones conducen a signos clínicos (20, 31, 37, 59, 60).

Aunque sólo algunos pacientes llegan a morir, no es una causa frecuente de muerte en humanos; sin embargo, causa pérdidas económicas debido a la morbilidad, además de reducción de productividad y gastos asociados con el diagnóstico y tratamiento. La toxocariosis presenta frecuencias variables de acuerdo a las regiones estudiadas y a la metodología utilizada para



identificarla, la mayor parte de los casos clínicos se ha notificado en países industrializados porque poseen mejores facilidades de diagnóstico; sin embargo, se sostiene que la infección es mucho más prevalente en los países en desarrollo (2, 4, 12, 19, 23, 44, 47, 54, 60).

### **1.3 CICLO BIOLÓGICO**

El ciclo de vida de *Toxocara canis* es más complejo que el de otros nematodos, ya que presenta diferentes mecanismos de infección a sus distintos hospederos. La forma en que el parásito continúa o completa su ciclo biológico dependerá de la edad, el sexo y la historia previa de la infección del hospedador (Fig. 5) (4, 9, 12, 19, 38, 54).

En presencia de oxígeno y condiciones favorables de humedad (75-85%) y temperatura (15-35 °C), los huevos sin embrionar depositados en el suelo se desarrollan hasta llegar al estadio infeccioso de L-2 después de 2-4 semanas de su eliminación por las heces. Las larvas que se encuentran en el interior se mantienen infectivas durante varios meses debido a que están protegidas por la cubierta proteica del huevo. Tras ser ingeridos por el perro, los huevos eclosionan en el intestino delgado y liberan las L-2, que penetran en la mucosa del duodeno (4, 9, 12, 19, 54, 60).

Cuando el hospedador es un cachorro de hasta tres meses de edad, las larvas se diseminan por vía hemática al hígado y pulmón (L-2/L-3), atraviesan alvéolos, ascienden el árbol traqueobronquial hasta llegar a la faringe para ser deglutidas; finalmente se asientan en intestino delgado, donde sufren la cuarta y última muda que constituye el paso a la fase adulta. Después de 3-5 semanas p.i. el macho y la hembra copulan, y ésta última pone huevos que salen en las heces del perro (4, 12, 19, 38, 54).

Sin embargo, en cachorros mayores de 6 meses y perros adultos un número muy reducido de larvas no pasan desde los pulmones a la tráquea, sino que regresan al corazón, desde donde se distribuyen por la circulación sistémica a todo el organismo. Al llegar a los diferentes tejidos somáticos interrumpen su desarrollo y permanecen encapsuladas viables durante varios meses e incluso años. Los sitios donde se asientan con mayor frecuencia son tejido muscular y sistema nervioso central <sup>(4, 12, 13, 20, 29, 30, 34, 48, 54)</sup>.

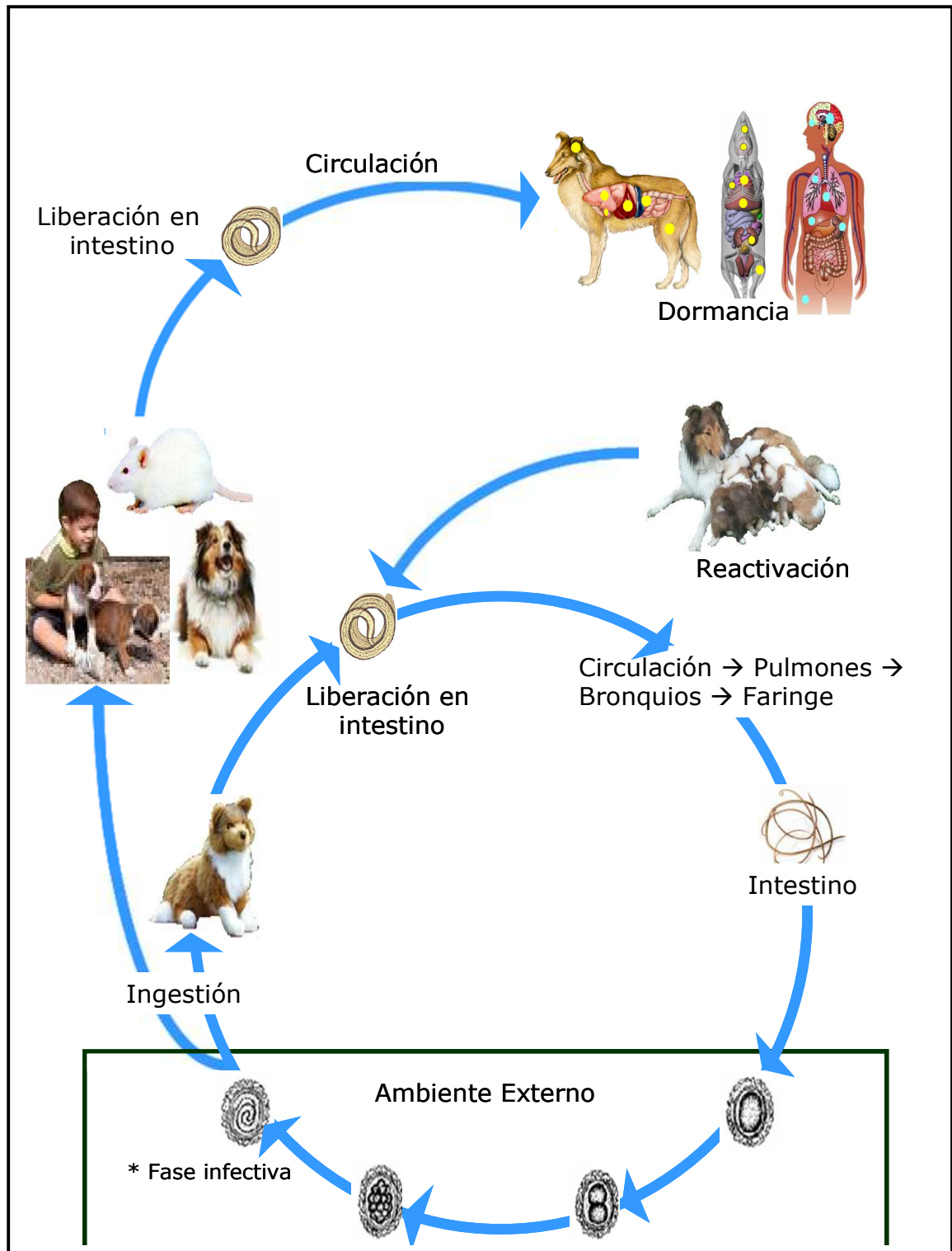
Normalmente en perros mayores de un año no se desarrolla el parásito adulto, debido, probablemente, a algún tipo de resistencia ligada a la edad; sin embargo, pueden hallarse en casos de deficiencia inmunitaria o ingestión de hospederos paraténicos <sup>(48)</sup>.

Si el hospedador es una hembra, se producirá una desinhibición larvaria a partir del día 42 de gestación. Aunque este mecanismo de reactivación aún no ha sido completamente dilucidado, se cree que se debe a la disminución de la inmunidad de la madre, o bien a las alteraciones hormonales propias de este periodo, especialmente el incremento de prolactina. Las larvas cuyo desarrollo estaba detenido en los tejidos se movilizan al útero y a la glándula mamaria, posteriormente pasan a la camada por dos vías: transplacentaria, donde mudan a L-3 justo antes de que nazcan (98%); y vía transmamaria o lactogénica, por ingestión de L-3 con la leche materna (1.5%). En este caso, después del nacimiento no hay migración larvaria intraorgánica en los cachorros; únicamente ascienden por la tráquea y llegan al intestino para transformarse en adultos, los cuales eliminan huevos que pueden reinfectar a la madre y a su camada, ya que los cachorros siguen siendo susceptibles de reinfección hasta que alcanzan la madurez sexual, sobre todo las hembras. Las larvas que quedan en la madre después de una preñez son capaces de infectar una o más camadas posteriores de cachorros <sup>(4, 9, 13, 19, 20, 43, 48, 49, 54, 57, 59)</sup>.

Por otra parte, es posible la intervención de hospederos paraténicos que faciliten la consecución del ciclo biológico, por ejemplo: roedores, cerdos,

corderos, y otros mamíferos, incluido el hombre. En ellos la infección se produce al ingerir huevos embrionados del parásito recogidos del suelo, seguida por la eclosión intestinal y una migración intraorgánica de la larva hasta llegar a un enquistamiento tisular, asentándose principalmente en tejido muscular y nervioso. Aunque no tienen crecimiento, diferenciación morfológica ni pueden completar su ciclo biológico, mantienen un metabolismo activo y se pueden mantener viables e infectivas durante un periodo indefinido que puede alcanzar hasta 9 años sin ser destruidos por la respuesta inmune, hasta la intervención (depredación) por el hospedero definitivo. En este último caso no existe la migración somática en el cánido, sino que siguen la ruta traqueal y alcanzan el estado adulto en el intestino del nuevo hospedero. En esta fase de arresto larvario -también llamada "dormancia"- el hombre presenta el cuadro clínico de SLM, donde los órganos más afectados son: hígado, pulmones, cerebro y ojos <sup>(4, 9, 13, 19, 27, 30, 34, 37, 48, 56, 58, 59, 60)</sup>.

En la página 12 se presenta en la figura 5 un esquema con los principales eventos en el ciclo biológico de *T. canis*.



Olivares, M. y Vargas, G.; 2008.

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

#### 1.4 MECANISMOS DE ACCIÓN PATÓGENA

El gusano adulto ejerce acción expoliatriz (que en este caso es histófaga y de líquidos tisulares) y quimófaga, selectiva por algunos nutrientes como la vitamina C, carbohidratos y péptidos. En infecciones masivas provoca una acción mecánica y obstructiva en intestino y a veces en colédoco, causando estasis biliar, que se refleja en mala digestión. Esta obstrucción también produce inflamación por la liberación activa de antígenos de excreción y secreción (E/S) que pueden provocar anafilaxia como resultado de la respuesta inmunológica (Fig. 6) <sup>(19, 20, 40, 53)</sup>.



Mehlhorn, H. *et. al*; 2003.

Fig. 6. Acción mecánica y obstructiva provocada por la fase adulta de *T. canis*.

Por su parte, las larvas provocan irritaciones a diferentes tejidos como: pared intestinal, parénquima hepático, cardíaco y pulmonar, provocando la ruptura de capilares y alvéolos. Además hay una acción mecánica y obstructiva. La migración de las larvas provoca lesiones hemorrágicas en hígado, pulmón, riñón, tejido muscular y cerebro, que serán más o menos evidentes según su número (Fig. 7) <sup>(4, 19, 40)</sup>.



Martínez, P.; 2006.

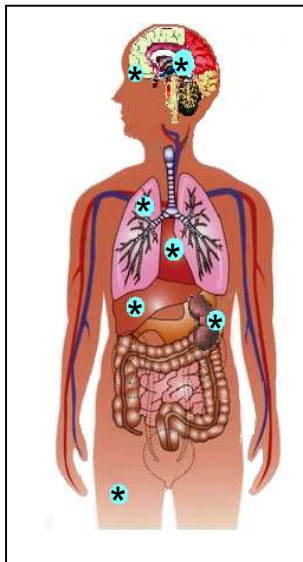
Fig. 7. Lesiones hemorrágicas en pulmón de jerbos provocadas por la migración larvaria de *T. canis*.

## 1.5 MANIFESTACIONES CLINICAS

### 1.5.1 Manifestaciones clínicas en humanos

Muchas de las infecciones humanas son asintomáticas, con tan sólo eosinofilia y serología positiva. Aunque no se conoce la dosis total infectiva para el humano, estudios recientes han demostrado que la patogenia del SLM se relaciona con el número de huevos ingeridos, la cantidad de larvas que entran en el tejido y la ubicación en los mismos, así como la respuesta inmune del hospedero. Éstos son factores determinantes y proporcionales de la migración larvaria a diferentes órganos, la cual determinará el tipo de síndrome que se presente (Fig. 8). Las principales formas clínicas de la toxocariosis son: (2, 19, 20, 27, 28, 40, 46, 50, 54, 55, 59, 60)

- a) Síndrome de larva migrans visceral.
- b) Síndrome de larva migrans ocular u oftálmica.
- c) Síndrome de larva migrans cerebral.
- d) Síndrome benigno o encubierto.



Olivares, M. y Vargas, G.; 2008.

Fig. 8. Sitios anatómicos que pueden ser afectados en el síndrome de larva migrans.

### **1.5.1.1 Síndrome de larva migrans visceral:**

Descrito por Beaver *et. al* en 1952; se refiere a la presencia de larvas de parásitos que migran en los tejidos sistémicos del hombre -excepto en la piel-, sin alcanzar la madurez sexual. Aunque puede ser ocasionada por varios géneros de helmintos, la denominación generalmente se reserva para las infecciones viscerales extraintestinales causadas por *Toxocara sp.* Esta enfermedad es relativamente frecuente debido a la popularidad de las mascotas y su asociación cercana con los humanos; se presenta generalmente en niños de corta edad de entre 1-7 años <sup>(2, 4, 5, 7, 27, 44, 54, 55, 57, 60)</sup>.

Los síntomas más comunes incluyen: malestar general, fiebre, problemas respiratorios como tos, dificultad para respirar y episodios de obstrucción del flujo de aire que puede semejar un cuadro clínico de asma, anemia, eosinofilia, hepatoesplenomegalia, hipergammaglobulinemia, dolor abdominal, pérdida de peso, mialgia, anorexia, alto número de eritrocitos, dolor del hipocondrio derecho y un aumento de isohemaglutininas Anti-A y Anti-B <sup>(5, 14, 28, 34, 36, 40, 44, 47, 50, 54, 59, 60)</sup>.

Se presentan algunas manifestaciones dermatológicas como erupciones pruriginosas, urticaria asociada a eosinofilia, además de edema y elevada sensibilidad en nódulos linfoides del tronco y de extremidades inferiores; lo anterior se debe al fenómeno de hipersensibilidad, signos característicos de alguna infección <sup>(20, 28, 40, 57, 60)</sup>.

Entre las manifestaciones pulmonares que provoca se encuentran la dificultad para respirar, fallas respiratorias y neumonía eosinofílica, la cual es una respuesta de inflamación pulmonar observada en enfermos asmáticos. Han sido reportados casos donde las larvas producen túneles por lesiones traumáticas, inflamatorias y necróticas durante su migración. La radiografía pulmonar revela la presencia de infiltrados bilaterales que cambian de aspecto en poco tiempo; asimismo, se han reportado lesiones consistentes en nódulos

de hasta 4 cm. Es frecuente encontrar leucocitosis y siempre habrá aumento de eosinófilos, los cuales pueden aumentar en un 50% o más, semejando una leucemia eosinofílica. Se cree que este infiltrado es producto de una respuesta alérgica ante la larva (Fig. 9) (2, 5, 12, 20, 27, 28, 40, 44, 47, 50, 54, 57, 59, 60).



Martínez, P.; 2006.

Fig. 9. Radiografía de tórax: presencia de infiltrados pulmonares bilaterales en un paciente con síndrome de larva migrans visceral.

Se presenta hepatoesplenomegalia y abscesos hepáticos concomitantes. Las lesiones provocadas por la invasión larvaria causan la formación de granulomas, formados por un infiltrado de células mononucleares y por el acúmulo de histiocitos alrededor de las larvas, las cuales se rodean progresivamente de tejido fibroso y terminan por calcificarse (5, 12, 20, 40, 57, 60).

Es frecuente encontrar manifestaciones reumatológicas como artralgias, monoartritis y vasculitis. Aunque las manifestaciones cardiacas son infrecuentes, en algunos estudios se ha encontrado miocarditis relacionada con el SLMV. También se ha documentado el daño renal que puede producir (17, 57, 60).

En niños pequeños la enfermedad puede presentarse en una forma más grave con accesos asmáticos, astenia, palidez y cansancio, fiebre alta, anorexia, artralgia, mialgia, náusea, vómito, hepatomegalia, linfadenopatía y a veces



urticaria y edema angioneurótico. Aunque muchos niños infectados son asintomáticos o muestran manifestaciones leves, se han registrado decesos por extenso compromiso del corazón o sistema nervioso central. También se han reportado pacientes pediátricos con cuadro clínico de abdomen agudo <sup>(2, 5, 12, 20, 28, 44, 47, 57)</sup>.

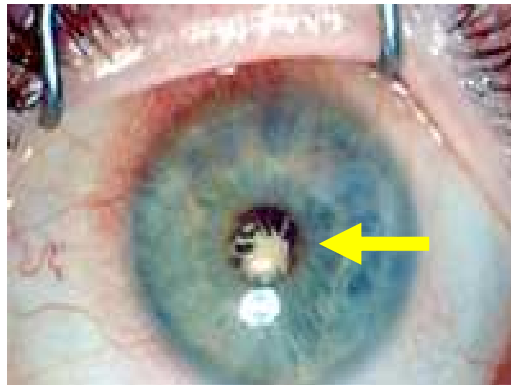
Los síntomas pueden recurrir durante varios meses. En las reinfecciones frecuentes el parásito afecta de modo simultáneo el hígado y los pulmones, debilitando mucho al paciente. Las manifestaciones clínicas y agudas persisten de 14 a 21 días, mientras que las manifestaciones humorales, con excepción de anticuerpos antitoxocara (que se mantienen por varios años), permanecen hasta 18 meses <sup>(2, 5)</sup>.

#### **1.5.1.2 Síndrome de larva migrans ocular u oftálmica**

También llamada toxocariosis ocular, es causada por la migración de L-2 al ojo; posiblemente penetrando por vía sanguínea, ya que la larva tiene la habilidad de atravesar la pared de los vasos cuando éstos se hacen demasiado angostos. Se presenta frecuentemente en adolescentes y adultos jóvenes <sup>(19, 60)</sup>.

La enfermedad comienza con alteraciones visuales generalmente unilaterales e indoloras, aunque en ocasiones pueden ocurrir en forma bilateral y hacerse un poco dolorosa en los adultos. Se presentan lesiones semejantes a un retinoblastoma, aunque también puede presentarse como estrabismo, endoftalmitis, disminución de la visión, uveítis, granuloma retinal, neuritis óptica, fotofobia y desprendimiento de la retina, que conduce a pérdida de la visión. Del mismo modo, se produce inflamación del humor vítreo, donde se pueden detectar anticuerpos <sup>(5, 9, 10, 12, 20, 40, 47, 54, 59, 60)</sup>.

Generalmente no provoca síntomas sistémicos, pero pueden encontrarse lesiones granulomatosas. En los exámenes de laboratorio, no se verifica la eosinofilia, el aumento de gammaglobulinas ni isohemaglutininas en suero (Fig. 10) (2, 5, 12, 60).



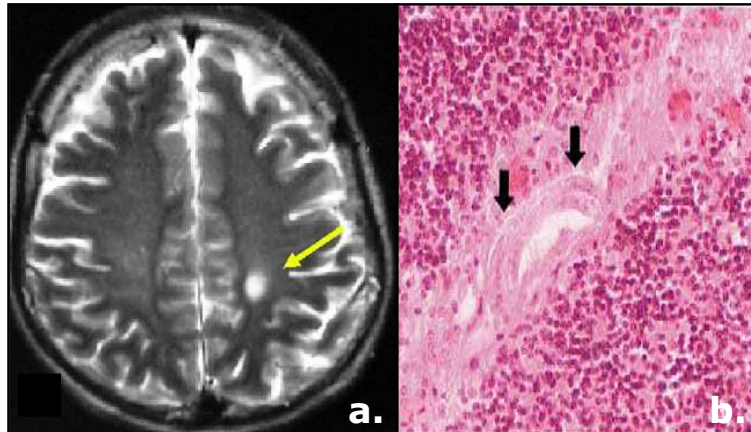
[http://www.ccghe.jhmi.edu/CCG/distance/Prerecorded\\_Gr and\\_rounds](http://www.ccghe.jhmi.edu/CCG/distance/Prerecorded_Gr_and_rounds); 2008.

Fig. 10. Presencia de L-2 de *T. canis* en globo ocular de un paciente con toxocariosis ocular.

### 1.5.1.3 Síndrome de larva migrans cerebral

Con el transcurso de las semanas, las larvas de *T. canis* tienen predilección por concentrarse en el sistema nervioso central, donde actúan como focos irritativos, ya que generalmente las larvas no se encapsulan. En infecciones experimentales en jerbos, se encontró que las larvas se acumularon sin respuesta inflamatoria pero ocasionando la aparición de zonas de degeneración a partir del día 25 p.i. Se ha informado de casos de aracnoiditis, meningoencefalitis, meningitis eosinofílica y otras manifestaciones nerviosas no específicas, las cuales incluyen tos, dolor abdominal, dolor de cabeza, sueño, ataxia, disturbios en el comportamiento y deficiencias motoras y cognitivas, así como bajo desarrollo de la inteligencia en niños. Cuando existe compromiso neurológico, se encuentra un cuadro variado que puede incluir síntomas de epilepsia de pequeño y gran mal, un cuadro de encefalitis o meningitis o sintomatología de tumoración intracraneana. Sin embargo, es

poco lo que se conoce acerca de la patofisiología de este síndrome en humanos, debido a la ausencia de modelos animales adecuados para este estudio (Fig. 11) (2, 9, 10, 12, 13, 19, 20, 27, 46, 47, 54, 59, 60).



Nabouki, A., et. al; 2003.

Fig. 11. Síndrome de larva migrans cerebral. a) Presencia de L-2 de *T. canis* en cerebro de un paciente con toxocariosis cerebral. b) Migración larvaria de *T. canis* en cerebelo de un jerbo a los 100 días p.i.

#### 1.5.1.4 Síndrome benigno o encubierto

Se considera más frecuente que cualquiera de las otras formas, definiéndose como un trastorno de pacientes con serología positiva para *Toxocara sp.*, y una cantidad de síntomas sistémicos o localizados pero que no configuran en el SLMV, SLMO o SLMC. El 25% de estos pacientes no presentan eosinofilia periférica y los síntomas pueden persistir por meses o años. La sintomatología no es específica, consiste en dolor abdominal, debilidad crónica asociada con moderada pero persistente eosinofilia en el 75% de los casos (2, 7, 54).

### 1.5.2 Manifestaciones clínicas en animales

Los síntomas típicos en cachorros recién nacidos son: tos, flujo nasal, manifestaciones respiratorias, vómitos después de las comidas, hinchazón abdominal, mal aprovechamiento de los alimentos por trastornos en el proceso digestivo, diarrea, flatulencia y obstrucción intestinal por acúmulo de ascáridos; pierden vitalidad, adelgazan y a veces están raquíuticos como consecuencia de una carencia de vitamina D, presentando además pelaje hirsuto y anemia (Fig. 12). Pueden presentar signos de neumonía enseguida del nacimiento, debido a invasión pulmonar por un gran número de larvas <sup>(2, 4, 19, 20, 40, 54)</sup>.



Martínez, P.; 2006.

Fig. 12. Manifestaciones clínicas debidas a la infección por *T. canis* en cachorros (hinchazón abdominal y pelaje hirsuto).

En algunos casos se pueden presentar signos neurológicos consistentes en convulsiones de duración limitada, provocadas por la presencia de las larvas migrando en el sistema nervioso central. Ocasionalmente se produce ruptura intestinal por exceso de parásitos, ocasionando muerte súbita por peritonitis <sup>(2, 16, 20, 54)</sup>.

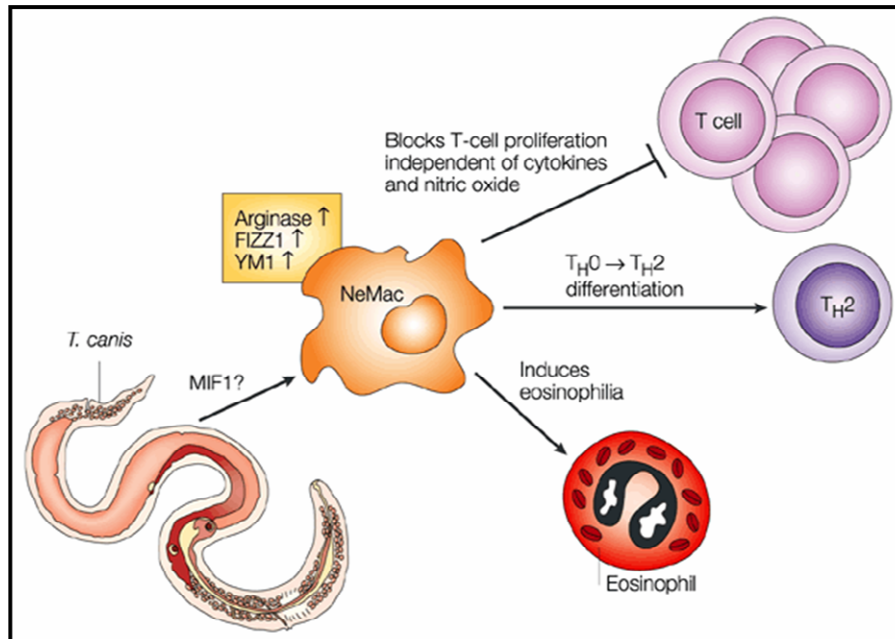
El examen hematológico de animales infestados revela un conteo reducido de eritrocitos, marcada eosinofilia, incremento en la concentración de globulinas, bajos niveles de albúmina y niveles elevados de transaminasas séricas <sup>(16, 53, 54)</sup>.

La fase crónica en cachorros mayores de 6 meses y perros adultos consiste en un progresivo cuadro de desnutrición a pesar de tener buena alimentación, puede presentarse diarrea intermitente. Aunque mantienen un gran número de larvas en sus tejidos, no parecen sufrir de SLM; muestran estos síntomas sólo en casos de inmunocompromiso, en situaciones de estrés y a consecuencia de otras infecciones. Si existe inmunización, las larvas mueren en la pared intestinal <sup>(2, 4, 19, 20)</sup>.

## **1.6 RESPUESTA DEL HOSPEDADOR**

Cuando una gran cantidad de larvas de *T. canis* permanecen viables dentro de los tejidos por mucho tiempo postinfestación su presencia constituye un estímulo antigénico que desencadena una respuesta inmune por parte del individuo afectado <sup>(15, 28, 30, 34, 59)</sup>.

Se presenta una marcada respuesta inflamatoria ante las larvas que se encuentran migrando, aumento de la concentración de Ig E total, Ig M, Ig G 1, eosinofilia, mastocitosis, descrita por varios autores como una de las características más notables del SLMV. La eosinofilia y la elevada concentración de IgE son apreciables en el SLM y toxocariosis encubierta, se deben a la actividad y al número elevado de células T con un modelo Th2 en la secreción de citocinas (IL-4, IL-5 e IL 10) y en la reducción de linfocitos Th1 (Fig. 13) <sup>(14, 21, 28, 30, 34, 50, 54, 55, 59, 61)</sup>.



[www.nature.com/.../v3/n9/fig\\_tab/nri1183\\_F3.html](http://www.nature.com/.../v3/n9/fig_tab/nri1183_F3.html); 2008.

Fig. 13. Mecanismos celulares de respuesta inmune inducidos por la presencia de *T. canis* en los individuos afectados.

Las infecciones por *Toxocara canis* inducen una respuesta de hipersensibilidad de tipo retardada, así como un infiltrado eosinofílico en el tejido afectado. 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 de E/S (30, 36).

La razón por la que la inmunidad del hospedero no elimina completamente las fases larvarias aún no se conoce en su totalidad, pero indica una falta de adecuación del sistema inmune humano para intervenir en infestaciones por helmintos. Se han propuesto algunos mecanismos de evasión de la respuesta inmune por parte de las larvas, entre ellos se encuentran los siguientes:

- Hipobiosis: Reduce la producción de Ags que inducen protección, de manera que el parásito es menos susceptible.

- Recambio constante de componentes de la superficie de la cutícula.
- Enzimas antioxidantes: para protegerse de los radicales libres de oxígeno liberados durante la respuesta del hospedador.
- Resituación en los tejidos, principalmente en sitios inmunológicamente privilegiados como el cerebro, no provocando la respuesta esperada.
- Imitación molecular: adsorción y camuflaje con moléculas originadas por el (Ags de los grupos sanguíneos y moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad) y expresión de productos génicos similares a los del hospedador.
- Inmunomodulación
- Inmunosupresión: interfieren con la función de las células T cooperadoras, que son las encargadas de responder a los Ags parasitarios <sup>(15, 28, 30, 34, 48)</sup>.

A pesar de los avances en Inmunoparasitología, aun existen fenómenos por dilucidar, como la observación de que tras la primera infección con *T. canis* en ratones se produce una inmunosupresión, mientras que dos o tres infecciones parecen causar inmunoprotección <sup>(48)</sup>.

## **1.7 DIAGNÓSTICO**

### **1.7.1 Diagnóstico en humanos**

En el hombre se complica el diagnóstico debido a la inexistencia de formas parasitas eliminadas, a la sintomatología inespecífica y a las frecuentes infecciones concomitantes con otros helmintos más fáciles de diagnosticar, además de que el estado larval de *Toxocara canis* no puede ser detectado directamente, salvo por estudios de biopsias. Esta imposibilidad de diagnóstico

directo explica parcialmente por qué esta zoonosis se ha denunciado con menor frecuencia de la que realmente existe, o bien se ha diagnosticado erróneamente. Considerando la distribución mundial del parásito y los factores ecológicos que favorecen su diseminación, los países con una sanidad deficiente y un nivel socioeconómico bajo son los que deberían presentar una prevalencia mayor. Sin embargo, casi todos los casos de SLMV se han registrado en países industrializados, debido a las facilidades para el diagnóstico <sup>(4)</sup>.

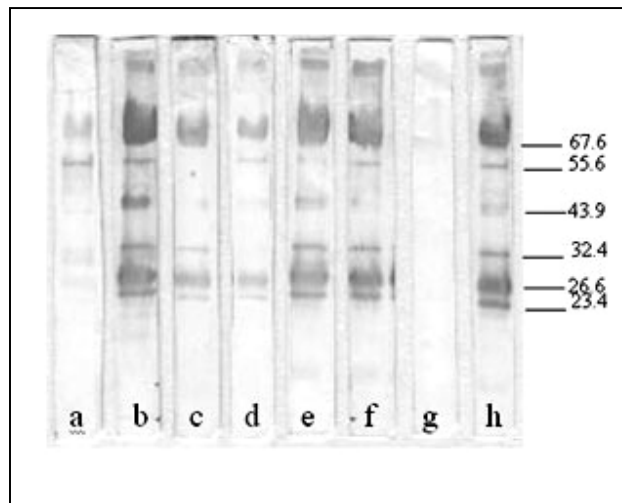
Existen diversos tipos de diagnóstico, que pueden dividirse en:

7.1.1.1 **Clínico:** Se sospecha de infección cuando existe fiebre, leucocitosis, marcada eosinofilia, aumento en los valores normales de Ig E, Ig G e Ig M séricas y/o hepatomegalia. El nivel de transaminasa glutámica oxalacética puede ser alto en el 20% de los pacientes y se presenta un incremento en los títulos en sangre de isohemaglutininas anti-A y anti-B. Otros elementos de presunción son: edad inferior a los cuatro años, antecedentes de geofagia y exposición a la tierra contaminada con heces de perros (2, 4, 5, 10, 12, 20, 28, 34, 38, 54, 59, 60).

7.1.1.2 **Inmunológico:** La presencia de larvas de *T. canis* induce sistemáticamente la respuesta inmunitaria del hospedador y las técnicas empleadas tienden a detectar la presencia de anticuerpos específicos. El problema fundamental son los antígenos que presentan entre sí los ascáridos y otros helmintos, que son en su mayoría glucoproteínas no específicas de especie, dando lugar a la aparición de reacciones cruzadas, y por tanto, falta de especificidad de las pruebas, especialmente en países tropicales. Los resultados falsos positivos pueden ocurrir en infecciones con *Strongyloides*, *Trichinella* y *Fasciola* <sup>(5, 19, 60)</sup>.



La detección de los antígenos excretores-secretores (Ags E/S), así como de sus anticuerpos séricos por la técnica de ELISA ofrecen elevada sensibilidad (75%) y especificidad (94%) para el diagnóstico, y ya está implantada como técnica habitual; por otra parte, se ha propuesto trabajar con Ig G e Ig G4, que presentan alta sensibilidad y especificidad si se utilizan juntas. Otra opción es trabajar con anticuerpos -Ig G, Ig M, Ig A- antitoxocara, o bien con anticuerpos monoclonales (Ig M), que reconocen epítomos específicos de los Ags E/S aunque su especificidad y sensibilidad no son ideales. También se ha trabajado con doble difusión en gel (Prueba de Ouchterlony) y con Western Blot, este último revela el triplete 120, 70, 55 KDa y las bandas 30 y 32 KDa (Fig. 14), aunque esta técnica implica mayor trabajo (2, 5, 10, 12, 19, 28, 30, 38, 49, 60).



[http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-77122005000200003&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-77122005000200003&script=sci_arttext); 2008.

Fig. 14. Western Blot con antígeno E/S de *T. canis* de habitantes de área tropical (a-f: muestras problema; g: control negativo; h: control positivo).

El inmunodiagnóstico es utilizado frecuentemente en pacientes de zonas templadas, especialmente en casos de eosinofilia. El desarrollo de estas técnicas está permitiendo la realización de

estudios seroepidemiológicos y el conocimiento de la importancia de este síndrome. Por último, cabe mencionar que la principal desventaja de las pruebas serológicas consiste en que no puede distinguir la infección actual de las pasadas, debido a la persistencia de altos títulos de anticuerpos, manteniéndose positivos hasta por cinco años, es decir, la seropositividad no indica necesariamente la relación causal entre la infección por *Toxocara* y un paciente con una enfermedad en curso (4, 19, 40, 47, 54, 60).

7.1.1.3 **Histopatológico:** Se realiza a través de la observación directa de L-2 en el material histológico obtenido por biopsia. También pueden observarse lesiones granulomatosas con elevada presencia de eosinófilos y neutrófilos. La detección de los antígenos parasitarios por inmunohistoquímica puede ser de ayuda cuando no existen larvas identificables en los tejidos (4, 12, 13, 19, 20, 38, 60).

7.1.1.4 **Imagenología:** Puede utilizarse dependiendo de la localización larvaria. Las técnicas más utilizadas son: radiografía, ecocardiografía, ultrasonido abdominal, TC y MRI; ésta última utilizada especialmente en casos de invasión en médula ósea (27, 60).

7.1.1.5 **Biología molecular:** Se ha utilizado PCR para detectar DNA del parásito; sin embargo, esta técnica está limitada a la identificación de especies (30, 60).

En el caso del SLMO, los títulos de anticuerpos en el humor acuoso o vítreo constituyen el mayor indicador de la infección; pueden detectarse por métodos convencionales, o bien con la micropueba de Ouchterlony. El diagnóstico puede confirmarse por examen oftalmoscópico y biopsias del globo ocular. Sin

embargo, estas muestras deben ser extraídas por personal bien capacitado y el procedimiento se complica más en los niños. El desarrollo de esta técnica está permitiendo la realización de estudios seroepidemiológicos y el conocimiento de la importancia de este síndrome (2, 4, 19, 30, 60).

Con respecto al diagnóstico diferencial, debe incluir: artritis reumatoide, triquinosis, leucemia eosinofila, eosinofilia tropical y colagenopatías, así como enfermedades que produzcan hepato y esplenomegalia en los niños (paludismo, abscesos, hepatitis). En caso del SLMO, debe considerarse retinoblastoma incipiente. También debe diferenciarse de otras parasitosis provocadas por helmintos, como *Fasciola hepatica*, *Gnathostoma*, *Capillaria hepatica*, *Echinococcus*, etc. Cuando se presenten manifestaciones pulmonares, éstas deben diferenciarse de las enfermedades pulmonares inducidas por fármacos, otras enfermedades pulmonares parasitarias como ascaridiasis pulmonar, paragonimiosis y dirofilariosis. Así mismo, debe diferenciarse de asma, bronquitis, vasculitis, infecciones virales y sífilis positivo. En las formas oculares se deben evaluar sistemas enzimáticos o factores genéticos para diferenciarlas de retinoblastomas ya que esta confusión puede provocar la enucleación ocular innecesaria (2, 5, 9, 10, 12, 20, 38, 40, 60).

El examen de materia fecal no es útil en el diagnóstico del SLMV debido a que los nematodos adultos no se desarrollan en el hombre (20, 60).

### **1.7.2 Diagnóstico en animales**

Se basa en los signos clínicos y se confirma mediante la observación de los huevos en las heces por métodos de concentración (flotación), o por detección de vermes adultos tras su salida con las heces o con los vómitos (Fig. 15). Es importante tener en cuenta que la recuperación de huevos procedentes de muestras de suelo depende de las condiciones ambientales, su textura, elección del sitio de muestreo, tipo de solución, tipo de lavado o colado,

tamaño y número de muestras. Sin embargo, la ausencia de huevos en el examen microscópico no excluye la presencia del parásito <sup>(2, 4, 19, 20, 39, 40)</sup>.



[perros.mascotia.com/.../ascaridiasis.html](http://perros.mascotia.com/.../ascaridiasis.html);  
2008.

Fig. 15. Presencia de *T. canis* adulto en heces de un cachorro menor de seis meses.

También ha utilizado la técnica de ELISA con Ags E/S para determinar si una hembra en gestación alberga larvas somáticas <sup>(48)</sup>.

## 1.8 TRATAMIENTO

Se utilizan principalmente fármacos antihelmínticos cuya función es erradicar al parásito adulto o la fase larvaria. Las rutas bioquímicas de los parásitos son diferentes en los hospederos humanos, por lo tanto, la toxicidad del fármaco es directamente sobre el parásito, huevo o larva <sup>(60)</sup>.

### **1.8.1 Tratamiento en humanos**

A pesar de que se ha descrito que el SLMV es una enfermedad autolimitada de pronóstico benigno que tiende a la curación espontánea, hay quien sostiene que la infección es crónica y puede mantenerse durante un número de años con la probable reactivación de la migración larval en el ojo o en el cerebro en cualquier tiempo. De cualquier manera, sólo se administra tratamiento en casos graves que comprometen el cerebro, pulmón y el músculo esquelético, ya que los fármacos pueden incrementar la reacción inflamatoria <sup>(12, 14, 19, 20, 38, 60)</sup>.

Actualmente para el tratamiento de las larvas viscerales se utiliza dietilcarbamacina, derivados de bencimidazolicos como tiabendazol, albendazol o mebendazol, y lactonas macrocíclicas como la ivermectina. Sin embargo, la eficacia de la dietilcarbamacina y tiabendazol ha sido considerada dudosa por algunos autores. Cuando las larvas migran a través de los órganos y tejidos (L-3) se utiliza preferentemente el albendazol o mebendazol. El uso de ivermectina es eficaz en el tratamiento contra SLMO y SLMC en niños. En el caso de toxocariosis encubierta, el tratamiento debe ser personalizado. Algunas veces se usan broncodilatadores cuando la enfermedad pulmonar es severa <sup>(2, 4, 5, 8, 10, 12, 20, 24, 34, 38, 60)</sup>.

En casos oculares el tratamiento es más difícil a causa de la inflamación que provocan los nematodos moribundos; la administración de esteroides sistémicos para reducir la inflamación puede provocar un aumento en el daño de la retina; sin embargo las inyecciones locales de esteroides pueden ser muy eficaces para mejorar la agudeza visual, además de reducir la inflamación. En lesiones oculares también se puede tratar con fotocoagulación, o bien por intervención quirúrgica mediante vitrectomía y crioterapia <sup>(4, 5, 10, 19, 20, 60)</sup>.

Hasta el momento no se conoce un tratamiento totalmente efectivo ya que se ha observado que los síntomas pueden continuar por largos periodos después

de la aplicación del fármaco. Por otra parte, se ha observado que la muerte de larvas tras la administración del fármaco puede conducir, en un inicio, a un empeoramiento del cuadro clínico, debido a un aumento en el título de Ag's circundantes indicando que las larvas han sido destruidas <sup>(19, 20, 28, 31, 38)</sup>.

### **1.8.2 Tratamiento en animales**

Entre los fármacos que actúan contra la fase adulta de *T. canis* en los cánidos, siguen siendo útiles las sales de piperacina (adipato y citrato); aunque no actúan contra larvas somáticas en las hembras gestantes, son bien toleradas por los cachorros, lo que facilita el tratamiento de las infecciones prenatales. También se utilizan dietilcarbamacina, pamoato de pirantel, mebendazol, levamisol, moxidectina, nitroscanate, tetramisol, flubendazol, milbemicina, selamectina y oxibendazol <sup>(4, 8, 19, 20, 24, 34, 52)</sup>.

Frente a las larvas somáticas hipobióticas, los antihelmínticos son menos eficaces; sin embargo la administración diaria por vía oral de 50 mg/kg de peso de fenbendazol en el último tercio de gestación (20 días) y durante la lactancia (45 días), disminuye considerablemente la transmisión prenatal y galactógena del parásito. También la ivermectina (500 mcg/kg de peso, vía subcutánea) a partir del día 38 de gestación reduce en un 98% la carga parasitaria de la camada <sup>(3, 4, 24)</sup>.

## **1.9 PREVENCIÓN Y CONTROL**

El control y la prevención de la toxocariosis requiere de la adopción de medidas encaminadas a bloquear la transmisión entre los animales y de éstos al hombre, donde desempeña un papel muy importante el control de la contaminación ambiental con huevos de este parásito. Las dos principales

razones para controlar *Toxocara canis* son: prevenir las infecciones humanas, y reducir el riesgo de infección a las mascotas. Debido a que los huevos son muy resistentes a las condiciones ambientales adversas, hasta el momento no se han encontrado métodos prácticos para reducir la infectividad de los huevos presentes en el ambiente. Por tanto, la prevención de la contaminación inicial del suelo es la principal herramienta disponible para el control de este parásito, lo cual puede llevarse a cabo mediante acciones como las siguientes:

- Tratamiento con anticestódicos y/o antinematódicos adecuado a los perros infectados, en especial cachorros y sus madres.
  - Se recomienda tratar a los cachorros a las dos y cuatro semanas de edad para eliminar la infección adquirida prenatalmente, así como a las 6 semanas y a los 2 meses de edad para eliminar la infección adquirida por la leche y por el incremento de huevos en la madre en las semanas siguientes al parto.
  - En perros adultos se recomienda tratarlos cada 6 meses
  - En hembras gestantes, tratar a partir de la cuarta semana de gestación.
- Eliminar de manera adecuada las heces de las hembras preñadas, de las lactantes, así como de las de los cachorros.
- Recoger y disponer en sitios seguros las heces que los animales eliminan en las vías públicas, plazas, paseos o parques.
- Impedir el acceso de animales a parques u otros lugares públicos de esparcimiento.
- Los perros vagabundos deben ser recogidos y tratados, o limitar su número.
- Seguir las medidas básicas de higiene, los alojamientos de animales pueden desinfectarse con hipoclorito de sodio y deben de mantenerse libres de roedores e insectos.
- Dar vuelta a la arena de las plazas y jardines para exponer al sol los huevos de los helmintos.

- Educación para la salud, de manera que los propietarios de animales sean responsables y los mantengan en condiciones óptimas. Los médicos veterinarios deben aconsejar a los propietarios de animales sobre los riesgos de ésta y otras zoonosis, y actuar recomendando normas preventivas y de control <sup>(2, 4, 5, 12, 19, 20, 38, 40, 47, 49, 52, 60)</sup>.

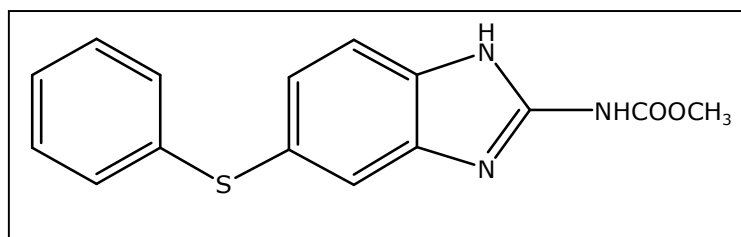
La vacunación en humanos contra la toxocariosis no garantiza resultados satisfactorios, puesto que implica un elemento de inmunopatología; sin embargo, la vacunación en perros puede ser una medida deseable, principalmente en hembras. Se han realizado estudios en los que se indujo inmunidad a ratones contra este parásito utilizando Ags E/S obtenidos de huevos desactivados con rayos UV. Los Ags candidatos para esto son los relacionados con la superficie y con las secreciones del parásito, como algunas miosinas y lectinas tipo C. Sin embargo, esta aplicación aún se halla en fase experimental <sup>(1, 19, 37)</sup>.

### **1.10 FENBENDAZOL**

El fenbendazol (FBZ) (Fig. 16) es un antihelmíntico de la familia de los bencimidazoles; se utiliza para combatir una gran variedad de parásitos en perros, caballos, gatos y otros animales. En perros está indicado para ascáridos como *Toxocara canis*, *Giardia*, *T. leonina*, uncinarias, entre otros. Es de amplio espectro, baja toxicidad y bajo costo. El mecanismo de acción de este bencimidazol consiste en su unión con la proteína tubulina de helmintos, inhibiendo repolimerización de la misma para formar microtúbulos. Dicha unión es pseudoirreversible y altamente específica, lo que explica su baja toxicidad en mamíferos (DL50 mayor a 10000 mg/kg en ratas y ratones de laboratorio). Además, interfiere con la asimilación de glucosa, evitando su integración en forma de glucógeno; al mismo tiempo, inhibe la degradación de este compuesto en el parásito, de tal manera que se altera la producción de



energía. Se han detectado altas concentraciones del fármaco en intestino, conductos excretores y sistema nervioso de los nematodos. Es probable que los efectos neurotóxicos que presentan los parásitos estén relacionados con esta distribución (6, 11, 51, 53, 58).



Olivares, M. y Vargas, G.; 2008.

Fig. 16. Estructura química de la molécula del fenbendazol

El FBZ posee una baja hidrosolubilidad, lo cual limita su administración por vía oral (suspensiones, pastas, gránulos). Es necesaria la disolución de las partículas en suspensión de la formulación farmacéutica del FBZ en los fluidos gastrointestinales para facilitar la absorción de los mismos a través de la mucosa gastrointestinal y para lograr una adecuada biodisponibilidad plasmática. Una vez que el antihelmíntico se absorbe, se distribuye rápidamente por el sistema circulatorio, comenzando simultáneamente el proceso de biotransformación necesaria para facilitar la eliminación de esos compuestos y sus metabolitos. Es catalizado por un sistema de oxidasas microsomales; la reacción de biotransformación más importante es la sulfoxidación, que genera el metabolito oxfendazol (Fig. 18). Si se administra vía oral, sólo pequeñas cantidades del fármaco pasan por hígado; se ha encontrado que el 36% se detecta en las heces, y no se detecta en orina. Por otra parte, si el FBZ se aplica por vía endovenosa, el 50% será excretado sin conjugar en las heces como hidróxido (FBZ-OH) con metabolitos conjugados, y sólo una pequeña cantidad del fármaco no transformado en orina (11, 43, 51, 53).

La formulación comercial PANACUR® PLUS TABLETAS (Fig. 17) es un antiparasitario oral de amplio espectro efectivo contra nematodos, céstodos y

protozoarios en perros y gatos, entre ellos *Toxocara canis*, *Toxocara cati*, *Toxascaris leonina*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Trichuris vulpis*, *Equinococcus granulosus*, *Dipylidium caninum*, *Taenia pisiformis*, *Joyeuxiella spp*, *Giardia sp*, etc.



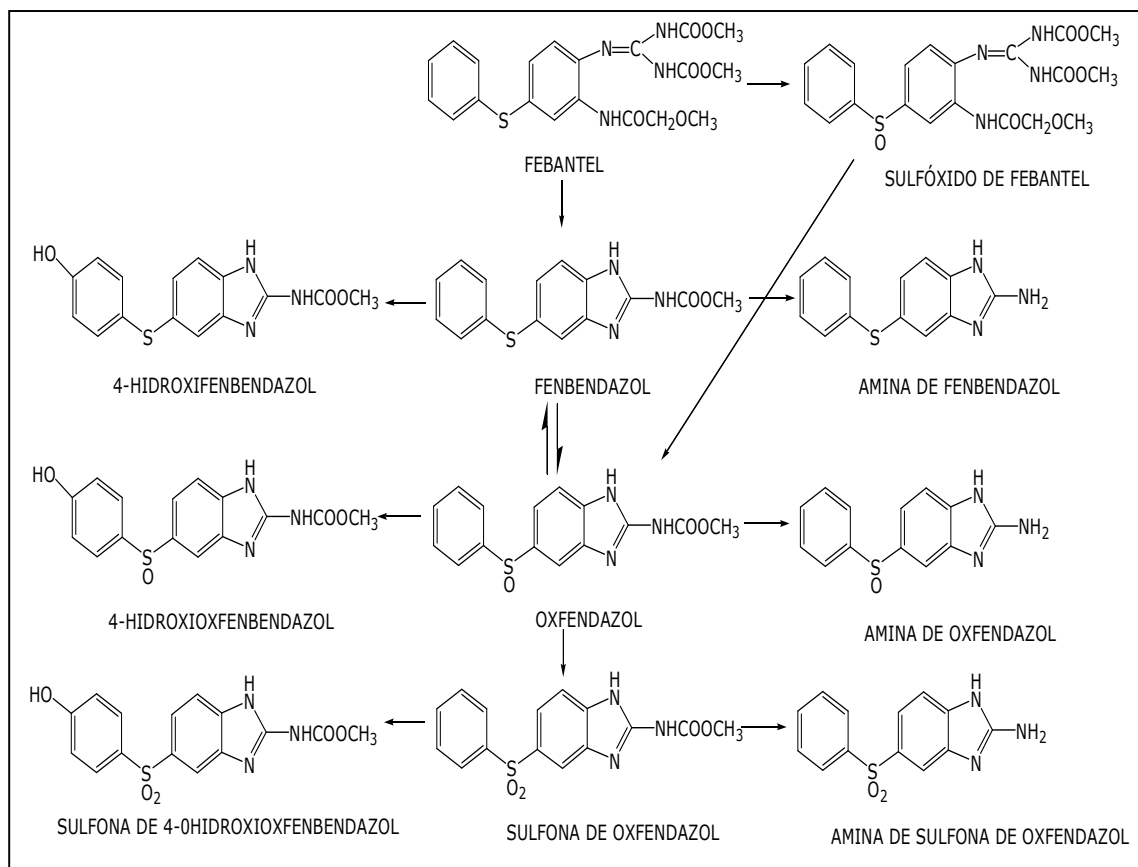
[http://www.naturalpetcare.co.uk/petshop/product\\_info.php?products\\_id=371](http://www.naturalpetcare.co.uk/petshop/product_info.php?products_id=371); 2008.

Fig. 17. Presentación comercial de PANACUR® PLUS tabletas.

Cada tableta contiene 500 mg de fenbendazol y 25 mg de prazicuantel. Este principio es el único autorizado por la FDA como tratamiento efectivo contra la giardiasis, actuando sobre los quistes (la fase infestante) y contra trofozoitos, a una dosis de 50 mg/kg de peso vivo cada 24 horas durante tres días consecutivos <sup>(30)</sup>.

Para combatir la infestación por *Ascaris sp.* y *Taenia sp.* se recomienda utilizar una dosis de 50 mg/kg, por v.o, diariamente durante tres días. En el caso de la *Taenia*, este fármaco ha resultado 100% efectivo. La misma dosis se utiliza en el tratamiento contra *Trichuris sp.*, repitiendo el esquema a las dos semanas y a los dos meses <sup>(30)</sup>.

Para prevenir la transmisión transplacentaria y transmamaria de larvas somáticas de *T. canis* y *A. caninum*, se ha usado a una dosis de 50 mg/kg, v.o diariamente, desde el día 40 de gestación, hasta el 14 de lactación (total 34 días) <sup>(30)</sup>.



<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v29je03.htm>;  
2007. Modificado por:  
Olivares, M. y Vargas, G.; 2008.

Fig. 18. Biotransformación del febendazol en sus diferentes metabolitos.

## 2. JUSTIFICACIÓN

La toxocariosis es una zoonosis parasitaria causada por la infestación de *T. canis*, el parásito más común de perros menores de seis meses, tanto en la Ciudad de México como a nivel mundial. Provoca en el hombre una serie de alteraciones que se agrupan bajo el término SLM, el cual puede afectar vísceras, ojos y/o sistema nervioso, causando pérdidas económicas debido a su morbilidad, reducción de productividad y gastos asociados al diagnóstico y tratamiento <sup>(23, 40, 44)</sup>.

Por tal razón, se ha estudiado la eficacia de diversos antihelmínticos contra este parásito, como los derivados fenotiacínicos. Sin embargo, estos fármacos actúan principalmente contra el nematodo adulto, produciendo poco efecto sobre las fases larvarias, causantes de SLM <sup>(25)</sup>.

Se ha demostrado que el fenbendazol tiene un efecto significativo tanto en adultos como en larvas, de manera que algunos autores lo consideran uno de los mejores larvicidas. En México la dosis recomendada para combatir este nematodo es de 5 mg/kg p.v.; sin embargo, debido a factores de mercadotecnia, se utiliza la dosis de 50 mg/kg p.v., que es la prescrita para el tratamiento de giardiosis <sup>(22, 25, 26, 28, 34, 35, 43, 48)</sup>.

Este trabajo fue planteado para evaluar la efectividad del fenbendazol a la dosis prescrita en nuestro país, contra el estado larvario de *T. canis*. Por tanto, aportará datos confiables, que son necesarios para mejorar el esquema de tratamiento existente en animales, además de considerar la posibilidad para su futura administración en humanos.

### **3. OBJETIVOS:**

#### **3.1 Objetivo general:**

- Establecer esquemas de tratamiento que permitan eliminar las larvas somáticas del nematodo *Toxocara canis* en sus hospederos paraténicos, mediante la evaluación del efecto antiparasitario del fenbendazol, para contribuir con una nueva alternativa al esquema de tratamiento preexistente.

#### **3.2 Objetivos específicos:**

- Obtener cultivos de huevos larvados de *T. canis* y mantenerlos en condiciones adecuadas hasta alcanzar el desarrollo del segundo estadio larvario para generar la biomasa infectiva a utilizar en el desarrollo de esta investigación.
- Inducir infestación en ratones blancos cepa CD1 mediante la inoculación por sonda gástrica de una dosis infectiva de 500 huevos larvados viables de *T. canis* por unidad experimental, para desarrollar una infección controlada con larvas del nematodo *T. canis*.
- Evaluar el efecto de la administración de 4 tratamientos de una suspensión de fenbendazol aplicada en dosis de 5 mg/kg peso vivo (p.v.) a ratones infectados con larvas de *T. canis* mediante sonda Foley, con intervalos de 30 días, sobre las larvas enquistadas, para cuantificar mediante observación microscópica la presencia de larvas de *T. canis* recuperadas de los tejidos procesados y determinar, con base en su disminución, el porcentaje de eficacia de los tratamientos.

## **4. MATERIAL Y DISEÑO METODOLÓGICO**

### **4.1 MATERIAL Y EQUIPO DE LABORATORIO**

- Cajas Petri de vidrio.
- Agujas de disección.
- Microscopio óptico (Olympus, Mod. CH-S).
- Microscopio estereoscópico (Leica, Mod. Z45V).
- Bisturí.
- Cajas de plástico.
- Piseta.
- Tubos de vidrio para centrifuga (los necesarios).
- Rejillas metálicas.
- Pipetas Pasteur.
- Cubreobjetos.
- Portaobjetos.
- Sonda gástrica.
- Guantes de látex.
- Cubrebocas.
- Tijeras para disección.
- Pinzas de disección.
- Pipeta semiautomática.
- Contador de piano o manual.
- Gasas de 8 x 8 cm.
- Charolas de disección.
- Centrífuga.
- Estufa bacteriológica.
- Balanza granataria.
- Agitador eléctrico.
- Vortex.

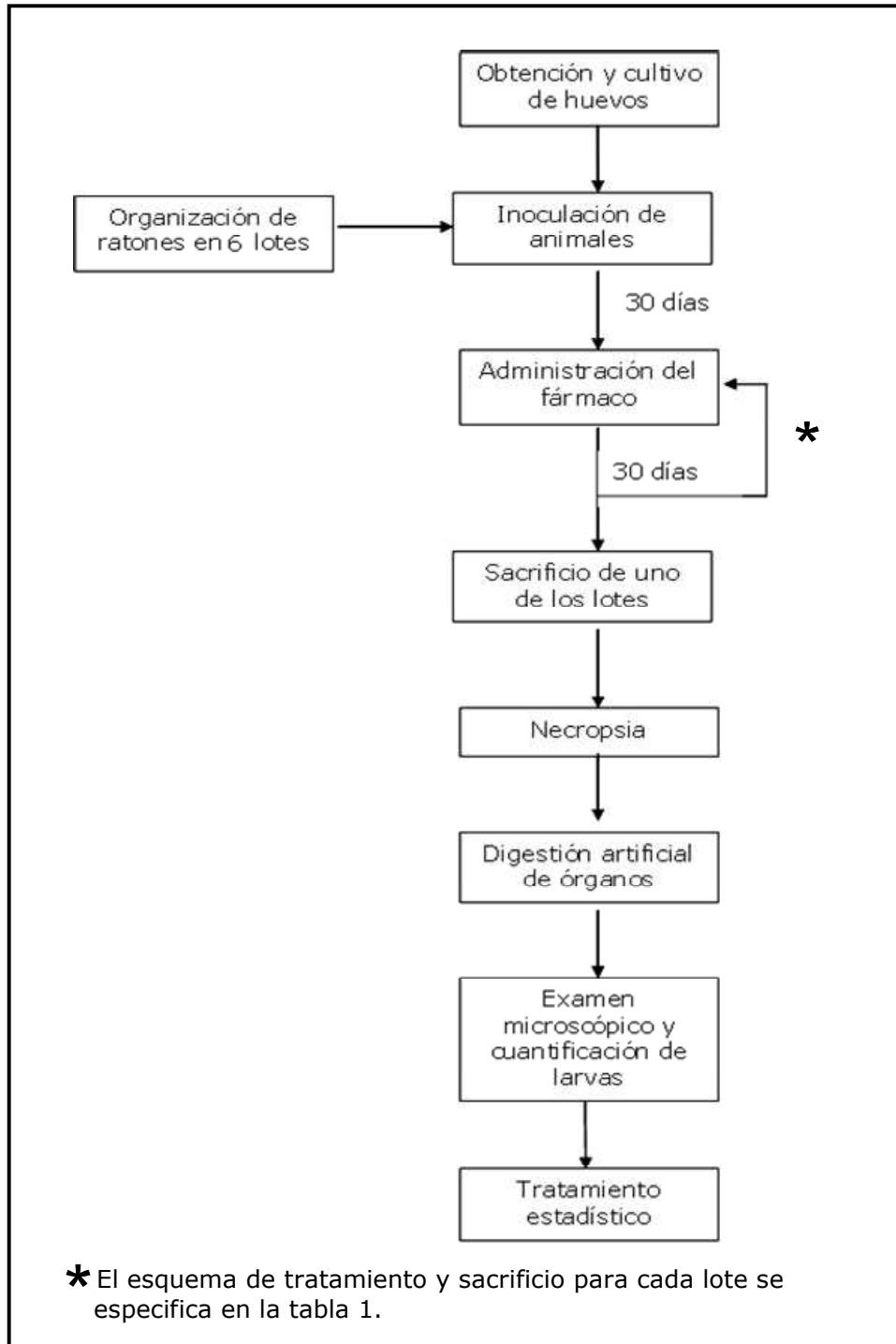
## 4.2 MATERIAL BIOLÓGICO

- 60 ratones blancos (*Mus musculus*) cepa CD1, adultos.
- Cadáveres de cachorros de 2 ó 3 meses de edad, procedentes del Centro de Control Canino del Municipio de Cuautitlán Izcalli, México.
- Hembras de *T. canis* provenientes de los cachorros.
- Huevos larvados de *T. canis*

## 4.3 REACTIVOS Y SOLUCIONES

- Solución Salina Formolada al 2.5 %.
- Jugo Gástrico Artificial:
  - Pepsina (6g)
  - Acido clorhídrico (3 ml)
- Agua destilada.
- Fenbendazol (PANACUR® Tabletas, Intervet S.A.), a dosis de 5 mg/kg
- Formol al 10%

#### 4.4 DISEÑO METODOLÓGICO (Fig. 19)



Olivares, M. y Vargas, G.; 2008.

Fig. 19. Diseño metodológico que se siguió a lo largo de la experimentación.



#### **4.4.1 Obtención de huevos**

- Se colectaron durante la necropsia, nematodos hembra adultos del intestino de cadáveres cachorros infestados naturalmente.
- Los nematodos fueron lavados y separados por sexo.
- A las hembras se les extrajeron los huevos por punción de úteros, utilizando agujas de disección con apoyo visual de microscopio estereoscópico.

#### **4.4.2 Mantenimiento y desarrollo de larvas de *T. canis***

- Ya colectados los huevos, se mantuvieron en una solución salina formolada al 2.5%, dejándolos incubar 28 días a temperatura ambiente (aproximadamente 18 °C), hasta lograr el desarrollo del segundo estado larvario.
- Se realizó un conteo de viabilidad de los huevos con la ayuda de un microscopio óptico, mediante la observación de la larva activa dentro.

#### **4.4.3 Determinación de la viabilidad de los huevos de *T. canis***

- Con la ayuda de una pipeta semiautomática, se colocó en un portaobjetos 50 microlitros de la suspensión homogeneizada (huevos-solución salina formolada).
- Se realizaron 10 conteos de huevos, enfocados con el objetivo de 40 X, y con la ayuda de un contador manual se determinó matemáticamente el número total de huevos por 100 microlitros de la suspensión; de éste valor se calculó el número de huevos viables y se determinó su porcentaje.
- Con los 10 conteos realizados, se obtuvo el promedio como valor final.

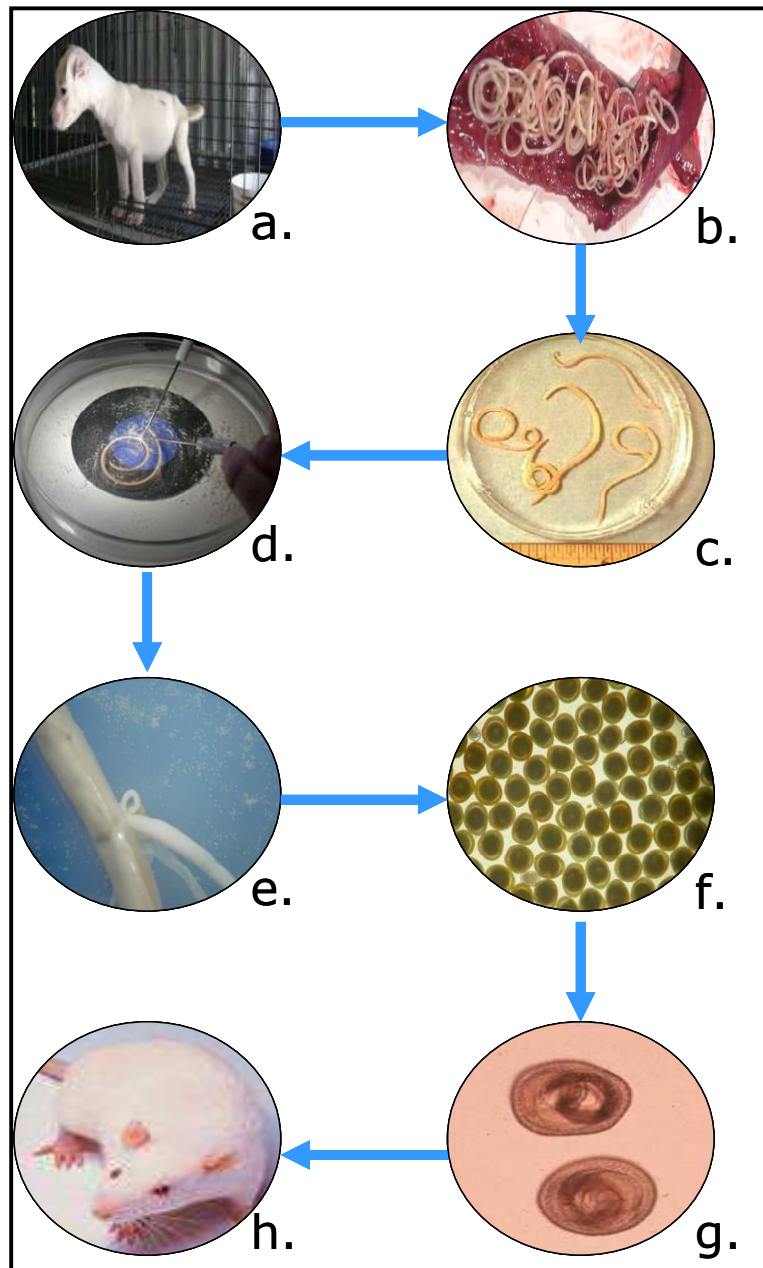
#### **4.4.4 Inducción de la parasitosis**

- La inoculación se llevó a cabo por vía oral mediante una sonda gástrica para alimentación de prematuros (tipo Foley), de una suspensión concentrada de huevos en agua destilada. Se inocularon en promedio 500 huevos viables de *Toxocara canis*; el volumen de suspensión administrado fue de 100 microlitros.
- Se mantuvieron los animales dentro del laboratorio de Parasitología, con alimento Lab Diet (Prolab<sup>®</sup> Animal Diet; 23% proteína, 4.5% grasa, 6% fibra y 8% cenizas) y agua *ad libitum*, en óptimas condiciones de temperatura, luz e higiene, permitiendo que la infestación se desarrollara por un periodo de 30 días antes de aplicar los diferentes tratamientos (Fig. 20).

#### **4.4.5 Lotes de los ratones de experimentación**

Se formó un total de 6 lotes de ratones blancos cepa CD-1 menores de tres meses de edad. Cada lote se conformó de 10 animales, distribuidos de la siguiente manera:

- Un lote de animales inoculados y no tratados, (control positivo).
- Un lote de animales no inoculados y no tratados, (control negativo).
- Cuatro lotes de animales inoculados y tratados mensualmente con una suspensión de fenbendazol empleando la dosis de 5 mg/kg.



Olivares, M. y Vargas, G.; 2008.

Fig. 20. Diseño metodológico 1. a) Necropsia de cachorros infestados naturalmente por *T. canis*. b) Recolección de nematodos adultos del intestino de cadáveres. c) Separación de nematodos por sexo. d) y e) Extracción de huevos por punción de úteros. f) Incubación de huevos. g) Desarrollo del segundo estado larvario y conteo de viabilidad. h) Inducción de la parasitosis a ratones sanos.

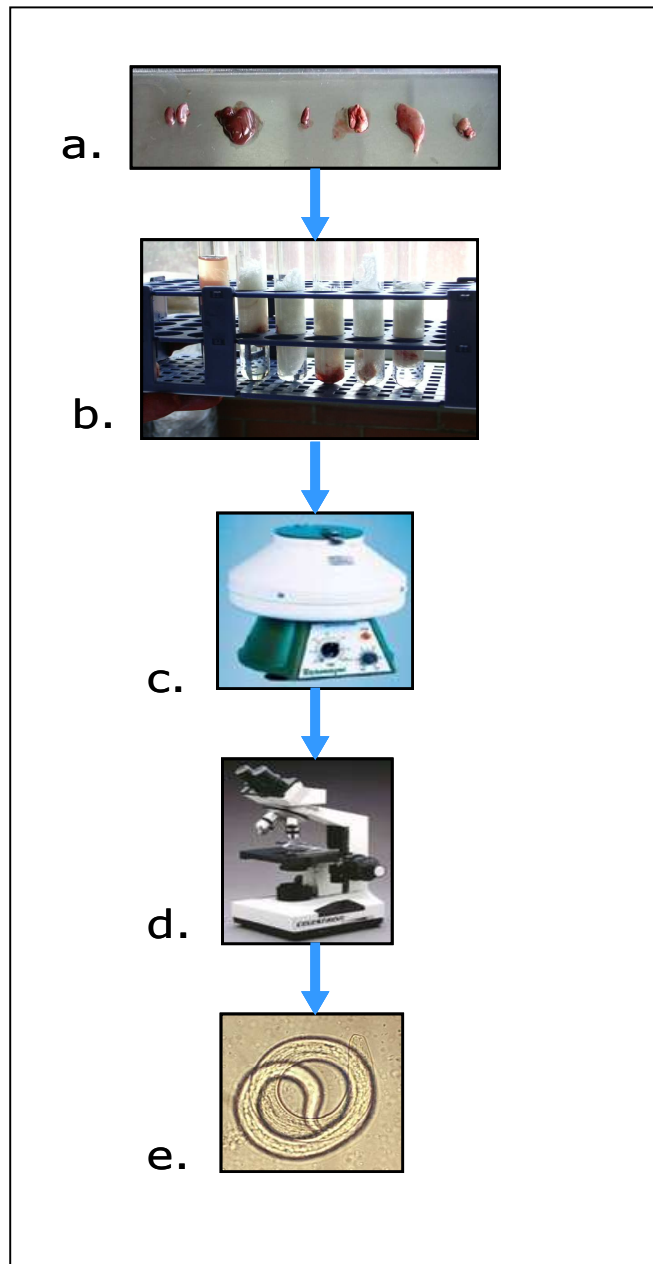
#### 4.4.6 Tratamiento de los animales

- El tratamiento de los ratones inoculados se realizó con una dosis de 5 mg/kg de peso mediante una suspensión de fenbendazol en agua destilada, por vía oral, dejando pasar 30 días antes del sacrificio y del siguiente tratamiento de los lotes restantes hasta completar 4 tratamientos.
- Posteriormente se sacrificaron los animales por desnucamiento y se realizó la necropsia para extraer riñones, hígado, corazón, pulmones, cerebro, y un gramo de músculo esquelético (del muslo izquierdo); cada uno se sometió a digestión artificial, de la siguiente manera:
- Se maceró el tejido y se colocó en una gasa, sumergiéndolo en un tubo de ensaye con una solución de jugo gástrico artificial, compuesto por ácido clorhídrico / pepsina, (3 mililitros de ácido clorhídrico concentrado y 6 g de pepsina en un litro de agua destilada).
- Se dejó reposar para favorecer la migración de las larvas durante 24 horas en estufa de cultivo a 37 °C; después de este tiempo se agitaron las gasas dentro de los tubos para liberar las larvas que quedaron atrapadas en los tejidos. Finalmente se dejó reposar otras 24 horas a la misma temperatura.
- Se extrajo del tubo la gasa con el tejido; la solución restante se centrifugó para concentrar el sedimento con larvas de *T. canis* presentes en la suspensión.
- El sedimento se depositó en un portaobjetos para su observación en el microscopio óptico y se llevó a cabo el conteo respectivo de la totalidad del sedimento recuperado de cada órgano. En el caso del músculo esquelético, ya que sólo se procesó un gramo de muestra, se determinó el peso promedio de la carcasa (el peso restante del ratón sin vísceras ni piel), y se multiplicó por el número de larvas en un gramo de muestra.
- Lo anterior se llevó a cabo con los diferentes lotes y sus respectivos tratamientos (Fig. 21).

- El lote inoculado y no tratado (control positivo) se sacrificó a los 60 días de inoculación, coincidiendo con el sacrificio del primer lote inoculado y tratado, así como el del lote no inoculado y no tratado (control negativo) para comparar resultados (Tabla 1).

Tabla 1: Esquema de tratamientos y sacrificios de los diferentes lotes.

Lote Días	0	30	60	90	120	150
Ctrl (-)	--	--	Sacrificio			
Ctrl (+)	Inoc.	--				
Tx 1		Dosis 1	Dosis 2	Sacrificio	Sacrificio	
Tx 2				Dosis 3		
Tx 3					Sacrificio	
Tx 4			Dosis 4	Sacrificio		



Olivares, M. y Vargas, G.; 2008.

Fig. 21. Diseño metodológico 2. a. Necropsia de ratones y extracción de órganos. b. Digestión artificial de órganos. c. Retiro de las gasas con los tejidos y centrifugación. d) Análisis del sedimento en el microscopio óptico. e) Búsqueda de larvas.

#### **4.4.7 Tratamiento estadístico**

Los datos recolectados durante el proceso experimental se organizaron y condensaron en tablas y gráficos.

Los resultados obtenidos de los conteos larvarios se sometieron a un análisis estadístico utilizando la prueba de análisis de varianza (ANOVA) con el fin de determinar si existen diferencias significativas en el número de larvas recuperadas entre los grupos tratados y el grupo sin tratamiento. Posteriormente, se aplicó la prueba de Tukey (Diferencia Mínima Significativa Honesta) para comparar la diferencia de medias entre cada grupo; en ambas pruebas se utilizó un  $\alpha = 0.05$ . Por otra parte, se calculó el %E de cada tratamiento, con base en la disminución del conteo larvario, por medio de la ecuación de Wescot (Anexo 2).

Primero se analizan los datos del efecto global de los tratamientos y, posteriormente, los relativos a cerebro y músculo esquelético.

## 5. RESULTADOS

Los primeros lotes procesados fueron el no inoculado y no tratado [Ctrl.(-)], el inoculado y no tratado (S/Tx) y el grupo con la aplicación de un tratamiento (Tx 1), que se revisaron detalladamente a los 60 días p.i y a los 30 p.t.

En el lote [Ctrl.(-)], como se esperaba, no se detectó la presencia de larvas (Anexo 1, Tabla 17) lo que indica que los animales en experimentación estaban libres de infección por algún nematodo. Los resultados obtenidos del lote S/Tx mostraron la migración larvaria en los diferentes órganos y el asentamiento de las mismas en dos tejidos principalmente: ME y cerebro (Anexo 1, Tabla 12), dicha migración siguió el mismo patrón a lo largo de todo el experimento; estos resultados fueron tomados como referencia para calcular el porcentaje de eficacia del fármaco. La cuantificación larvaria del lote Tx 1 no muestra una diferencia significativa con respecto al lote anterior (S/Tx) (Anexo 1, Tabla 13).

Después de la administración de los tres tratamientos restantes (a los 90, 120, y 150 días p.i. respectivamente), los resultados indicaron que la migración de las larvas presentó similitud a la descrita previamente, aunque en general, el número de larvas encontradas en cada órgano disminuyó tras la aplicación de cada tratamiento (Anexo 1, Tablas 14-16).

La cantidad promedio de larvas encontradas en cada órgano analizado, tanto en los grupos controles como en los lotes tratados, se presentan en la Tabla 2 y en el gráfico 1.



Tabla 2. Valores promedio de larvas de *Toxocara canis* encontradas en los órganos de todos los grupos de animales experimentales, aplicando en cada tratamiento una dosis mensual de 5 mg/kg de fenbendazol.

	Ctrl. (-)	S/Tx	Tx 1	Tx 2	Tx 3	Tx 4
Cerebro	0	18.8	20.9	8.4	7.1	6.8
Corazón	0	0.5	1.3	0.6	0.2	0.1
Pulmón	0	1	1	0.3	0.5	0
Riñón	0	3.4	2.2	0.2	0.5	0
Hígado	0	1.8	2.1	1.1	1.4	0.5
ME	0	43.6	43.9	50.8	23.4	10.9

El promedio de larvas encontradas en Tx 1 fue ligeramente superior al lote S/Tx; a partir de la segunda administración (Tx 2) el número de larvas se reduce conforme aumentan los tratamientos. En todos los casos, los órganos de mayor asentamiento larvario fueron cerebro y ME.

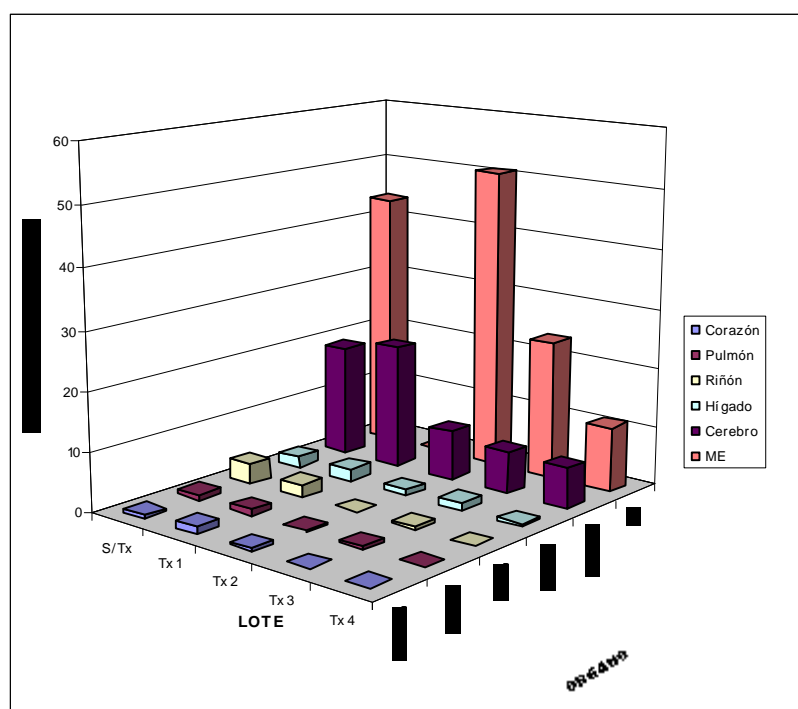


Gráfico 1. Cantidad de larvas de *T. canis* encontradas en cada órgano, por lote de tratamiento.

En la Tabla 3 se muestra el total de larvas halladas en cada grupo; puede observarse que en Tx 1 el conteo fue ligeramente superior que en el grupo de referencia. Sólo a partir de Tx 2 el conteo total comienza a descender (Gráfico 2). A continuación, la Tabla 4 señala el ANOVA de los tratamientos de manera global; como el Fc correspondiente a este estudio fue mayor que el establecido en tablas estadísticas, se considera que los resultados encontrados en los lotes sometidos a tratamiento tuvieron diferencia significativa con respecto al grupo que no recibió tratamiento. La prueba de Tukey muestra que los valores más altos de significancia se encontraron al comparar los lotes S/Tx y Tx 1, con Tx 4 (Tabla 5).

Tabla 3. Valores absolutos de larvas de *Toxocara canis* encontradas en cada lote de ratones.

Lote	Ctrl. (-)	S/Tx	Tx 1	Tx 2	Tx 3	Tx 4
Cantidad de larvas	0	694.8	714.5	614.4	331.1	183

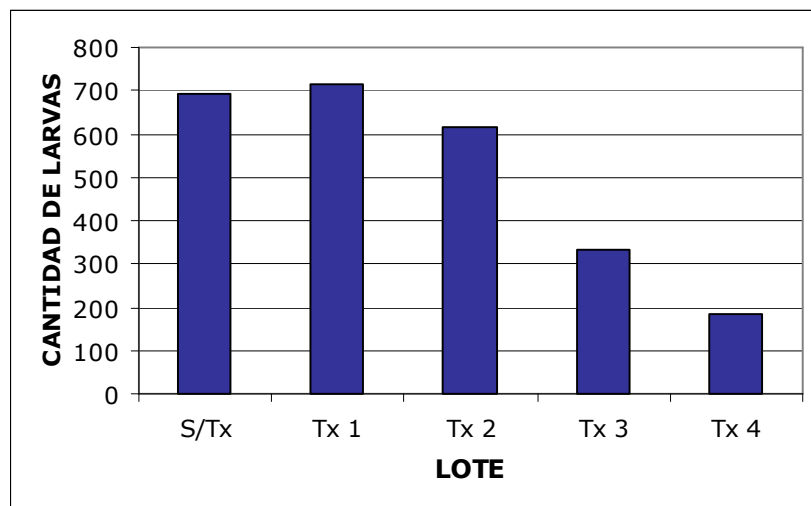


Gráfico 2. Frecuencia absoluta del total de larvas de *T. canis* encontradas por lote de ratones.

Tabla 4. Análisis de varianza del total de larvas de *T. canis* encontradas en los seis lotes de ratones.

FV	g. L	SC	CM	Fc	$F_{\alpha 0.05}$
Tratamiento	4	22397	5599.25	4.2347	2.585
Error	45	59499.5	1322.21111		
Total	49	81896.5			

Tabla 5. Tabla de Tukey para el total de larvas de *T. canis* encontradas en los seis lotes de ratones.

COMPARACIÓN	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
Tx 1 - S/Tx	2.3	N.S.
Tx 1 - Tx 2	9.9	N.S.
Tx 1 - Tx 3	38.2	N.S.
Tx 1 - Tx 4	53.1	Tx 1 > Tx 4
S/Tx - Tx 2	7.6	N.S.
S/Tx - Tx 3	35.9	N.S.
S/Tx - Tx 4	50.8	S/Tx > Tx 4
Tx 2 - Tx 3	28.3	N.S.
Tx 2 - Tx 4	43.2	N.S.
Tx 3 - Tx 4	14.9	N.S.

Por otra parte, se analizaron en particular los dos órganos que alojaron mayor cantidad de larvas: cerebro y M.E. Como se muestra en la Tabla 6 y en los Gráficos 3 y 4 respectivamente, tanto en M.E como en cerebro el número de larvas disminuye tras la aplicación de cada tratamiento. En ambos casos la prueba de ANOVA muestra que el fármaco es capaz de remover larvas enquistadas en estos órganos (Tablas 7 y 9). Las Tablas 8 y 10 corresponden a la prueba de Tukey para cada órgano, indicando que las diferencias entre

tratamientos no son significativas, excepto en 5 (cerebro) de las 10 comparaciones.

Tabla 6. Larvas totales de *T. canis* encontradas en cerebro y ME en cada lote de ratones.

	S/Tx	Tx 1	Tx 2	Tx 3	Tx 4	Tx 5
Cerebro	188	209	84	71	68	141
ME	436	439	509	235	109	0

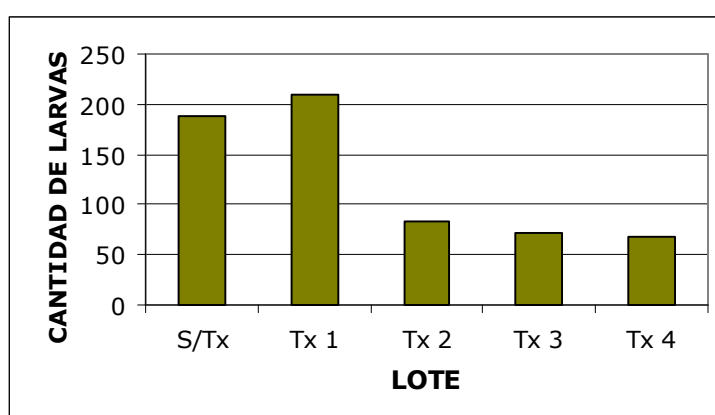


Gráfico 3. Larvas totales de *T. canis* encontradas en cerebro en cada lote de ratones.

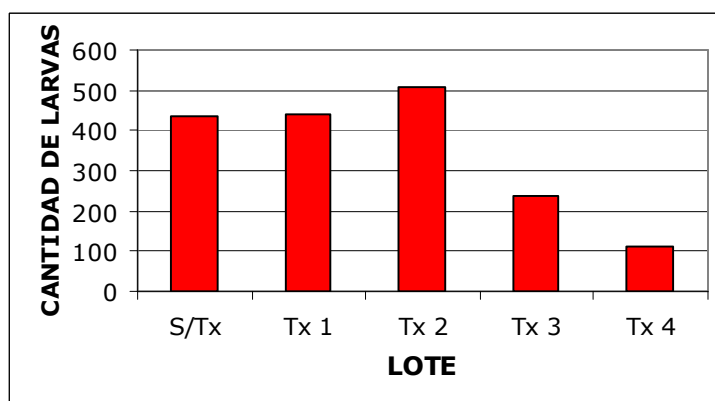


Gráfico 4. Larvas totales de *T. canis* encontradas en ME en cada lote de ratones.

Tabla 7. Análisis de varianza del total de larvas de *T. canis* encontradas en cerebro en los seis lotes de ratones.

FV	g. L	SC	CM	Fc	F <sub>α 0.05</sub>
Tratamiento	5	1886.6	471.65	5.883531075	2.585
Error	45	3607.4	80.16444444		
Total	49	5494			

Tabla 8. Tabla de Tukey para el total de larvas de *T. canis* encontradas en cerebro en los seis lotes de ratones.

COMPARACIÓN	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
Tx 1 - S/Tx	2.10	N.S.
Tx 1 - Tx 2	12.5	Tx 1 > Tx 2
Tx 1 - Tx 3	13.8	Tx 1 > Tx 3
Tx 1 - Tx 4	14.1	Tx 1 > Tx 4
S/Tx - Tx 2	10.4	N.S.
S/Tx - Tx 3	11.7	S/Tx > Tx 3
S/Tx - Tx 4	12.0	S/Tx > Tx 4
Tx 2 - Tx 3	1.3	N.S.
Tx 2 - Tx 4	1.6	N.S.
Tx 3 - Tx 4	0.3	N.S.

Tabla 9. Análisis de varianza del total de larvas de *T. canis* encontradas en músculo esquelético en los seis lotes de ratones.

FV	g. L	SC	CM	Fc	F <sub>α 0.05</sub>
Tratamiento	5	11180.72	2795.18	2.598845857	2.585
Error	45	48399.6	1075.546667		
Total	99	59580.32			

Tabla 10. Tabla de Tukey para el total de larvas de *T. canis* encontradas en músculo esquelético en los seis lotes de ratones.

COMPARACIÓN	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
Tx 2 - Tx 1	7.0	N.S.
Tx 2 - S/Tx	7.3	N.S.
Tx 2 - Tx 3	27.4	N.S.
Tx 2 - Tx 4	40.0	N.S.
Tx 1 - S/Tx	0.3	N.S.
Tx 1 - Tx 3	20.4	N.S.
Tx 1 - Tx 4	33.0	N.S.
S/Tx - Tx 3	20.1	N.S.
S/Tx - Tx 4	32.7	N.S.
Tx 3 - Tx 4	12.6	N.S.

Finalmente, en la tabla 11 y en el gráfico 5 se muestra el %E de cada tratamiento, tanto de manera global, como para los dos órganos más representativos. Puede observarse que para el primer tratamiento no hubo

eficacia del fármaco, debido a que el número de larvas encontradas en este lote fue ligeramente superior a las que se hallaron en el lote sin tratamiento, de manera que la eficacia comienza a partir de Tx 2, tanto a nivel global como en cerebro; en cambio, en ME el %E se presenta a partir del Tx 3.

Tabla 11: Porcentaje de eficacia (%E) por tratamiento a nivel global, en cerebro y en músculo esquelético.

TRATAMIENTO	GLOBAL (%)	EN CEREBRO (%)	EN MÚSCULO ESQUELÉTICO (%)
Tx 1	---	---	---
Tx 2	10.998	55.319	---
Tx 3	51.954	62.234	46.100
Tx 4	73.517	63.830	75.0

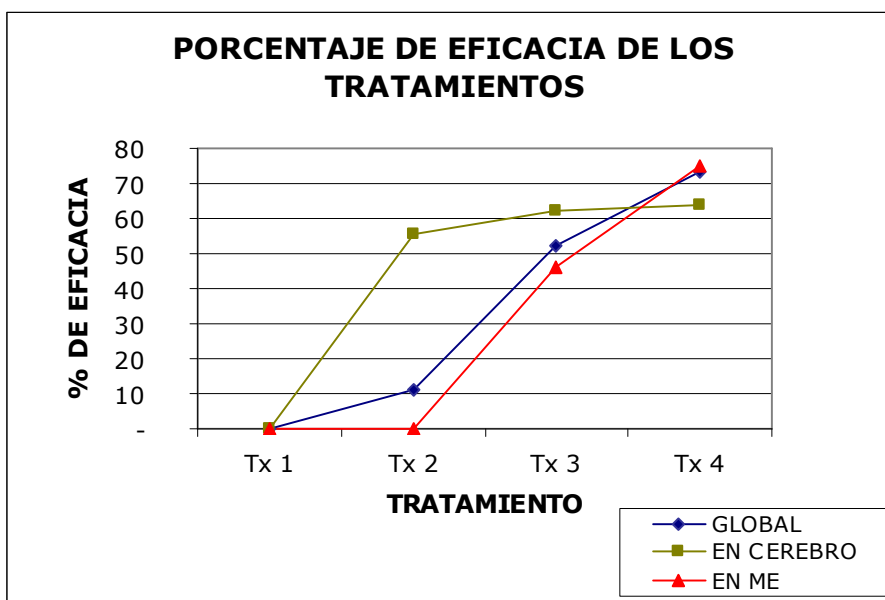


Gráfico 5: Porcentaje de eficacia de los tratamientos por lote de ratones.

## 6. DISCUSIÓN

Durante mucho tiempo se ha estudiado el impacto de los antiparasitarios contra las larvas enquistadas de *Toxocara canis* en las perras gestantes para prevenir la transmisión transplacentaria y lactogénica a su descendencia, reduciendo con esto el potencial de contaminación en el ambiente para impedir la diseminación entre individuos de esta especie animal.

El desarrollo de modelos de experimentación en animales de laboratorio que funcionan como hospederos paraténicos de *T. canis* ha permitido evaluar diferentes principios farmacológicos con resultados variables, identificando aquellos que se encuentran en uso y que resulta conveniente estudiar de forma continua <sup>(2, 13, 16, 19)</sup>.

En la presente investigación se planteó como primer objetivo obtener cultivos de huevos larvados de *T. canis* para inocularlos en ratones sanos; esto se logró siguiendo la metodología ya estandarizada, explicada anteriormente. Ésta tiene la ventaja de ser sencilla y de bajo costo, además de que sólo necesita el material básico (equipo y reactivos) de un laboratorio de parasitología; además, la muestra obtenida resulta útil hasta por 6 meses bajo condiciones adecuadas. Sin embargo, la principal desventaja es que el porcentaje de viabilidad de los huevos extraídos depende de la correcta ejecución de la técnica; además, la viabilidad de las larvas en los huevos disminuye con el tiempo. En este trabajo, el % de viabilidad del cultivo obtenido fue de 67.847%, el cual fue adecuado para inducir la infección en los animales de experimentación.

Con el cultivo obtenido se inocularon los animales de experimentación; el tamaño del inóculo (500 huevos viables de *T. canis*) que se utilizó en este estudio resultó el adecuado para inducir la infestación en los ratones; esto se pudo comprobar cuando se analizaron al microscopio las digestiones de los



animales inoculados que no recibieron tratamiento [Ctrl. (+)]. Sin embargo, en otros estudios se han utilizado cantidades inferiores ( $250\pm 10$ ) o superiores (entre los 800-1000) de huevos embrionados con el mismo fin. Este aspecto es importante, en particular si se inoculan más de quinientas larvas, pues se corre el riesgo de que se exacerben las manifestaciones clínicas y se provoque la muerte prematura de las unidades experimentales <sup>(1, 13, 14, 15, 21, 22, 26, 32, 34)</sup>.

Se utilizó el modelo murino ya que es el más usado y fácil de reproducir a nivel mundial. La validez de este modelo se basa en la similitud de la ruta migratoria y de la patogenia de este parásito entre roedores y humanos, además de que la larva puede sobrevivir por un largo periodo en estos hospederos. Algunos animales desarrollan signos aparentes de enfermedad como pérdida de apetito y de peso, depresión, ataxia, debilidad de patas traseras, caquexia, habilidad dañada para tomar agua del equipo que la suministra, disminución de su agresividad y aumento en la tendencia a la fuga; incluso algunos pueden llegar a morir. Estos signos fueron observados en nuestros animales de experimentación; sin embargo, no fueron reportados por no ser un objetivo en esta investigación <sup>(18, 19, 26, 31, 37, 45)</sup>.

El patrón migratorio de las larvas que se observó en este estudio corresponde al descrito en la literatura, con una tendencia al depósito en dos tejidos: cerebro y ME. Cabe mencionar que durante el examen microscópico de los diferentes órganos se hallaron numerosas cutículas color café, evidencia de la muerte larvaria. También se encontraron algunas lesiones macroscópicas que ya han sido descritas -principalmente hepatomegalia-, pero que no se registraron debido a que no fue uno de los objetivos de este estudio <sup>(13, 21, 29, 30, 34, 37, 42, 47)</sup>.

Fue en el grupo inoculado y no tratado en el que se observaron las mayores concentraciones de larvas en el cerebro; este tejido se mantuvo siempre en esa condición por tendencia propia del parásito y por una insuficiente actividad del principio en dicha región. Este comportamiento se explica en función de

que el tejido del sistema nervioso central sólo cuenta con un sistema de respuesta primaria, correspondiente a las células de la microglía (fagocitos locales), que son las únicas capaces de atravesar la barrera hematoencefálica. Estas células producen una respuesta inflamatoria de muy baja intensidad y solamente en infecciones muy crónicas, ya que una reacción inflamatoria intensa provocaría la destrucción del tejido; en este caso el tejido cerebral dañado sería difícil de restituir debido a la ausencia de componentes de soporte como colágena y elastina, además del bajo potencial de regeneración que tienen las células nerviosas. En cambio, cuando la lesión se presenta en otros órganos, se sintetiza colágena y elastina para que el tejido se restablezca e incluso se regenere posteriormente <sup>(21, 23, 29)</sup>.

La mayoría de los antihelmínticos a la dosis convencional son eficaces contra la fase adulta de *T. canis* debido a que se suministran en dosis altas, actuando directamente contra los parásitos adultos que se alojan en ese lugar. Por ejemplo, en 2004 Balbuena y León realizaron un estudio para comparar *in vivo* la actividad antihelmíntica de 7 diferentes productos comerciales contra *Toxocara canis* y *Ancylostoma caninum*. Cada medicamento fue probado en 20 cachorros y se obtuvo su %E con base en la disminución del conteo de huevos expulsados en las heces, obteniendo en general altos %E contra ambos parásitos (83.99-95.78 %, sin tomar en cuenta el producto a base de nitroscanate). Sin embargo, estos datos no pueden tomarse como concluyentes, ya que difieren de los hallazgos encontrados en la necropsia de los animales, que se presentan a continuación. El primero de los medicamentos fue un producto formulado con 5mg de pamoato de pirantel y 5 mg de pamoato de oxantel (para 10 kg p.v.), de los 20 cachorros tratados, se encontró que 8 estaban parasitados con *T. canis*, 2 con *A. caninum* y 2 con ambos; con otro producto formulado a base de 143 mg de embonato de oxantel, 50 mg de prazicuantel y 543 mg de emboato de pirantel (para 10 kg p.v.), 5 presentaron *T. canis*; 3, *A. caninum*; y 3, ambos parásitos. Un producto similar, formulado con 50 mg de prazicuantel, 144 mg de pamoato de pirantel y 150 mg de febantel (para 10 kg p.v.), dejó 5 animales parasitados

con *T. canis*, 3 con *A. caninum*, y 1 con ambos. De los animales tratados con un medicamento a base de 150 mg de febantel, 144 mg de pirantel, 50 mg de prazicuantel y 0.06 mg de ivermectina (para 10 kg p.v.), 2 de ellos presentaron *T. canis* y 3, ambos parásitos. Con otro producto a base de 2 mg de ivermectina y 50 mg de prazicuantel (para 10 kg p.v.), se encontraron 6 animales con *T. canis* y 1 con ambos. Para la misma formulación, pero en otro producto comercial, 5 presentaron *T. canis* y 1 ambos parásitos. Por último, de los animales tratados con un producto a base de nitroscanate (50 mg/kg p.v.), 5 presentaron *T. canis*; 1, *A. caninum* y 1, ambos parásitos <sup>(8)</sup>.

Dentro de los fármacos que se han evaluado para eliminar las larvas somáticas de este parásito se encuentra el nitroscanate, que suministrado en una sola dosis de 25-50 mg/kg es activo contra larvas y adultos de otros nematodos intestinales. Un estudio desarrollado en 1993 por Martínez *et. al* reveló que para *T. canis*, este fármaco administrado a ratones infectados experimentalmente, a dosis de 15, 25 y 12.5 mg/kg p.v., después de 15 días de inducir la infestación, presentó un %E de 13.4%, 85.1% y 25.6%, respectivamente. Cuando se aplicaron dosis de 25 mg/kg p.v. a los 15, 20 y 25 días p.i. mostró un 89.9 %E; de la misma manera, usando la misma dosis a los 15, 17, 19, 21 y 23 días p.i. se redujo el número de larvas alojadas en los tejidos en un 94.1%, después de los cinco tratamientos. Sin embargo, estos resultados provienen de un estudio que se realizó hace más de 15 años; tomando en cuenta que el nitroscanate salió a la venta en 1977, estos datos carecen de validez actualmente, ya que desde entonces su efectividad ha disminuido de manera progresiva contra larvas y adultos hasta que finalmente salió del mercado a mediados de 2007 <sup>(19, 41)</sup>.

En ese mismo estudio se evaluó la actividad de la dietilcarbamacina, la cual mostró un 45.5 %E cuando se aplicó una dosis de 50mg/kg al día 15 p.i.; además, se observó que su eficacia aumenta si se administran tratamientos repetidos utilizando la misma dosis: 87.9% después de 5 tratamientos y 91%

al aplicar diez tratamientos alternados. También en el caso de este principio se ha producido su retiro del mercado y no está disponible en México <sup>(24, 41, 43)</sup>.

En ese mismo estudio se evaluó el metrifonato, el cual demostró tener un 75 %E cuando se aplicaron dos dosis de 25 mg/kg p.v. a los 18 y 21 días p.i. Cuando se administró en dosis única de 50 mg/kg p.v. presentó una eficacia del 43% y ésta aumentó a un 86% al aplicar dos tratamientos usando la misma dosis. Además, la cantidad de larvas en los tejidos de ratones se redujo en un 88% cuando se administró una dosis de 50 mg/kg p.v. al día 18 p.i. y dos de 25 mg/kg p.v. a los días 21 y 24 p.i <sup>(3, 24, 41)</sup>.

Otro grupo de fármacos que se ha investigado es el de las lactonas macrocíclicas, entre ellas se encuentra la ivermectina, que se ha evaluado desde 1984 contra larvas de *T. canis*; en una investigación de Abo-Shehada se comprobó que usando una dosis de 200 mcg/kg por v.o. o subcutánea (sc), diariamente durante 5-6 días a partir de los días 2 u 8 p.i., se obtuvo 78-79 %E. Tres años más tarde Carrillo y Barriga experimentaron con aplicaciones diarias durante 13 días, a partir del 15 p.i., con dosis de 0.2 mg/kg y 0.4 mg/kg, obteniendo eficacia solamente para la dosis mayor (43.12%). Sin embargo, en 1993 Martínez *et. al* utilizaron el mismo principio activo a dosis única de 0.2 mg/kg aplicándola vía sc, obteniendo el 91 %E contra larvas de *T. canis* en ratones. Posteriormente, en 1999 se estudió en perras por vía sc a dosis de 3 mcg/kg aplicándola los días 0, 30 y 60 de la gestación, reduciendo la carga parasitaria de los cachorros en un 90%, mientras que una dosis similar administrada en el día 42 de la gestación tenía un 71.4 %E. En el mismo estudio, a la misma dosis pero aplicando los días cero, 30 y 60 tras la monta y al día 10 post parto, se obtuvo un 100 %E. En otra investigación se probaron dos esquemas de tratamiento utilizando el mismo fármaco a dosis de 0.3-1.0 mg/kg en perras gestantes inoculadas experimentalmente el día cero de gestación; el primero de ellos (días 25 y 35 p.i.) redujo en un 34% la cantidad de nematodos adultos en el intestino de los cachorros; el segundo (días 45 y 55 p.i.), en 94%. En 2002, González y Morales realizaron un trabajo

en la FESC, comparando ivermectina, doramectina y moxidectina, usando dosis únicas de 200 mcg/kg p.v. para cada fármaco, a los 30 días p.i., encontrando bajos niveles de eficacia (50.13%, 25.7% y 19.72%, respectivamente) para eliminar larvas enquistadas en los tejidos de los ratones. Otra investigación realizada en la misma Facultad en 2003 por Mejía y López, mostró que la utilización de 200 mcg de ivermectina por kg p.v. después de 5 tratamientos mensuales administrados s.c, es capaz de remover el 88.58% de las larvas enquistadas en ratones a nivel global. De la misma manera, en 2004 Acosta realizó un estudio en la misma Facultad utilizando dosis crecientes de ivermectina: 4, 50, 400 800 y 1000 mcg/kg p.v., administradas a ratones infectados y se demostró que el %E de este fármaco es proporcional a la dosis aplicada, obteniendo que para las dosis bajas (4 y 50 mcg/kg) este antihelmíntico presentó 11.83% y 20.34%, respectivamente, mientras que para las tres dosis mayores a la establecida (de 200 mcg/kg p.v.) presentó un 51.34%, 61% y 68.74 %E. Es importante mencionar que en los últimos años se ha encontrado una disminución en la eficacia de la ivermectina, aún a la misma dosis, lo cual sugiere el posible desarrollo de resistencia al fármaco, o la pérdida de su potencia probablemente debido a que ha sido utilizado indiscriminadamente en perros desde que salió a la venta, en 1978 (3, 4, 18, 19, 24, 25, 30, 34, 41, 43).

Por otra parte, la selamectina, otro principio del grupo de las lactonas macrocíclicas, a dosis mínima de 6 mg/kg vía tópica, administrada 10 y 40 días antes y después del parto, previno la transmisión transuterina y lactogénica de la toxocariosis en cachorros. En un trabajo realizado en la FESC (sin publicar) usando esta dosis en tratamientos mensuales, se encontró que a partir de la tercera aplicación se alcanzó la máxima eficacia: 98.66% en cerebro y 100% en el resto de los órganos (3, 4, 18, 19, 25, 30, 34, 43).

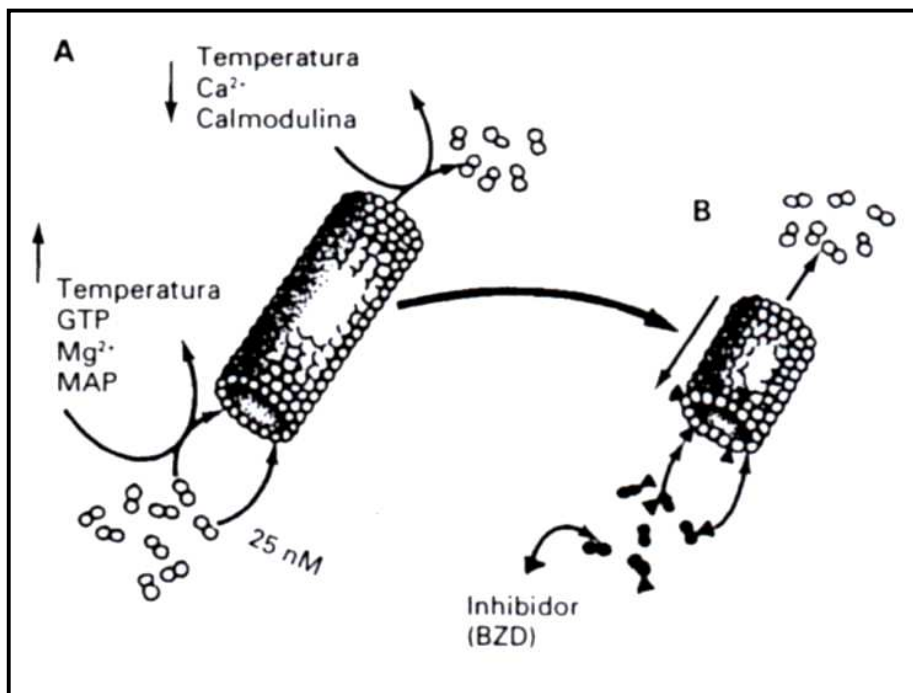
En otras investigaciones se han probado combinaciones entre ivermectina y albendazol obteniendo buenos resultados; esto se debe al sinergismo entre ambos fármacos, ya que poseen diferentes mecanismos de acción. Por

ejemplo, en 2004 Fernández y Ortiz probaron en la FESC una asociación de 200 mcg de ivermectina y 5 mg de albendazol por kg p.v, aplicando mensualmente a partir de los 30 días p.i. y se encontró que para el último tratamiento (el número 4) la eficacia fue de 91.35% a nivel global, 80.08% en cerebro y 98.47% en ME <sup>(24)</sup>.

Por otra parte, en un estudio realizado por Abo-Shehada, citado por Fernández y Ortiz en 2004, demostró que la asociación de ivermectina y levamisol (200mcg/kg y 150 mg/kg, respectivamente) aplicada en una sola dosis en el día 30 p.i., produce una reducción en el conteo larvario en un 78-79%, frente a la asociación albendazol y fenbendazol (100 mg/kg, ambos), la cual únicamente redujo el 43-44% de las larvas; esto sugiere que a pesar de administrar una dosis alta de los dos fármacos, la biodisponibilidad de los mismos es baja para producir un efecto significativo sobre las larvas. En otro estudio, se utilizaron dos dosis de levamisol (6 y 12 mg/kg p.v, vía sc) aplicadas a ratones durante 13 días, a partir del 15 p.i., encontrándose un %E de 12.54 y 64.25, respectivamente. Sin embargo, el levamisol tiene la desventaja de ser tóxico a dosis superiores de 10 mg/kg <sup>(24, 30, 34, 48)</sup>.

También se ha demostrado que, en general, los bencimidazoles solos tienen un efecto larvicida significativo, con la ventaja de que a dosis terapéuticas no tienen toxicidad ni presentan efectos adversos. En el año 2000 Velebny *et. al* probaron formulaciones liposomales de albendazol con glicanos, a dosis de 25 mg/kg vía subcutánea (sc) 2 veces al día por 5 días, encontrando 92 %E sobre el parasitismo total, debido a que la formulación permitió la liberación prolongada del fármaco y, por tanto, mayor biodisponibilidad. Sin embargo, Jaramillo en 2005 demostró que con una administración única, el albendazol disminuye su eficacia, ya que la mejor dosis (400 mg/kg) en un estudio en el que se probaron varias de ellas, se suministró a ratones a los 30 días p.i. obteniendo solamente el 41 %E. Esto indica que la aplicación única del fármaco, aunque sea a dosis elevada, no garantiza su máxima eficacia, debido a que no alcanza los niveles plasmáticos suficientes para hacerlo <sup>(5, 6, 16, 34, 48)</sup>.

En el caso del FBZ, principio del grupo de los bencimidazólicos, se sabe que su actividad antihelmíntica y larvívica se debe a que actúa sobre tubulina, bloqueando la eclosión de las larvas del huevo, lo cual impide que se desarrollen a la fase adulta. La dosificación original de este principio fue en dosis de 5 mg/kg p.v. y su utilización estuvo enfocada a la eliminación de nematodos del tubo digestivo; sin embargo, hace algunos años el laboratorio fabricante del producto demostró su actividad contra el protozooario *Giardia lamblia* (de hecho, en 2003 Reséndiz y Solís demostraron que a esta dosis el FBZ tiene una eficacia del 98.2% contra la giardiasis canina). A partir de este hallazgo se ha generalizado su uso en diversos países, entre ellos México, a dosis de 50-100 mg/kg p.v. Se ha comprobado que con ella se remueve del 80 al 99.8% de los gusanos adultos; no obstante, hasta el momento no se conocen estudios de este principio enfocados a la eliminación de larvas somáticas de *T. canis*.



Jaramillo, E.; 2005.

Fig. 22. Mecanismo de acción de los bencimidazoles.

La inmovilización y muerte de los nematodos se hace con lentitud y aunque no sean eliminados inicialmente, lo hacen después de varios días de administrar el fármaco. De la misma manera, se ha detectado que no existen diferencias significativas observables con respecto a la motilidad de las fases adultas de *T. canis* si se administra pirantel o FBZ como componentes individuales a dosis altas; sin embargo, si se aplica una combinación de ambos fármacos, se presentan cambios graves en los tejidos del parásito, ya sea a pequeñas o altas concentraciones de la asociación de ambos principios activos <sup>(8, 16, 22, 29, 30, 34, 42, 43, 53)</sup>.

En cuanto a su farmacocinética, se ha comprobado que la concentración plasmática tanto del FBZ como de su metabolito sulfonado son extremadamente bajas ( $0.16 \pm 0.08$  mcg/ml para FBZ y  $0.11 \pm 0.05$  mcg/ml para su metabolito) en perros a los que se les administró 50 mg/kg p.v. de FBZ en dosis oral única. Por tanto, para el tratamiento de SLMV se sugiere la utilización de un esquema de dosis repetidas por días consecutivos, para alcanzar concentraciones efectivas de FBZ y su respectivo metabolito en el sitio donde se encuentra el parásito <sup>(6, 26)</sup>.

En lo referente a la actividad larvicida del FBZ, los estudios realizados hasta el momento han resultado heterogéneos, ya que difieren en cuanto a dosis, esquema de tratamiento y resultados. Por ejemplo, en 2006 Kramer *et. al* realizaron un estudio utilizando dosis de 50 mg/kg p.v. (dosis superior a la convencional) desde el día 45 de gestación hasta el 16 post parto; demostrando que este fármaco previene la infección en los cachorros. Un esquema similar fue descrito por Overgaauw en 1997, quien suministró 50 mg/kg desde el día 40 de gestación hasta el 14 post parto, observando una reducción del 89% de *T. canis* en cachorros. A la misma dosis, pero durante sólo tres días consecutivos, Fisher *et. al* (1994) encontraron que las L-3 y L-4 disminuyeron 94 % en cachorros de una semana de vida. Por otra parte, Fok y Kassai en 1996 incorporaron el fármaco a la alimentación de ratones infectados, utilizando dosis de 6 g/kg de alimento durante 30 días, y



obtuvieron un %E de 99.7 %. Otros investigadores usaron dosis bajas diarias (20-30 mg/kg) durante cuatro semanas en ratones infectados a partir del día 10 p.i. y observaron la eliminación casi total de las larvas; pero el mismo tratamiento aplicado durante sólo dos semanas no logró la misma eficacia. Desafortunadamente, la fuente consultada no proporciona los valores de %E obtenidos en esa investigación. Además, es importante considerar que, al igual que éste último, otros estudios comienzan el tratamiento farmacológico a los pocos días (o incluso a las 24 hrs) p.i.; sin tomar en cuenta que esto no sucede de manera natural, puesto que es muy difícil conocer el momento preciso de la infección; además, ocurren variaciones de biodisponibilidad en los diferentes tejidos, lo cual afecta el nivel de eliminación de larvas. El enfoque de la desparasitación con estos fármacos está dirigido a eliminar particularmente las larvas que ya están asentadas en los tejidos del hospedador, particularmente en músculo y cerebro. En esta investigación, al comenzar a administrar el tratamiento a los 30 días p.i. se pretende simular lo que sucede en condiciones naturales, proporcionando mayor validez al estudio. Por otra parte, es importante considerar que varios de los esquemas citados requieren la administración diaria del fármaco durante por lo menos 28 días, lo cual trae consigo dificultades prácticas y de tiempo, además de que eleva el costo del tratamiento por lo menos 28 veces (independientemente de la dosis) en comparación con el esquema propuesto en esta investigación, que es de una administración mensual. Con esto, se busca obtener un %E similar al de dichos estudios, pero reduciendo el tiempo y carga de trabajo, así como el costo del tratamiento (2, 4, 13, 25, 26, 34, 35, 48).

Como puede observarse en la Tabla 3, en el grupo de animales que recibió solamente una dosis del fármaco se observó una cantidad de larvas (714.5) ligeramente superior que en el grupo que no recibió tratamiento (694.8), lo cual indica que con la administración única la dosis no produjo efecto en las larvas; sin embargo, la misma dosis aplicada un mes más tarde ya presentó una eficacia a nivel global del 10.9% con respecto al lote que no fue tratado.

Tras suministrarse la tercera y cuarta aplicación, el %E se incrementó, obteniéndose 51.95 %E para Tx 3 y 73.52 %E para Tx 4 (Tabla 11).

En ME la cantidad de larvas mostró la misma tendencia a disminuir (Tx 3 y Tx 4), excepto en los dos primeros grupos, donde el conteo larvario aumentó ligeramente; esto se explica mediante el fenómeno de migración larvaria de cerebro hacia otros órganos. Este mecanismo ha sido descrito como estrategia biológica para garantizar la continuidad del ciclo del nematodo. Lo anterior también puede explicar el ligero aumento en el conteo larvario en otros órganos <sup>(43)</sup>.

También se encontró que a partir de la administración del segundo tratamiento el conteo larvario en cerebro disminuyó como consecuencia de la acción del fármaco, ya que la barrera hematoencefálica es permeable al FBZ y a otros bencimidazoles. Por tanto, este órgano no proporciona un sitio totalmente seguro para la supervivencia de las larvas <sup>(21, 26)</sup>.

Si se comparan con los resultados publicados por Martínez *et al* en 1993, se observa que en este estudio se presentó un %E similar a los obtenidos en algunos tratamientos con nitroscanate y dietilcarbamacina; no obstante, estos datos ya carecen de validez, puesto que ambos fármacos ya salieron del mercado debido a su progresiva ineficacia. En cuanto al metrifonato, este estudio arrojó resultados similares a los obtenidos con dos aplicaciones a dosis de 25-50 mg/kg p.v., cuya eficacia fue del 86-88 %, aunque debe tomarse en cuenta que no se han llevado a cabo evaluaciones recientes para determinar la eficacia actual de ese principio.

Con respecto a los bencimidazoles, el %E obtenido al final de este trabajo (73.52 %) superó al encontrado por Jaramillo (2005) usando ABZ a dosis única de 400 mg/kg p.v. a los 30 días p.i., cuya eficacia fue del 41%; de igual manera, resultó superior al 43-44 %E que obtuvo Abo-Shehada al utilizar la asociación FBZ-ABZ (100mg/kg p.v. en ambos, dosis única al día 30 p.i.). Sin

embargo, la eficacia del esquema aquí propuesto resultó inferior al compararlo con trabajos desarrollados también con FBZ, que tienen el inconveniente de requerir aplicaciones diarias durante por lo menos 28 días, por lo que no resultan prácticos, o por el propuesto por Fisher *et. al* (1994), que consistió en suministrar 50 mg/kg p.v. del principio por tres días consecutivos, donde el %E fue de 94. Sin embargo, en la fuente citada no se describe el periodo post-tratamiento en el que se analizó la muestra. También fue superado por el estudio de Velibny (2000), que utilizó ABZ en combinación con glicanos en formulación liposomal y obtuvo 92 %E, por lo que podría sugerirse repetir ese estudio pero sustituyendo ABZ por FBZ; sin embargo, este tipo de formulaciones requieren tecnología farmacéutica que incrementaría el costo del tratamiento.

En cuanto a las lactonas macrocíclicas, se obtuvieron resultados menores que los publicados antes del año 2000; pero si consideramos los estudios más recientes -en los que se ha observado una reducción de eficacia del principio-, este esquema superó los resultados de Acosta (2004), quien obtuvo 11.83-68.74 %E usando dosis crecientes de ivermectina (4, 50, 400, 800 y 1000 mcg/kg p.v.). También superó los resultados obtenidos por González y Morales (2002), que utilizaron dosis únicas de 200 mcg/kg p.v a los 30 días p.i., y obtuvieron sólo 50.13 %E para ivermectina, 25.7 %E para doramectina y 19.72 %E para moxidectina. Los resultados de este estudio únicamente fueron superados por los encontrados por Mejía y López (2003), quienes aplicaron 5 tratamientos mensuales de ivermectina a dosis de 200 mcg/kg p.v. y obtuvieron 88.58 %E; así como por el estudio de Enriquez -aún sin publicar-, quien usó selamectina a 6 mg/kg p.v., aplicando 3 tratamientos mensuales, y obtuvo 98.66 %E en cerebro y 100 %E en el resto de los órganos.

El esquema de tratamiento aquí propuesto tiene la ventaja de ser de bajo costo, además de que, al ser de aplicación mensual, el tiempo y carga de trabajo son menores en comparación con los tratamientos de administración diaria propuestos por otros autores. Asimismo, el costo de los diferentes

esquemas de tratamiento es barato cuando se utiliza la dosis convencional, y se incrementa diez veces cuando se administra la dosis de 50 mg/kg p.v. Considerando que cada tableta con 500 mg del fármaco tiene un precio de \$7.00 (siete pesos), el costo del tratamiento con la dosis de las compañías farmacéuticas es de \$0.70 (setenta centavos) por cada kg p.v; en cambio, al utilizar la dosis correcta, se reduce a \$0.07 (siete centavos)/kg p.v.. Si tomamos en cuenta que se deben administrar tres aplicaciones, el costo total es de \$0.21 (veintiún centavos)/kg p.v.; aunque si se aplica el esquema de tratamiento que recomienda utilizar la dosis de 50 mg/kg desde el día 45 de gestación hasta el 16 post parto, el costo final se eleva a \$21.70 (veintiún pesos con setenta centavos)/kg p.v. Por el contrario, si se administra la dosis convencional, el tratamiento completo tiene un costo de \$2.17 (dos pesos con diecisiete centavos)/kg p.v. Finalmente, si se incorpora el fármaco a los alimentos utilizando dosis de 6g/kg de alimento, el costo total del tratamiento es de \$84.00 (ochenta y cuatro pesos) por kg de alimento.

Debido a la moderada eficacia de los cuatro tratamientos, podrían considerarse algunas opciones para obtener mejores resultados. Una de ellas es alargar el número de días del tratamiento, ya que se sabe que la DL50 del FBZ en ratones es de 10,000 mg/kg p.v.; por tanto, no representa riesgo para la salud del animal. Otra alternativa es incrementar la dosis, o bien administrarla con mayor frecuencia, por ejemplo, cada 15 días. También se puede asociar el FBZ con otros principios para generar sinergismo. Sin embargo, con estas medidas se corre el riesgo de que tanto *T. canis* como los otros parásitos que pueda tener el hospedador, se expongan demasiado al FBZ (o a los otros fármacos asociados), provocando que se repita la experiencia del nitroscanate y de la dietilcarbamacina, que terminaron por salir del mercado debido a su ineficacia. Además, esto incrementaría el costo del tratamiento y, en el caso de las aplicaciones adicionales, alargaría su duración. Por tanto, se recomienda no utilizar indiscriminada y repetitivamente los medicamentos disponibles hasta el momento.

El uso del FBZ en la dosis convencional (5 mg/kg p.v.) es una opción en un programa de desparasitación para prevenir la infección transplacentaria y lactogénica en el perro, manteniéndose como recurso en la rotación de antiparasitarios para asegurar la efectividad de los mismos.

Hasta la fecha, este fármaco es aplicado únicamente a cánidos y a otros mamíferos, aunque ya se ha descrito su administración a humanos. Si nos basamos en que su mecanismo de acción es similar al de otros bencimidazoles, y en que éstos presentan efectos larvicidas significativos, proponemos una futura administración del FBZ a humanos para eliminar el SLM, tomando en cuenta que este fármaco es químicamente semejante al albendazol, el cual ya se encuentra comercialmente disponible con este fin <sup>(6, 11, 19, 26, 42, 48)</sup>.

## 7. CONCLUSIONES

- Se indujo satisfactoriamente la infección por L-2 de *T. canis* en ratones, con un inóculo de 500 huevos larvados.
- Las L-2 siguieron el patrón de migración informado en la literatura, asentándose principalmente en cerebro y ME.
- Se detectó actividad del fenbendazol contra las larvas de *T. canis* usando dosis mensuales de 5 mg/kg.
- El porcentaje de eficacia de los tratamientos a nivel global, así como en ME y cerebro, se incrementó proporcionalmente con respecto al número de administraciones; obteniéndose una eficacia máxima del 73.5 % (global), 63.8 % (cerebro) y 75 % (ME), con la aplicación de los 4 tratamientos.

## 8. REFERENCIAS

1. Abo-Shehada, M.N.; Al-Zubaidy, B.A.; Herbert I.V. (1991). Acquired immunity to *Toxocara canis* infection in mice. *Vet Parasitol.* 38: 289-298.
2. Acha, P. N.; Boris C. (2003). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Vol. III: Parasitosis. 3ª Ed. Publicación Científica y Técnica No. 580. Organización Panamericana de la Salud. Washington, Estados Unidos de América. pp. 305-310.
3. Acosta S., N. (2004). Actividad de diferentes niveles de dosificación de ivermectina contra larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos. Tesis de Licenciatura (Médico Veterinario Zootecnista). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 79 pp.
4. Álvarez, M.; Rodríguez, F. (2002). Zoonosis: II Curso sobre enfermedades transmisibles entre los animales y el hombre. Facultad de Veterinaria. Universidad de León. KADMOS. Salamanca, México. pp. 553-570.
5. Anónimo. (n.d.). Anexo 6: Guía de prevención, procedimientos, diagnóstico y tratamiento de larvas migrantes. Ministerio de Salud. Dirección de Programas y Servicios de Atención de la Salud. Departamento de Parasitología Sanitaria. ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Buenos Aires, Argentina. 11 pp.
6. Anónimo. (2004). Committee for Medicinal Products for Veterinary use Fenbendazole (Extrapolation to all ruminants). Summary Report. European Medicines Agency. *Veterinary Medicines and Inspections.* 4 pp.
7. Antolová D.; Reiterová, K.; Miterpáková, M.; Stanko M.; Dubinsky, P. (2004). Circulation of *Toxocara spp.* in suburban and rural ecosystems in the Slovak Republic. *Vet Parasitol.* 126:317-324.

8. Balbuena B., V.; León, L. (2004). Comparación de actividad antihelmíntica de siete productos comerciales contra los nematodos *Toxocara canis* y *Ancylostoma caninum* usando perros con infestación natural por medio de una prueba crítica. Tesis de Licenciatura (Médico Veterinario Zootecnista). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. 74 pp.
9. Beaver, P.; Jung, R.; Cupp, E. (2003). Parasitología Clínica de Craig Faust. 3ª Ed. Masson Doyma México S.A. México. pp. 316-324.
10. Biagi, F. (2004). Enfermedades Parasitarias. 3ª Ed. El Manual Moderno. México. pp. 311-313.
11. Botana, L.; Londoni, F., Martín-J., T. (2002). Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Mc Graw Hill Interamericana. España. pp. 517-527.
12. Botero, D. y Restrepo, M. (1998). Parasitosis humanas. 3ª Ed. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia. pp. 336-339.
13. Buendía J., J. (2000). Evaluación de las lesiones histopatológicas producidas por larvas de *Toxocara canis* en jerbos (*Meriones unguiculatus*) después del tratamiento con moxidectina. Tesis de Licenciatura (Médico Veterinario Zootecnista). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 72 pp.
14. Buijs, J.; Egbers, M.; Nijkamp, F. (1995). *Toxocara canis*-induced airway eosinophilia and tracheal hyporeactivity in guinea pigs and mice. European J of Pharmacol. Environm Toxicol and Pharmacol Section. 293: 207-215.
15. Caballero S., M. (1998). Inmunología de la infección por helmintos Rev. Esp. Alergol Inmunol Clín. 13(6): 297-313.
16. Cárdenas, M.; Chávez, A; Casas, E. (2006). Efectividad del Fenbendazol y Prazicuantel para el control en dosis única de nemátodos y céstodes en perros. Rev Inv Vet. Perú. 17(1): 20-25.



17. Casarosa, L.; Papini, R.; Mancianti, F.; Abramo, F.; Poli, A. (1992). Renal involvement in mice experimentally infected with *Toxocara canis* embryonated eggs. *Vet Parasitol.* 42: 265-72.
18. Castillo G., M. (2007). Evaluación de un producto comercial a base de ivermectina vía oral contra *Toxocara canis* y *Ancylostoma caninum*. Tesis de Licenciatura (Médico Veterinario Zootecnista). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 67 pp.
19. De la Fé, P.; Duménigo, B.; Brito E; Aguilar J. (2006). *Toxocara canis* y Síndrome Larva Migrans Visceral (*Toxocara canis* and Syndrome Larva Migrans Visceralis). *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET.* 7(4): 1-42.
20. De los Santos, O. (2001). Prueba crítica a Vitaminthe ® (asociación oxibendazol-niclosamida) como antihelmíntico contra *A. caninum* y *T. canis* en perros domésticos. Tesis de Licenciatura (Químico Farmacéutico Biólogo). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 62 pp.
21. Del Valle, M.; Radman, N.; Burgos, L.; Fonrouge, R.; Archelli, S. (2002). *Toxocara canis*: migración larval y eosinofilia en el hospedador paraténico. *Parasitol Latinoam.* 57: 46-49.
22. Dryden, Michael W. y Robert K. Ridley. (1999). Efficacy of fenbendazole granules and pyrantel pamoate suspension against *Toxocara canis* in greyhounds housed in contaminated runs. *Vet Parasitol.* 82: 311-315.
23. Eguía-Aguilar P.; Cruz-Reyes, A. y Martínez-Maya J. J. (2005). Ecological analysis and description of the intestinal helminths present in dogs in Mexico City. *Vet Parasitol.* 127: 139-146.
24. Fernández A., C.; Ortiz C. (2004). Evaluación del tratamiento con dosis repetitivas de una asociación albendazol-ivermectina contra las larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos. Tesis de Licenciatura (Médico Veterinario Zootecnista). Facultad de Estudios

- Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 60 pp.
25. Fisher, M.A.; Jacobs D.E.; Hutchinson M.J y Dick I.G.C. (1994). Studies on the control of *Toxocara canis* in breeding kennels. *Vet Parasitol.* 55: 87-92.
  26. Fok, Éva. y T. Kassai. (1998). *Toxocara canis* infection in the paratenic host: a study on the chemosusceptibility of the somatic larvae in mice. *Vet Parasitol.* 74: 243-259.
  27. Fujio, U.; Ookatsu K.; Hayashi, D.; Uchida, A.; Douchi, Y.; Kawabata, H.; Goto, R.; Hashiguchi, A.; Matsuura, E.; Okubo, R.; Higuchi, E.; Arimura, K.; Nawa, Y. y Osame, M. (2006). MRI studies of spinal visceral larva migrans syndrome. *J Neurol Sci.* 249: 7-12.
  28. Ghiani, H. (2001). Toxocariasis and asthma. *Arch Alerg Inmunol Clin.* 32(Supl2): 102-105.
  29. González G., T. (2006). Distribución anatómica de larvas somáticas de *Toxocara canis* en la musculatura y tejido cerebral de jerbos mongólicos y ratones blancos de la cepa CD-1. Tesis de Licenciatura (Médico Veterinario Zootecnista). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 52 pp.
  30. González P., G.; Morales, F. (2002). Evaluación comparativa de la actividad antiparasitaria de la ivermectina, moxidectina y doramectina contra larvas enquistadas de *Toxocara canis*. Tesis de Licenciatura (Químico Farmacéutico Biólogo). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 100 pp.
  31. Helwigh, A. B.; Lind, P.; Nansen, P. (1999). Visceral larva migrans: migratory pattern of *Toxocara canis* in pigs. *Int J Parasitol.* 29: 559-565.
  32. Holt, P.E.; Clarkson, M.J.; Kerlake, M. (1981). Anthelmintic tests on *Toxocara canis* infection in mice. *Vet Rec.* 108(14): 308-309.
  33. Illel C., K. (2002). Contaminación de áreas recreativas con heces de perro en el Bosque de Chapultepec (Delegación Miguel Hidalgo, D.F.) y el riesgo de infecciones parasitarias en el humano. Tesis de

- Licenciatura (Médico Veterinario Zootecnista). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 55 pp.
34. Jaramillo A., E. (2005). Efecto antiparasitario del albendazol suministrado a diferentes dosis sobre larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos. Tesis de Licenciatura (Químico Farmacéutico Biólogo). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 66 pp.
  35. Kramer, F.; Hammerstein R.; Stoye, M.; Epe C. (2006). Investigations into the Prevention of Prenatal and Lactogenic *Toxocara canis* Infections in Puppies by Application of Moxidectin to the Pregnant Dog. J. Vet. Med. B. 53: 218-223.
  36. Maizels, R. M.; Page, A.P. (1990). Surface associated glycoproteins from *Toxocara canis* larval parasites. Ac Trop. 47: 355-64.
  37. Maizels, R. M.; Tetteh, K. A.; Loukas, A. (2000). *Toxocara canis*: genes expressed by the arrested infective larval stage of a parasitic nematode. Int J Parasitol. 304: 495-508.
  38. Mandell, L. G.; Bennett, J.; Dolin, R. (2002). Enfermedades Infecciosas: Principios y prácticas. Vol. II. 5ª Ed. Médica Panamericana. Argentina. pp. 3578-3580.
  39. Maroni, C.; Sinhorini, I.; Ogassawara, S. (1994). Influence of soil texture in the recovery of *Toxocara canis* eggs by a flotation method. Vet Parasitol. 53: 269-274.
  40. Martínez, L. J. P. (2004). Detección del depósito de antígenos de excreción - secreción de larvas somáticas de *Toxocara canis* en tejidos de jerbos con infección inducida. Tesis de Maestría (Microbiología). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 131 pp.
  41. Martínez, L. J. P.; González L. C.; Carrillo M. L.; Alba H. F. (1993). Estudio comparativo sobre la eficacia de diferentes antihelmínticos contra larvas enquistadas de *Toxocara canis*. Memorias del II Congreso de la Asociación Panamericana de Especialistas en Pequeñas Especies y

- XXIV Congreso de la Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Pequeñas Especies. Monterrey, N.L. 128 pp.
42. Mehlhorn H.; Hanser, E.; Harder, A.; Hansen, O.; Mencke, N.; Schaper, R. (2003). Synergistic Effects of Pyrantel and the Febantel Metabolite Fenbendazole on Adult *Toxocara canis*. Parasitol Res. 90: 151–153.
43. Mejía L., J.; López, E. (2003). Efecto de dosis repetitivas de ivermectina sobre larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos. Tesis de Licenciatura (Médico Veterinario Zootecnista). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 58 pp.
44. Muradian, V.; Gennari, S.; Glickman L.; Pinheiro, S. (2005). Epidemiological aspects of *Visceral Larva Migrans* in children living at Sao Remo Community, Sao Paulo (SP), Brazil. Vet Parasitol. 134: 93–97.
45. Mustafa, I.; Sakru, N.; Vatansever, U. y Bilgi, S. (2006). Visceral larva migrans presenting as acute abdomen in a child. J Ped Surg. 41: E7–E9.
46. Nobuaki, A.; Tomoda, M.; Hayashi, E.; Suzuki, R.; Suganuma, M.S.; Shichinohe, K.; Fujita, K. (2003). Cerebellar ataxia due to *Toxocara* infection in Mongolian gerbils, *Meriones unguiculatu*. Vet Parasitol. 113: 229–237.
47. Noordina, R.; Smith, H.V.; Mohamad, S.; Maizels, R. M. y Fong, M.Y. (2005). Comparison of Ig G-ELISA and Ig G4-ELISA for *Toxocara* serodiagnosis. Ac Trop. 93: 57–62.
48. Overgaauw, P.A.M. (1997). Chapter 1: General introduction. Aspects of *Toxocara* Epidemiology, Toxocarosis in dogs and cats. Cri Rev Microbiol. 23:233-51.
49. Payne P.A. y Ridley R.K. (1999). Strategic use of ivermectin during pregnancy to control *Toxocara canis* in greyhound puppies. Vet Parasitol. 85: 305–312.

50. Pinelli, E.; Brandes, S.; Dormans, J.; Fonville, M.; Hamilton C.M.; Van der Giessen J. (2007). *Toxocara canis*: Effect of inoculum size on pulmonary pathology and cytokine expression in BALB/c mice. *Exp Parasitol.* 115: 76–82.
51. Plumb, C. D. (2005). *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. Pharma Vet. Wisconsin, USA. pp. 324-326.
52. Pullola, T.; Vierimaa, J.; Saari, S.; Virtala, A. M.; Nikander, S. y Sukura, A. (2006). Canine intestinal helminths in Finland: Prevalence, risk factors and endoparasite control practices. *Vet Parasitol.* 140: 321–326.
53. Reséndiz, R.; Solís, F. (2003). Prueba clínica al fenbendazol para el tratamiento de giardiosis canina. Tesis de Licenciatura (Médico Veterinario Zootecnista). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 62 pp.
54. Romero, G. (2001). Evaluación por ELISA de Ig G específica contra antígenos de excreción y secreción de L2 de *Toxocara canis* en conejos inoculados experimentalmente. Tesis de Licenciatura (Químico Farmacéutico Biólogo). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 75 pp.
55. Roner, P. N.; Gomes, R.; Amendoeira, F. C.; Pereira, A. C.; Martins, M. J.; Pegado, C.; Pereira, O.; Bozza, P. y Castro-Faria-Neto, H. (2005). Influence of murine *Toxocara canis* infection on plasma and bronchoalveolar lavage fluid eosinophil numbers and its correlation with cytokine levels. *Vet Parasitol.* 134: 121–130.
56. Rubel, D.; Zunino, G.; Santillán G. y Wisnivesky C. (2003). Epidemiology of *Toxocara canis* in the dog population from two areas of different socioeconomic status, Greater Buenos Aires, Argentina. *Vet Parasitol.* 115: 275–286.
57. Sakai, S.; Shida, Y.; Takahashi, N.; Yabuuchi, H.; Soeda, H.; Okafuji, T.; Hatakenaka, M.; Honda, H. (2006). Pulmonary Lesions Associated With Visceral Larva Migrants Due to *Ascaris suum* or *Toxocara canis*: Imaging of Six Cases. *AJR.* 186: 1697-1702.

- 58.Sciencelab. (2005). Material Safety Data Sheet Fenbendazole MSDS.
- 59.Suchitra, N.; Greene, T.; Ernharts, C.B. (1996). *Toxocara canis* infection in Preschool Age Children: Risk Factors and the Cognitive Development of Preschool Children. *Nemotox and Teratol.* 18(2): 167-174.
- 60.Tolan, R.; Laufer, M. (2006). Toxocariasis. Disponible en: <http://www.emedicine.com/ped/topic2270.htm>. (02 de octubre de 2007).
- 61.Torina, A.; Caracappa, S.; Barera, A.; Dieli, F.; Sireci, G.; Genchi, C.; Deplazes, P.; Salerno, A. (2005). *Toxocara canis* infection induces antigen-specific IL-10 and IFN production in pregnant dogs and their puppies. *Vet Immunol and Immunopathol.* 108: 247-251.
- 62.Vázquez T., O.; Martínez, I.; Tay, J.; Ruiz, A.; Pérez, A. (1997). Vegetables for human consumption as probable source of *Toxocara sp.* infection in man. *Bol Chil Parasitol.* Jul-Dec. 52(3-4): 47-50.

**ANEXO 1**  
**RESULTADOS DIRECTOS (SIN PROCESAR) EN CADA UNIDAD EXPERIMENTAL,**  
**POR LOTE.**

Tabla 12. Cantidad de larvas de *T. canis* encontradas en cada órgano, por unidad experimental, en el lote de ratones inoculados y no tratados [control (+)].

	Cerebro	Corazón	Pulmón	Riñón	Hígado	ME	TOTAL
S/Tx A	11	2	2	5	3	157	179.6
S/Tx B	4	1	0	11	0	14	31
S/Tx C	37	0	0	0	0	11	49.3
S/Tx D	24	0	1	3	3	31	64.2
S/Tx E	15	0	0	0	0	0	15
S/Tx F	7	0	0	0	1	0	8
S/Tx G	31	1	4	3	4	0	43
S/Tx H	21	0	0	4	1	58	84.2
S/Tx I	15	0	0	0	1	99	114.5
S/Tx J	23	1	3	8	5	66	106
Total	188	5	10	34	18	436	644.8
$\bar{x}$	18.8	0.5	1	3.4	1.8	43.6	

Tabla 13. Cantidad de larvas de *T. canis* encontradas en cada órgano, por unidad experimental, en el lote de animales que recibió una dosis del tratamiento (Tx 1).

	Cerebro	Corazón	Pulmón	Riñón	Hígado	ME	TOTAL
Tx 1 A	39	3	3	7	7	67	126.2
Tx 1 B	41	5	4	6	4	76	136.3
Tx 1 C	14	1	1	1	0	25	41.8
Tx 1 D	28	1	0	4	3	36	72
Tx 1 E	27	2	0	2	2	51	83.8
Tx 1 F	1	0	0	0	1	14	16.7
Tx 1 G	10	0	0	0	0	57	67
Tx 1 H	23	1	1	0	1	35	61.2
Tx 1 I	9	0	0	1	2	44	56.1
Tx 1 J	17	0	0	1	1	34	53.4
Total	209	13	10	22	21	439	714.5
$\bar{x}$	20.9	1.3	1.0	2.2	2.1	43.9	



Tabla 14. Cantidad de larvas de *T. canis* encontradas en cada órgano, por unidad experimental, en el lote de animales que recibió dos dosis del tratamiento (Tx 2).

	Cerebro	Corazón	Pulmón	Riñón	Hígado	ME	TOTAL
Tx 2 A	9	1	0	0	0	96	105.6
Tx 2 B	15	0	0	0	0	32	47.4
Tx 2 C	1	1	0	0	2	0	4
Tx 2 D	4	2	0	0	0	0	6
Tx 2 E	6	0	0	0	0	0	6
Tx 2 F	20	0	0	0	0	63	83
Tx 2 G	5	1	1	0	2	78	87.4
Tx 2 H	10	1	0	1	4	101	116.5
Tx 2 I	7	0	0	0	3	92	102
Tx 2 J	7	0	2	1	0	47	56.5
Total	84	6	3	2	13	509	614.4
$\bar{x}$	8.4	0.6	0.3	0.2	1.3	50.9	

Tabla 15. Cantidad de larvas de *T. canis* encontradas en cada órgano, por unidad experimental, en el lote de animales que recibió tres dosis del tratamiento (Tx 3).

	Cerebro	Corazón	Pulmón	Riñón	Hígado	ME	TOTAL
Tx 3 A	3	0	0	0	0	63	66.3
Tx 3 B	12	0	0	1	2	38	52.8
Tx 3 C	10	0	0	1	0	21	31.9
Tx 3 D	0	1	1	0	0	0	2
Tx 3 E	5	0	2	0	0	35	41.5
Tx 3 F	3	0	0	0	0	0	3
Tx 3 G	16	0	2	0	7	0	25
Tx 3 H	22	1	0	3	0	12	37.6
Tx 3 I	0	0	0	0	0	22	21.6
Tx 3 J	0	0	0	0	5	44	49.4
Total	71	2	5	5	14	235	331.1
$\bar{x}$	7.1	0.2	0.5	0.5	1.4	23.5	

Tabla 16. Cantidad de larvas de *T. canis* encontradas en cada órgano, por unidad experimental, en el lote de animales que recibió cuatro dosis del tratamiento (Tx 4).

	Cerebro	Corazón	Pulmón	Riñón	Hígado	ME	TOTAL
Tx 4 A	14	1	0	0	0	16	30.7
Tx 4 B	0	0	0	0	0	18.9	18.9
Tx 4 C	8	0	0	0	0	0	8
Tx 4 D	13	0	0	0	0	0	13
Tx 4 E	0	0	0	0	0	30	30.4
Tx 4 F	18	0	0	0	0	0	18
Tx 4 G	5	0	0	0	0	20	25.1
Tx 4 H	15	0	0	0	5	0	20
Tx 4 I	5	0	0	0	0	24	28.9
Tx 4 J	0	0	0	0	0	0	0
Total	78	1	0	0	5	109	193
$\bar{x}$	7.8	0.1	0	0	0.5	10.9	

Tabla 17. Cantidad de larvas de *T. canis* encontradas en cada órgano, por unidad experimental, en el lote de ratones no inoculados y no tratados. [control (-)]

	Cerebro	Corazón	Pulmón	Riñón	Hígado	ME
Ctrl (-) A	0	0	0	0	0	0
Ctrl (-) B	0	0	0	0	0	0
Ctrl (-) C	0	0	0	0	0	0
Ctrl (-) D	0	0	0	0	0	0
Ctrl (-) E	0	0	0	0	0	0
Ctrl (-) F	0	0	0	0	0	0
Ctrl (-) G	0	0	0	0	0	0
Ctrl (-) H	0	0	0	0	0	0
Ctrl (-) I	0	0	0	0	0	0
Ctrl (-) J	0	0	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	0
$\bar{x}$	0	0	0	0	0	0

**ANEXO 2**  
**PROCEDIMIENTOS ESTADÍSTICOS Y PORCENTAJE DE EFICACIA DEL**  
**FENBENDAZOL**

**a) Análisis de varianza del total de larvas encontradas en los seis lotes**

RATON	S/Tx	Tx 1	Tx 2	Tx 3	Tx 4	
1	180	126	106	66	28	
2	30	136	47	53	19	
3	48	42	4	32	8	
4	62	72	6	2	11	
5	15	84	6	42	30	
6	8	17	83	3	15	
7	43	67	87	25	25	
8	84	61	117	38	18	
9	115	56	102	22	29	
10	106	53	57	49	0	G
$\Sigma$	691	714	615	332	183	2535
$\bar{x}$	69.1	71.4	61.5	33.2	18.3	

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6$$

Los tratamientos no actúan contra las larvas enquistadas

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6$$

Los tratamientos si actúan contra las larvas enquistadas

Donde  $r = 10$  y  $t = 5$

$$C = \frac{G^2}{(r \times t)} = \frac{2535^2}{(5 \times 10)} = 128524.5$$

*Suma de Cuadrados*

$$SCTL = \sum_{i=1}^6 \sum_{j=1}^{10} x_{ij}^2 - C$$

$$SCTL = [180^2 + 30^2 + 48^2 + 62^2 + 15^2 + 8^2 + 43^2 + 84^2 + 115^2 + 106^2 + 126^2 + 136^2 + 42^2 + 72^2 + 84^2 + 17^2 + 67^2 + 61^2 + 56^2 + 53^2 + 106^2 + 47^2 + 4^2 + 6^2 + 6^2 + 83^2 + 87^2 + 117^2 + 102^2 + 57^2 + 66^2 + 53^2 + 32^2 + 2^2 + 42^2 + 3^2 + 25^2 + 38^2 + 22^2 + 49^2 + 28^2 + 19^2 + 8^2 + 11^2 + 30^2 + 15^2 + 25^2 + 18^2 + 29^2 + 0^2] - 128524.5 = 81896.5$$

$$SCTR = \frac{\sum_{i=1}^6 x_i^2}{r - C}$$

$$SCTR = [ ( 691^2 + 714^2 + 615^2 + 332^2 + 183^2 ) \div 10 ] - 128524.5 = 22394$$

$$SCER = SCTL - SCTR$$

$$SCER = 81896.5 - 22397 = 59499.5$$

#### *Grados de Libertad*

Para tratamiento:  $(t - 1) = 5 - 1 = 4$

Para error:  $t (r - 1) = 5 (10 - 1) = 45$

Para el total:  $(r \times t) - 1 = (5 \times 10) - 1 = 49$

#### *Cuadrados Medios*

$$CMTR = SCTR \div g.L_{TR} = 22397 \div 4 = 5599.25$$

$$CMER = SCER \div g.L_{ER} = 59499.5 \div 45 = 1322.211111$$

#### *Valor de Fc*

$$F_c = \frac{CMTR}{CMER} = \frac{5599.25}{1322.211111} = 4.234762477$$

#### *Tabla de ANOVA*

FV	g. L	SC	CM	Fc	F <sub>α 0.05</sub>
Tratamiento	4	22397	5599.25	4.234762477	2.585
Error	45	59499.5	1322.211111		
Total	49	81896.5			

Como  $F_c = 4.234762477 > F_{\alpha 0.05} = 2.585$  Se rechaza  $H_0$ . Por tanto, los tratamientos si actúan contra las larvas de *T. canis* enquistadas en los tejidos de ratones.

**b) Análisis de varianza del total de larvas encontradas en cerebro en los seis lotes**

RATON	S/Tx	Tx 1	Tx 2	Tx 3	Tx 4	
1	11	39	9	3	11	
2	4	41	15	12	0	
3	37	14	1	10	8	
4	24	28	4	0	11	
5	15	27	6	5	0	
6	7	1	20	3	15	
7	31	10	5	16	5	
8	21	23	10	22	13	
9	15	9	7	0	5	
10	23	17	7	0	0	G
$\Sigma$	188	209	84	71	68	620
$\bar{x}$	18.8	20.9	8.4	7.1	6.8	

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6$$

Los tratamientos no actúan contra las larvas enquistadas en cerebro

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6$$

Los tratamientos si actúan contra las larvas enquistadas en cerebro

Donde  $r = 10$  y  $t = 5$

$$C = \frac{G^2}{(r \times t)} = \frac{620^2}{(5 \times 10)} = 7688$$

*Suma de Cuadrados*

$$SCTL = \sum_{i=1}^6 \sum_{j=1}^{10} x_{ij}^2 - C$$

$$SCTL = [ 11^2 + 4^2 + 37^2 + 24^2 + 15^2 + 7^2 + 31^2 + 21^2 + 15^2 + 23^2 + 39^2 + 41^2 + 14^2 + 28^2 + 27^2 + 1^2 + 10^2 + 23^2 + 9^2 + 17^2 + 9^2 + 15^2 + 1^2 + 4^2 + 6^2 + 20^2 + 5^2 + 10^2 + 7^2 + 7^2 + 3^2 + 12^2 + 10^2 + 5^2 + 3^2 + 16^2 + 22^2 + 11^2 + 8^2 + 11^2 + 15^2 + 5^2 + 13^2 + 5^2 + 0^2 ] - 7688 = 5494$$

$$SCTR = \frac{\sum_{i=1}^6 x_i^2}{r - C}$$

$$SCTR = [ ( 188^2 + 209^2 + 84^2 + 71^2 + 68^2 ) \div 10 ] - 7688 = 1886.6$$

$$SCER = SCTL - SCTR$$

$$SCER = 5494 - 1886.6 = 3607.4$$

#### *Grados de Libertad*

Para tratamiento:  $(t - 1) = 5 - 1 = 4$

Para error:  $t (r - 1) = 5 (10 - 1) = 45$

Para el total:  $(r \times t) - 1 = (5 \times 10) - 1 = 49$

#### *Cuadrados Medios*

$$CMTR = SCTR \div g.L_{TR} = 1886.6 \div 4 = 471.65$$

$$CMER = SCER \div g.L_{ER} = 3607.4 \div 45 = 80.16444444$$

#### *Valor de Fc*

$$F_c = \frac{CMTR}{CMER} = \frac{471.65}{80.16444444} = 5.883531075$$

#### *Tabla de ANOVA*

FV	g. L	SC	CM	Fc	F <sub>α 0.05</sub>
Tratamiento	5	1886.6	471.65	5.883531075	2.585
Error	45	3607.4	80.16444444		
Total	49	5494			

Como  $F_c = 5.883531075 > F_{\alpha 0.05} = 2.585$  Se rechaza  $H_0$ . Por tanto, los tratamientos si actúan contra las larvas de *T. canis* enquistadas en cerebro de ratones.



**c) Análisis de varianza del total de larvas encontradas en músculo esquelético en los seis lotes**

RATON	S/Tx	Tx 1	Tx 2	Tx 3	Tx 4	
1	157	67	96	63	16	
2	14	76	32	38	19	
3	11	25	0	21	0	
4	31	36	0	0	0	
5	0	51	0	35	30	
6	0	14	63	0	0	
7	0	57	78	0	20	
8	58	35	101	12	0	
9	99	44	92	22	24	
10	66	34	47	44	0	G
$\Sigma$	436	439	509	235	109	1728
$\bar{x}$	43.6	43.9	50.9	23.5	10.9	

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6$

Los tratamientos no actúan contra las larvas enquistadas en músculo esquelético

$H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6$

Los tratamientos si actúan contra las larvas enquistadas en músculo esquelético

Donde  $r = 10$  y  $t = 5$

$$C = \frac{G^2}{(r \times t)} = \frac{1728^2}{(5 \times 10)} = 59719.68$$

*Suma de Cuadrados*

$$SCTL = \sum_{i=1}^6 \sum_{j=1}^{10} x_{ij}^2 - C$$

$$SCTL = [ 157^2 + 14^2 + 11^2 + 31^2 + 58^2 + 99^2 + 66^2 + 67^2 + 76^2 + 25^2 + 36^2 + 51^2 + 14^2 + 57^2 + 35^2 + 44^2 + 34^2 + 96^2 + 32^2 + 63^2 + 78^2 + 101^2 + 92^2 + 47^2 + 63^2 + 38^2 + 21^2 + 35^2 + 12^2 + 22^2 + 44^2 + 16^2 + 19^2 + 30^2 + 20^2 + 24^2 ] - 59719.68 = 59580.32$$

$$SCTR = \frac{\sum_{i=1}^6 x_i^2}{r - C}$$

$$SCTR = [ ( 436^2 + 439^2 + 509^2 + 235^2 + 109^2 ) \div 10] - 59719.68 =$$

$$SCTR = 11180.72$$

$$SCER = SCTL - SCTR$$

$$SCER = 59580.32 - 11180.72 = 48399.6$$

#### *Grados de Libertad*

$$\text{Para tratamiento: } (t - 1) = 5 - 1 = 4$$

$$\text{Para error: } t (r - 1) = 5 (10 - 1) = 45$$

$$\text{Para el total: } (r \times t) - 1 = (5 \times 10) - 1 = 49$$

#### *Cuadrados Medios*

$$CMTR = SCTR \div g.L_{TR} = 11180.72 \div 4 = 2795.18$$

$$CMER = SCER \div g.L_{ER} = 48399.6 \div 45 = 1075.546667$$

#### *Valor de Fc*

$$F_c = \frac{CMTR}{CMER} = \frac{2795.18}{1075.546667} = 2.598845857$$

#### *Tabla de ANOVA*

FV	g. L	SC	CM	Fc	F <sub>α 0.05</sub>
Tratamiento	5	11180.72	2795.18	2.598845857	2.585
Error	45	48399.6	1075.546667		
Total	99	59580.32			

Como  $F_c = 2.598845857 > F_{\alpha 0.05} = 2.585$  Se rechaza  $H_0$ . Por tanto, los tratamientos si actúan contra las larvas de *T. canis* enquistadas en músculo esquelético de ratones.

**d) Prueba de Tukey para el total de larvas encontradas en los seis lotes**

TRATAMIENTO	4	3	2	S/Tx	1
$\bar{x}$	18.3	33.2	61.5	69.1	71.4

$$DMSH = [q_{\alpha,t,g.L.}] \times \bar{s}_x$$

Donde:  $\alpha = 0.05$

$t = 5$

$g.l_{ER} = 45$

$$\therefore q_{0.05, 6, 54} = 4.0235$$

$$\bar{s}_X = \sqrt{\frac{S^2}{r}} = \sqrt{\frac{CMER}{r}} = \sqrt{\frac{1322.211111}{10}} = 11.49874389$$

$$DMSH = (4.0235) \times (11.49874389) = 46.26519604$$

COMPARACIÓN	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
Tx 1 - S/Tx	71.4 - 69.1 = 2.3	N.S.
Tx 1 - Tx 2	71.4 - 61.5 = 9.9	N.S.
Tx 1 - Tx 3	71.4 - 33.2 = 38.2	N.S.
Tx 1 - Tx 4	71.4 - 18.3 = 53.1	Tx 1 > Tx 4
S/Tx - Tx 2	69.1 - 61.5 = 7.6	N.S.
S/Tx - Tx 3	69.1 - 33.2 = 35.9	N.S.
S/Tx - Tx 4	69.1 - 18.3 = 50.8	S/Tx > Tx 4
Tx 2 - Tx 3	61.5 - 33.2 = 28.3	N.S.
Tx 2 - Tx 4	61.5 - 18.3 = 43.2	N.S.
Tx 3 - Tx 4	33.2 - 18.3 = 14.9	N.S.

**e) Prueba de Tukey para el total de larvas encontradas en cerebro en los seis lotes**

TRATAMIENTO	4	3	2	S/Tx	1
$\bar{x}$	6.8	7.1	8.4	18.8	20.9

$$DMSH = [q_{\alpha,t,g.L.}] \times s_{\bar{x}}$$

Donde:  $\alpha = 0.05$

$t = 5$

$g.L_{ER} = 45$

$$\therefore q_{0.05, 6, 54} = 4.0235$$

$$s_{\bar{X}} = \sqrt{\frac{S^2}{r}} = \sqrt{\frac{CMER}{r}} = \sqrt{\frac{80.16444444}{10}} = 2.831332627$$

$$DMSH = (4.0235) \times (2.831332627) = 11.39186682$$

COMPARACIÓN	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
Tx 1 - S/Tx	20.9 - 18.8 = 2.10	N.S.
Tx 1 - Tx 2	20.9 - 8.40 = 12.5	Tx 1 > Tx 2
Tx 1 - Tx 3	20.9 - 7.10 = 13.8	Tx 1 > Tx 3
Tx 1 - Tx 4	20.9 - 6.80 = 14.1	Tx 1 > Tx 4
S/Tx - Tx 2	18.8 - 8.40 = 10.4	N.S.
S/Tx - Tx 3	18.8 - 7.10 = 11.7	S/Tx > Tx 3
S/Tx - Tx 4	18.8 - 6.80 = 12.0	S/Tx > Tx 4
Tx 2 - Tx 3	8.40 - 7.10 = 1.3	N.S.
Tx 2 - Tx 4	8.40 - 6.80 = 1.6	N.S.
Tx 3 - Tx 4	7.10 - 6.80 = 0.3	N.S.

**f) Prueba de Tukey para el total de larvas encontradas en músculo esquelético en los seis lotes**

TRATAMIENTO	4	3	S/Tx	1	2
$\bar{x}$	10.9	23.5	43.6	43.9	50.9

$$DMSH = [q_{\alpha,t,g.L.}] \times s_{\bar{x}}$$

Donde:  $\alpha = 0.05$

$t = 5$

$g.L_{ER} = 45$

$$\therefore q_{0.05, 6, 54} = 4.0235$$

$$s_{\bar{X}} = \sqrt{\frac{S^2}{r}} = \sqrt{\frac{CMER}{r}} = \sqrt{\frac{1075.546667}{10}} = 10.3708566$$

$$DMSH = (4.0235) \times (10.3708566) = 41.72714153$$

COMPARACIÓN	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
Tx 2 - Tx 1	50.9 - 43.9 = 7.0	N.S.
Tx 2 - S/Tx	50.9 - 43.6 = 7.3	N.S.
Tx 2 - Tx 3	50.9 - 23.5 = 27.4	N.S.
Tx 2 - Tx 4	50.9 - 10.9 = 40.0	N.S.
Tx 1 - S/Tx	43.9 - 43.6 = 0.3	N.S.
Tx 1 - Tx 3	43.9 - 23.5 = 20.4	N.S.
Tx 1 - Tx 4	43.9 - 10.9 = 33.0	N.S.
S/Tx - Tx 3	43.6 - 23.5 = 20.1	N.S.
S/Tx - Tx 4	43.6 - 10.9 = 32.7	N.S.
Tx 3 - Tx 4	23.5 - 10.9 = 12.6	N.S.

## ECUACIÓN DE WESCOT PARA CÁLCULO DE EFICACIA

$$\% E = \frac{(No. \text{ larvas control}) (No. \text{ larvas Tx})}{(No. \text{ larvas control})} \times 100$$

### g) Porcentaje de eficacia de los tratamientos para el total de larvas

$$\% E_{Tx1} = \frac{(691 - 714)}{691} \times 100 = \text{No aplica}$$

$$\% E_{Tx2} = \frac{(691 - 615)}{691} \times 100 = 10.99855282 \%$$

$$\% E_{Tx3} = \frac{(691 - 332)}{691} \times 100 = 51.9536903 \%$$

$$\% E_{Tx4} = \frac{(691 - 183)}{691} \times 100 = 73.51664255 \%$$

### h) Porcentaje de eficacia de los tratamientos para el total de larvas enquistadas en cerebro

$$\% E_{Tx1} = \frac{(188 - 209)}{188} \times 100 = \text{No aplica}$$

$$\% E_{Tx2} = \frac{(188 - 84)}{188} \times 100 = 55.31914894 \%$$

$$\% E_{Tx3} = \frac{(188 - 71)}{188} \times 100 = 62.23404255 \%$$

$$58\% E_{Tx4} = \frac{(188 - 68)}{188} \times 100 = 63.82978723\%$$

**i) Porcentaje de eficacia de los tratamientos para el total de larvas enquistadas en músculo esquelético**

$$\% E_{Tx1} = \frac{(436 - 439)}{436} \times 100 = \text{No aplica}$$

$$\% E_{Tx2} = \frac{(436 - 509)}{436} \times 100 = \text{No aplica}$$

$$\% E_{Tx3} = \frac{(436 - 235)}{436} \times 100 = 46.10091743\%$$

$$\% E_{Tx4} = \frac{(436 - 109)}{436} \times 100 = 75\%$$