



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA DE IVERMECTINA EN DOSIS
REPETITIVAS A INTERVALOS MENSUALES CONTRA LARVAS DE
Toxocara canis EN RATONES HEMBRA CD1”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

Tonatiuh Muciño Vega

ASESOR:

M. EN C. JUAN PABLO MARTÍNEZ LABAT

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, SEPTIEMBRE DEL 2013



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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
 UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
 PRESENTE



ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **TESIS**

Actividad antiparasitaria de Ivermectina en dosis repetitivas a intervalos mensuales contra larvas de Toxocara canis en ratones hembra CDI

Que presenta el pasante: **Tonatiuh Muciño Vega**
 Con número de cuenta: **097207320** para obtener el Título de: **Químico Farmacéutico Biólogo**

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

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
 Cuautitlán Izcalli, Méx. a 07 de mayo de 2012.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Juan Pablo Martínez Labat	
VOCAL	MVZ. Gabriela Fuentes Cervantes	
SECRETARIO	M. en C. Lidia Rangel Trujano	
1er SUPLENTE	QFB. Raquel Tapia Romero	
2do SUPLENTE	Q. Lidia Elena Ballesteros Hernández	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).
 HHA/pm

DEDICATORIA

Mi eterno agradecimiento a mis padres que me apoyaron con anhelo y ahínco en la realización de esta obra, así como a mi familia y familiares que me han permitido con su ejemplo ser el hombre que ahora soy.

A mi querido abuelo Prof. David Vega Vázquez y al Cnel. Roberto Gómez García, ya extintos, quienes por su bondad y múltiples atenciones hacia el que esto escribe, en mi niñez y adolescencia, quedó gratamente grabado en mi memoria su bendito recuerdo y sus enseñanzas de la satisfacción del deber cumplido.

Un reconocimiento especial e infinita gratitud a todos y cada uno de mis maestros que sin su apoyo esto no se hubiese logrado.

RESUMEN

Toxocara canis, es un parásito cosmopolita de caninos con una alta incidencia, patogenicidad e importancia como un grave problema de salud pública, ya que es el principal agente causal de la toxocariosis humana (Síndrome de Larva Migrans) por el contacto estrecho con los humanos y otros animales.

En éste estudio se evaluó la actividad antiparasitaria de la ivermectina en tres dosis repetitivas a intervalos mensuales en contra de larvas de *Toxocara canis* en ratones hembras de la cepa CD1.

Para la realización de éste estudio se utilizaron 60 ratones hembras, que se dividieron en 6 lotes. Un lote no inoculado y no tratado (control negativo), cinco lotes que se inocularon con 600 huevos larvados viables de *Toxocara canis*, de los cinco lotes inoculados se dejó evolucionar la infestación por un periodo de 30 días, a un lote no se le dio tratamiento con ivermectina (control positivo) y los cuatro restantes se trataron con tres dosis repetitivas de 200 µg/Kg de ivermectina a intervalos mensuales.

Una vez cumplidos los 30 días posteriores al primer tratamiento se sacrificaron el lote del control negativo, el control positivo y uno de los tres lotes tratados; los lotes que quedaron se sacrificaron a los 90, 120 y 150 días post tratamiento. De cada uno de los animales sacrificados se extrajeron el cerebro, corazón, pulmones, hígado, riñones y músculo esquelético. Cada uno de los órganos se sometieron a digestión artificial para liberar las larvas y cuantificarlas mediante observación microscópica directa del sedimento de cada órgano digerido.

Los resultados obtenidos del conteo se organizaron y analizaron estadísticamente con el método de Análisis de Varianza y la Prueba de Tukey, el porcentaje de eficacia se obtuvo por medio de la ecuación de Wescot, se realizó de manera general y de forma específica para los órganos más representativos (cerebro y músculo esquelético)

Analizando los resultados se determinó una disminución significativa de larvas desde el primer tratamiento de un 30.5% hasta un máximo de 83.4% en el último tratamiento, para los órganos más representativos se encontró desde el primer tratamiento un 28% hasta un 77.3% en el último tratamiento para cerebro y para músculo esquelético se encontró un 30.6% hasta 87.8% en el cuarto tratamiento.

Al comparar los resultados con estudios de los últimos años, la reducción total de larvas del 83.4% queda dentro del rango de efectividad observado hasta el momento.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	I
ÍNDICE GENERAL	II
ÍNDICE DE FIGURAS	V
ÍNDICE DE GRÁFICOS	VI
ÍNDICE DE TABLAS	VII
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. EPIDEMIOLOGÍA	2
1.2. MORFOLOGÍA	4
1.3. CICLO BIOLÓGICO	7
1.3.1. INFECCIÓN VÍA ORAL	7
1.3.2. INFECCIÓN VÍA PRENATAL O INTRAUTERINA	8
1.3.3. INFECCIÓN VÍA LACTOGÉNICA	9
1.3.4. INGESTIÓN DE HOSPEDERO PARATÉNICO	9
1.4. MECANISMOS DE ACCIÓN PATÓGENA	11
1.5. CUADRO CLÍNICO	13
1.5.1. CUADRO CLÍNICO EN HUMANOS	13
1.5.1.1. SÍNDROME DE LARVA MIGRANS VISCERAL	13
1.5.1.2. SÍNDROME DE LARVA MIGRANS OCULAR	18
1.5.1.3. TOXOCARIASIS ENCUBIERTA	19
1.5.1.4. SÍNDROME DE LARVA MIGRANS CEREBRAL	19
1.5.2. CUADRO CLÍNICO EN ANIMALES	19
1.6. DIAGNÓSTICO	21
1.6.1. DIAGNÓSTICO EN HUMANOS	21
1.6.1.1. CLÍNICO	21

1.6.1.2. HISTOPATOLÓGICO	22
1.6.1.3. IMAGENOLOGÍA	22
1.6.1.4. INMUNOLÓGICO	22
1.6.2. DIAGNÓSTICO EN PERROS	23
1.7. TRATAMIENTO	24
1.7.1. COMPUESTOS IMIDAZOTIAZÓLICOS	25
1.7.1.1. LEVAMISOL Y TETRAMISOL	25
1.7.2. TETRAHIDROPIRIDINAS	26
1.7.2.1. MORANTEL Y PIRANTEL	26
1.7.3. COMPUESTOS FENATIAZÍNICOS	27
1.7.3.1. PIPERAZINA	27
1.7.4. COMPUESTOS BENCIMIDAZÓLICOS	27
1.7.4.1. ALBENDAZOL	27
1.7.5. LACTONAS MACROCÍCLICAS	29
1.7.5.1. IVERMECTINA	31
1.8. CONTROL Y PROFILÁXIS	34
2. OBJETIVOS	37
2.1. OBJETIVO GENERAL	37
2.2. OBJETIVOS PARTICULARES	37
2.3. HIPÓTESIS	37
3. MATERIAL Y DISEÑO METODOLÓGICO	38
3.1. MATERIAL Y EQUIPO DE LABORATORIO	38

3.2. REACTIVOS Y SOLUCIONES	39
3.3. MATERIAL BIOLÓGICO	39
3.4. DISEÑO METODOLÓGICO	39
3.4.1. OBTENCIÓN DE LOS HUEVOS	39
3.4.2. MANTENIMIENTO Y DESARROLLO DE LAS LARVAS DE <i>Toxocara Canis</i>	40
3.4.3. DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD DE LOS HUEVOS DE <i>Toxocara Canis</i>	40
3.4.4. INDUCCIÓN DE LA PARASITOSIS	40
3.4.5. LOTES DE RATONES DE EXPERIMENTACIÓN	41
3.4.6. TRATAMIENTO DE LOS ANIMALES	41
3.4.7. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS	42
4. RESULTADOS	43
4.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS	48
5. DISCUSIÓN	54
6. CONCLUSIONES	60
ANEXO 1. PROCEDIMIENTOS ESTADÍSTICOS Y PORCENTAJE DE EFICACIA DE IVERMECTINA	61
7. BIBLIOGRAFÍA	71

INDICE DE FIGURAS

Fig.1. Morfología de la parte anterior de <i>Toxocara canis</i>	4
Fig.2. Macho y hembra de <i>Toxocara canis</i>	5
Fig.3. Huevo larvado de <i>Toxocara canis</i>	5
Fig.4. Morfología de los huevos de <i>Toxocara canis</i>	6
Fig.5. Ciclo biológico de <i>Toxocara canis</i>	10
Fig.6. Estructura química del levamisol	25
Fig.7. Estructuras químicas del pirantel y morantel	26
Fig.8. Estructura química de la piperazina	27
Fig.9. Estructura química del albendazol	27
Fig.10. Estructura química de las moléculas B1a y B1b de la ivermectina	31

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Comparativa de los valores promedio de larvas de <i>Toxocara canis</i> recuperadas en los tejidos de los animales de los diferentes lotes que recibieron tratamiento.	47
Gráfico 2. Comparativa del valor promedio de larvas de <i>Toxocara canis</i> encontradas en cerebro de cada uno de los lotes que recibieron tratamiento.	49
Gráfico 3. Comparativa del valor promedio de larvas de <i>Toxocara canis</i> encontradas en músculo esquelético de cada uno de los lotes que recibieron tratamiento.	51
Gráfica 4. Comparativa del porcentaje de eficacia de eliminación de las larvas de <i>Toxocara canis</i> en los lotes que recibieron tratamiento.	52
Gráfico 5. Comparativa del porcentaje de eficacia de eliminación de larvas de <i>Toxocara canis</i> del cerebro y músculo esquelético.	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Esquema de tratamiento y sacrificio de los diferentes lotes utilizados para evaluar la actividad de la ivermectina suministrada en dosis repetitivas a intervalos mensuales	41
Tabla 2: Número de larvas de <i>Toxocara canis</i> recuperadas de los diferentes tejidos en el lote inoculado y no tratado (Control positivo)	43
Tabla 3: Número de larvas de <i>Toxocara canis</i> recuperadas de los diferentes tejidos en los animales del lote inoculado y con el primer tratamiento.	44
Tabla 4: Número de larvas de <i>Toxocara canis</i> recuperadas en los tejidos de los animales del lote inoculado con dos secuencias de tratamientos de ivermectina.	45
Tabla 5: Número de larvas de <i>Toxocara canis</i> recuperadas en los tejidos de los animales del lote inoculado y tratados con tres secuencias de tratamiento con ivermectina	45
Tabla 6: Número de larvas de <i>Toxocara canis</i> recuperadas en los tejidos de los animales inoculados y sometidos a cuatro secuencias de tratamientos con ivermectina.	46
Tabla 7: Valores promedio de larvas de <i>Toxocara canis</i> recuperadas en los órganos de los animales de todos los grupos de animales experimentales.	47
Tabla 8: Promedio y porcentaje de reducción de larvas de <i>Toxocara canis</i> encontradas en los lotes que recibieron tratamiento.	47
Tabla 9. Tabla de ANOVA aplicada a los valores en cuanto al número de larvas de <i>Toxocara canis</i> recuperadas en los lotes que recibieron tratamiento.	48
Tabla 10. Prueba de Tukey para determinar la diferencia de medias honestas entre los valores obtenidos de la totalidad de los lotes de animales	48

Tabla 11. Promedio y porcentaje de reducción de larvas de <i>Toxocara canis</i> recuperadas de tejido cerebral de los animales en todos los lotes que recibieron tratamiento	49
Tabla 12. Tabla de ANOVA para larvas de <i>Toxocara canis</i> encontradas en cerebro en cada uno de los lotes que recibieron tratamiento.	50
Tabla 13. Prueba de Tukey para el total de larvas de <i>Toxocara canis</i> encontradas en cerebro en todos los lotes que recibieron tratamiento.	50
Tabla 14. Promedio y porcentaje de reducción de larvas de <i>Toxocara canis</i> encontradas en músculo esquelético en todos los lotes que recibieron tratamiento.	50
Tabla 15. Tabla de ANOVA para larvas de <i>Toxocara canis</i> encontradas en músculo esquelético en cada uno de los lotes que recibieron tratamiento	51
Tabla 16. Prueba de Tukey para el total de larvas de <i>Toxocara canis</i> encontradas en músculo esquelético en todos los lotes que recibieron tratamiento.	52
Tabla 17. Tabla comparativa del porcentaje de eficacia de la eliminación de larvas de <i>Toxocara canis</i> en cada uno de los tratamientos.	52
Tabla 18. Tabla comparativa del porcentaje de la eficacia de la eliminación de larvas de <i>Toxocara canis</i> en cerebro y músculo esquelético en cada uno de los tratamientos.	53

1. INTRODUCCIÓN:

La toxocariasis es una infección zoonótica cosmopolita causada por el nematodo parásito *Toxocara canis*, normalmente está presente en el intestino de los perros jóvenes, éste parásito es específico de los caninos, cuando el hombre ingiere sus huevos se produce el síndrome de larva migrans visceral, ocular, cerebral o toxocariasis encubierta. El humano se desempeña como hospedero paraténico, en él las larvas del nematodo no maduran hasta alcanzar la fase adulta, sino que migran por diversos tejidos hasta asentarse en la musculatura esquelética y el cerebro provocando inflamación eosinofílica.^(18,19,34,53,54)

Toxocara es un género de ascárido relativamente grande, que en su fase adulta habita el intestino delgado de perros domésticos jóvenes y de algunos cánidos salvajes como: coyotes, lobos, chacales, además de otros considerados hospederos paraténicos como: bovinos, ovinos, cerdos, pollo, ratas, ratones, cuyos y humanos.^(11,14,23,24)

La toxocariasis es un problema de salud pública, debido a que el parásito está distribuido en zonas tropicales y templadas de todo el mundo y la estrecha relación del perro con el humano lo convierte en un foco importante de infección.^(10,13,15)

La falta de integración entre manejo animal, tratamiento y el incorrecto uso de los fármacos antihelmínticos debido al desconocimiento de sus propiedades farmacológicas y de los factores que alteran las mismas, son elementos determinantes para producir un fallo en el control antiparasitario.^(35,62)

A raíz de esto, se ha generado en la última década una enorme cantidad de estudios farmacológicos de las moléculas ya existentes, buscando optimizar la terapia antihelmíntica y fundamentalmente resolver los problemas de desarrollo de resistencia por parte de los helmintos a estos compuestos químicos. Considerando que no son muchos los grupos químicos disponibles en el mercado farmacéutico que actúan sobre los nematodos que se localizan en el tracto gastrointestinal y a nivel extraintestinal de las diferentes especies de animales domésticos.^(7,35,56,62) Por ello en este estudio se evaluará el efecto de la ivermectina la cual es una lactona macrocíclica de mayor difusión y utilización en las diferentes especies de animales en el mundo; por lo tanto, debido a su elevada potencia farmacológica con dosificación del orden de $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso y por su amplio espectro de actividad.^(27,35,44)

1.1 EPIDEMIOLOGÍA

Toxocara canis, es un parásito cosmopolita de caninos con una alta incidencia, patogenicidad e importancia como problema de salud pública, éste parásito es el principal agente causal de la toxocariasis humana, el cual constituye un serio problema epidemiológico en muchos países. Esta zoonosis es debida a la ingesta accidental de huevos larvados de *Toxocara canis* que son contaminantes frecuentes de la tierra así como en los alimentos. La asociación estrecha debida a la convivencia del hombre con el perro acarrea una gran contaminación con los huevos de este nematodo en parques, campos de juego, jardines así como en el interior de los hogares.^(10,11,12,13,14,15)

La prevalencia de *Toxocara canis* en los perros es muy alta debido a la gran eficacia de éste nematodo en su transmisión prenatal, generando que la mayoría de los cachorros recién nacidos sean infectados por *Toxocara canis*. Las larvas somáticas presentes en el cuerpo de las perras constituye el principal factor de infección.^(16,17,18,19)

También debe considerarse que las hembras de *Toxocara canis* son muy prolíficas, ya que pueden liberar hasta 200,000 huevos por día, de modo que en las heces de los cachorros son habituales la eliminación de varios miles de huevos por gramo, los cuales son resistentes a las condiciones adversas del medio ambiente, siempre y cuando exista humedad. La evolución del huevo para desarrollar la segunda larva depende además de adecuada temperatura y oxígeno, los cuales resisten bien muchos desinfectantes de uso común.^(14,17,21,22,23,50)

Los perros mayores de 6 meses suelen tener menos gusanos adultos en el intestino que los cachorros, en los que son muy frecuentes, en cambio ellos presentan fases larvares enquistadas en su cuerpo. Se desconoce el factor que en relación con la edad tiene la migración larvaria. Es necesario que se inicie la gestación para que las larvas tisulares pasen la barrera placentaria y se instalen en el hígado y pulmón del feto para llegar al estado adulto en el cachorro. Lo mismo ocurre durante la lactación que favorece la migración larvaria, por lo que se considera que hay influencia hormonal.^(14,23)

En un estudio en Italia analizando hábitos de defecación de los perros se determinó que los sitios potencialmente contaminados incluyen: los jardines, jaulas, patios de recreo, algunos de estos ambientes son sitios importantes de defecación en áreas rurales así como en áreas urbanas. Considerando el hecho de que el 40% de los perros que defecaban dentro de su jaula estaban infectados y que el 24% de los callejeros y

el 47% de los domésticos defecaban cerca de la casa del propietario queda claro que estos entornos constituyen áreas de alto riesgo de contagio.⁽²⁴⁾

Las causas más importantes que influyen en la elevada incidencia de esta enfermedad incluyen las condiciones medio ambientales, así como el elevado potencial biótico de *Toxocara canis* y los hábitos de defecación de perros.^(11,14,17,57,59)

Generalmente, la toxocariasis humana se asocia a la ingestión de tierra contaminada con huevos en los patios de recreo. Sin embargo, una preferencia cultural dietética por comer carne cruda o poco cocida puede reforzar el riesgo de infección, por ejemplo en animales que actúan como hospederos paraténicos, es de subrayar el riesgo zoonótico del cerdo, bovinos, ovinos, pollos, o aves de corral cuando los humanos los consumen crudos o poco cocidos, ya que las larvas en carne fresca tienen potencial de infectividad, incluso después de refrigerarse por una semana cuando estos tejidos son ingeridos por otros hospederos paraténicos.^(14,17,59,60)

La geofagia o pica es un antecedente común en casos de toxocariasis por lo que se considera un factor de riesgo importante para la infección. El riesgo de infección humana es mayor en niños por su estrecho contacto con perros, ya que el pelo del perro es una fuente potencial de infección, así como su estancia en jardines de recreo y parques facilitando la ingestión de los huevos del parásito.^(25,28,38,42,46,57,60,61)

Entre los factores más importantes que contribuyen a la prevalencia de la toxocariasis en el humano se encuentran: la sobrepoblación sin control sanitario de perros, la falta de responsabilidad en el cuidado de las mascotas por parte de sus dueños y la escasa información a la comunidad acerca del riesgo que representa tener un perro parasitado con *Toxocara canis* en la casa y conviviendo con niños.^(11,17,23,42,43,57,59)

1.2 MORFOLOGÍA

Estos nematodos son relativamente grandes, blanquecinos y presentan un sistema de crestas y nervaduras consistente en estrías transversales irregulares. En su extremo anterior poseen una boca que se cierra en tres grandes labios y un bulbo esofágico glandular localizado en la unión entre el esófago y el intestino, los labios tienen carnosidades que forman dos claros separados por un profundo seno y un lóbulo intermedio simple. Se encuentran a veces presentes finas crestas dentígeras. No hay interlabios, pero si existen alas cervicales que miden 2.5 x 0.2 mm y tienen forma de punta de lanza.^(10,11,12,16,33,40,45,66)

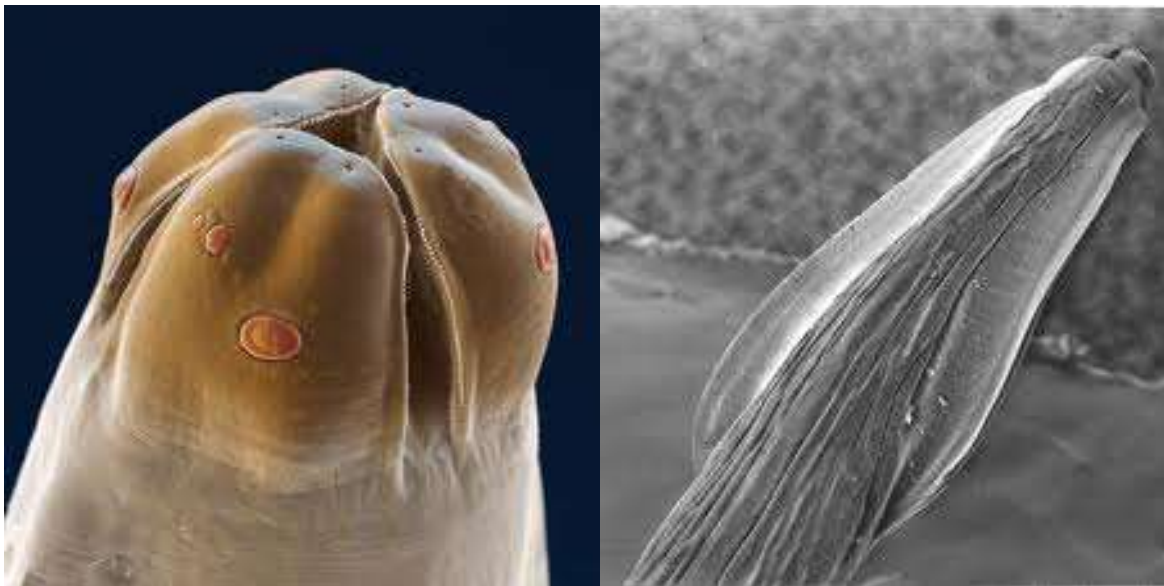


Fig.1. www.viva.vita.bayerhealthcare.de

www.users.unimi.it

Fig.1. Morfología de la parte anterior de *Toxocara canis*.

Del lado izquierdo se observa por microscopía electrónica de barrido el detalle de los labios y orificio oral, en la imagen del lado derecho se observan las aletas cervicales características de forma lanceolada en este nematodo. Los machos miden de 4-10 cm x 2-3 mm de diámetro además tiene lóbulos laterales que se contraen anteriormente, terminando en una proyección digitiforme cuyo extremo está incurvado, poseen papilas preanales y postanales con espículas y no existe gubernáculo. Las hembras miden de 5-18 cm, la vulva se encuentra en la cuarta parte anterior del cuerpo desde su extremo anterior.^(10,11,12,16,33,40,45,66)

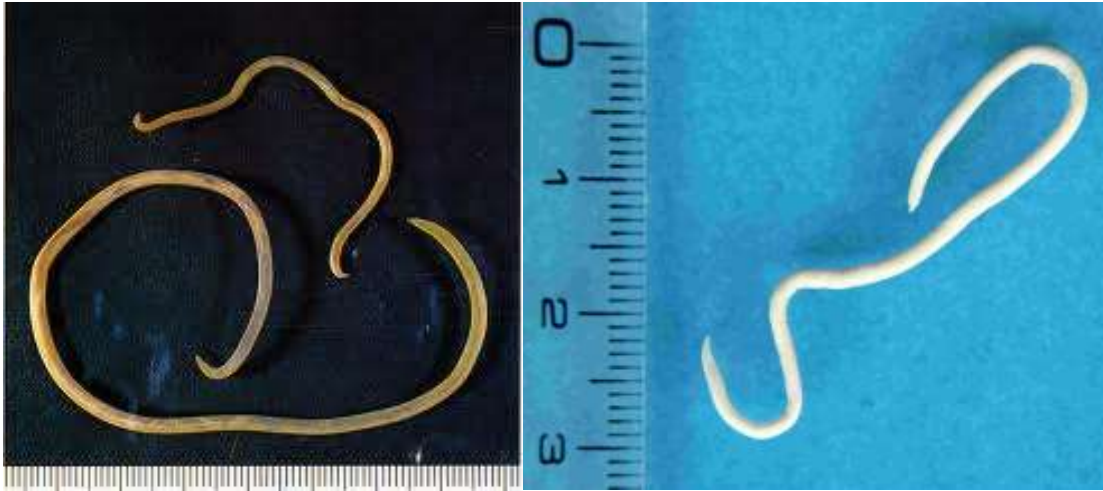


Fig.2. www.uco.es

www.lookfordiagnosis.com

Fig.2. Macho y hembra de *Toxocara canis*, en la imagen de la izquierda se observa un macho en la parte superior con el extremo posterior presentando su curvatura característica y una hembra en la inferior, obsérvese la mayor dimensión de la hembra con respecto al macho.

Las larvas de *Toxocara canis* miden aproximadamente 0.4 μm de longitud por 0.018 μm de diámetro. En el medio externo se encuentran en el interior del huevo. ^(10,11,45)



Fig.3. <http://sobretumascota.blogspot.com/2010/10/toxocara-canis.html>

Fig.3. En ésta figura se logra observar en el lado derecho un huevo larvado de *Toxocara canis* y en el izquierdo otro en el que se ha producido la segmentación y proliferación de los blastómeros en el interior del huevo.

Los huevos son redondeados u ovales de 75-90 μm y éstos presentan cubierta rugosa de membrana delgada, presentan una masa protoplasmática cuando son eliminados en las heces y están bordeados por tres capas (albuminosa, quitinosa y la interior que es una capa lipídica) que hacen que los huevos sean muy resistentes a los efectos ambientales. Son de color marrón oscuro, no segmentado y la masa protoplasmática ocupa prácticamente todo el espacio interior.^(11,48)

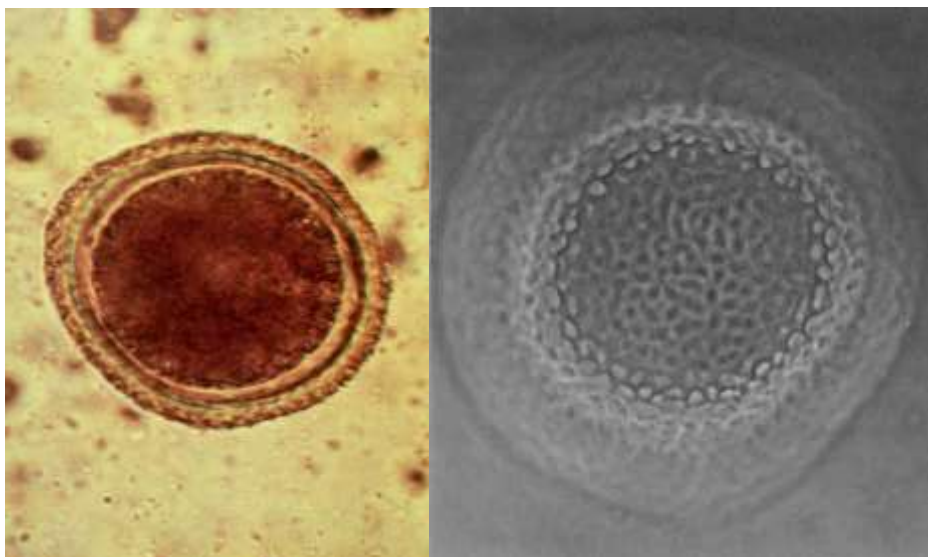


Fig.4 . www.journals.tums.ac.ir

<http://www.antropozoonosi.it>

Fig.4. Morfología de los huevos de *Toxocara canis* a la izquierda se observa un huevo no embrionado en el que se puede apreciar las capas que componen la cubierta, en la imagen derecha se aprecia la cubierta externa gruesa y rugosa del huevo (40X).

1.3 CICLO BIOLÓGICO

El ciclo de vida básico de *Toxocara canis*, es más complejo que el de otros nematodos y además presenta una serie de variantes en la transmisión que dependen del hospedero y su edad y corresponden a las siguientes variantes:

1. Oral por la ingestión de los huevos infectantes conteniendo larvas.
2. Prenatal, intrauterina o transplacentaria, que es la forma más frecuente de infección en los perros.
3. Transmamaria o lactogénica (a través de la leche desde el día 1 hasta las 5 semanas *post partum*)
4. Ingestión de los hospederos paraténicos.^(10,11,23,28)

1.3.1. Infección vía oral

En el caso de perros jóvenes los huevos de *Toxocara canis* liberados en las heces se dispersan en condiciones óptimas de temperatura, humedad y oxígeno donde se desarrolla la segunda larva dentro del huevo; de 3.5 a 5 días a 30 °C o de 9 a 11 días a 24 °C, o bien a 37 °C mueren antes de llegar al estado infestante. Los perros se infestan por ingestión de huevos con la segunda larva; ésta eclosiona en el intestino y penetra en la pared intestinal; la subsecuente migración está determinada por edad, sexo, estado reproductivo e infestaciones previas.^(11,37)

En los cachorros de menos de 3 meses de edad la mayor parte de las larvas penetran en los vasos linfáticos, pasan a los ganglios linfáticos y de ahí van al hígado por el sistema portal hepático. En él crecen ligeramente, pero no mudan. Después pasan al corazón por la vena hepática o por la vena cava y de ahí a los pulmones a través de la arteria pulmonar. En éste órgano crecen considerablemente y más tarde pasan a través de los bronquiolos a la tráquea y faringe siendo deglutidas, llegando al estómago hacia el décimo día. Mudan al tercer estadio en los pulmones, en la tráquea o esófago. La muda al cuarto estadio larvario tiene lugar en el estómago, algunos días después y se dirigen luego al intestino delgado, en el que mudan al estadio adulto a los 9-27 días después de la ingestión, posteriormente copulan y los huevos aparecen en las heces 4 a 5 semanas después de la infestación. Algunas larvas cuando están en pulmón regresan al corazón por la vena pulmonar y luego son distribuidas por la sangre en varios tejidos en donde permanecen en estado latente.^(11,13,14,23)

El comportamiento es bastante diferente en los perros de 6 meses o mayor edad. Pocas larvas relativamente pasan desde los pulmones a la tráquea, la mayoría de ellas entran en la vena pulmonar y de aquí por el corazón y la circulación general, llegando a los tejidos somáticos. En ellos pueden permanecer, sin desarrollarse durante toda la vida del animal. En los perros adultos la mayoría de las larvas no llegan al intestino.^(11,13)

1.3.2. Infección vía prenatal o intrauterina.

Cuando una perra infestada con las larvas tisulares inicia un periodo de gestación son activadas por hormonas (progesterona) que se generan durante la preñez, las larvas emigran hacia la placenta llegando al feto por la arteria umbilical, y se produce una infestación fetal.⁽¹⁴⁾

Las larvas dos (L₂) que infectan a la perra gestante abandonan los órganos aproximadamente a los 42 días de gestación y emigran a los pulmones de los fetos, donde justo antes del parto mudan a L₃ por lo que nacen con la L₃ en los pulmones. Al primer día de nacidos de cachorros, las L₃ que los parasitan emigran hasta el estómago. Las últimas mudas se llevan a cabo en el aparato digestivo. Seis días después del parto las larvas ya se encuentran en su cuarta fase larvaria. Los cachorros infectados por vía transplacentaria después de 2 o 3 semanas del nacimiento eliminan huevos del parásito en las heces. Por otra parte, si la perra no ha tenido ninguna infestación y esta ocurre durante la gestación, las larvas emigran al feto, pero llegan al intestino de la perra para alcanzar la madurez sexual, y producir huevos. Como se puede apreciar, hay cierta similitud con el ciclo de vida básico, ya que las mudas ocurren en los mismos sitios. La diferencia está en que el proceso se realiza en el feto y el recién nacido y que la madre es la fuente principal de infección.

Las L₂ se acumulan sobre todo en tejido muscular de la perra durante la vida, y no todas las larvas se liberan en la preñez, por lo que es factible que la infección se presente en las camadas subsecuentes aún después de haber aislado a la hembra.^(10,14,23)

La dirección tomada en el alveolo es crucial para determinar si la larva seguirá una migración traqueal y alcanzar la madurez sexual, o una migración somática para quedarse como larva infectante o latente. La probabilidad de la migración traqueal es muy alta en los cachorros recién nacidos. Sin embargo, cuando el cachorro alcanza la edad de uno o dos meses, la probabilidad de que una larva de *Toxocara canis* eclosione en ese momento y alcance la fase adulta ha descendido a un nivel muy bajo, y se mantiene así indefinidamente. Durante el mismo periodo de la vida del cachorro,

la probabilidad de que se produzca una migración somática aumenta progresivamente, acumulándose las larvas latentes infectantes en los tejidos.

Las migraciones somáticas también explican la acumulación de larvas infectantes latentes de *Toxocara canis* en los tejidos de un amplio abanico de hospedadores intermediarios paraténicos como roedores, ovejas, cerdos, monos, humanos.^(12,14)

1.3.3. Infección vía lactogénica

El mecanismo de infección más frecuente es el prenatal, aunque también hay la posibilidad de contagio a través de la leche materna. Las larvas que se encuentran en reposo en los tejidos cercanos a la glándula mamaria se movilizan durante la lactancia y los cachorros las ingieren al momento de lactar.^(10,11)

La eliminación de larvas en leche, que inicia inmediatamente después del parto, alcanza el máximo en la segunda semana y luego decrece paulatinamente. Este modo de infección no conlleva migración intraorgánica, pues las larvas se desarrollan directamente hasta adultos en el intestino.^(11,58,61)

Las perras que se re infectan en la última fase de la gestación o de lactación, contribuyen directamente a la infección de los cachorros lactantes y con ello, tras un periodo de prepatencia de 4 a 5 semanas, contaminan el medio. La larva pasa a los cachorros transplacentaria (98%) o neonatalmente en la leche (1.5%).^(23,58)

1.3.4. Ingestión de hospederos paraténicos.

En el ciclo de *Toxocara canis* puede intervenir algún hospedero paraténico, como un roedor o un pájaro. Estos animales ingieren los huevos y albergan larvas en sus tejidos a las L₂ hasta que son ingeridos por un perro. Si algún animal depredador ingiere a estos hospederos paraténicos, se convierte en un hospedero paraténico secundario. Las larvas emigran de su intestino hasta los tejidos periféricos y ahí reposan hasta que un perro ingiere este animal.^(23,58,61)

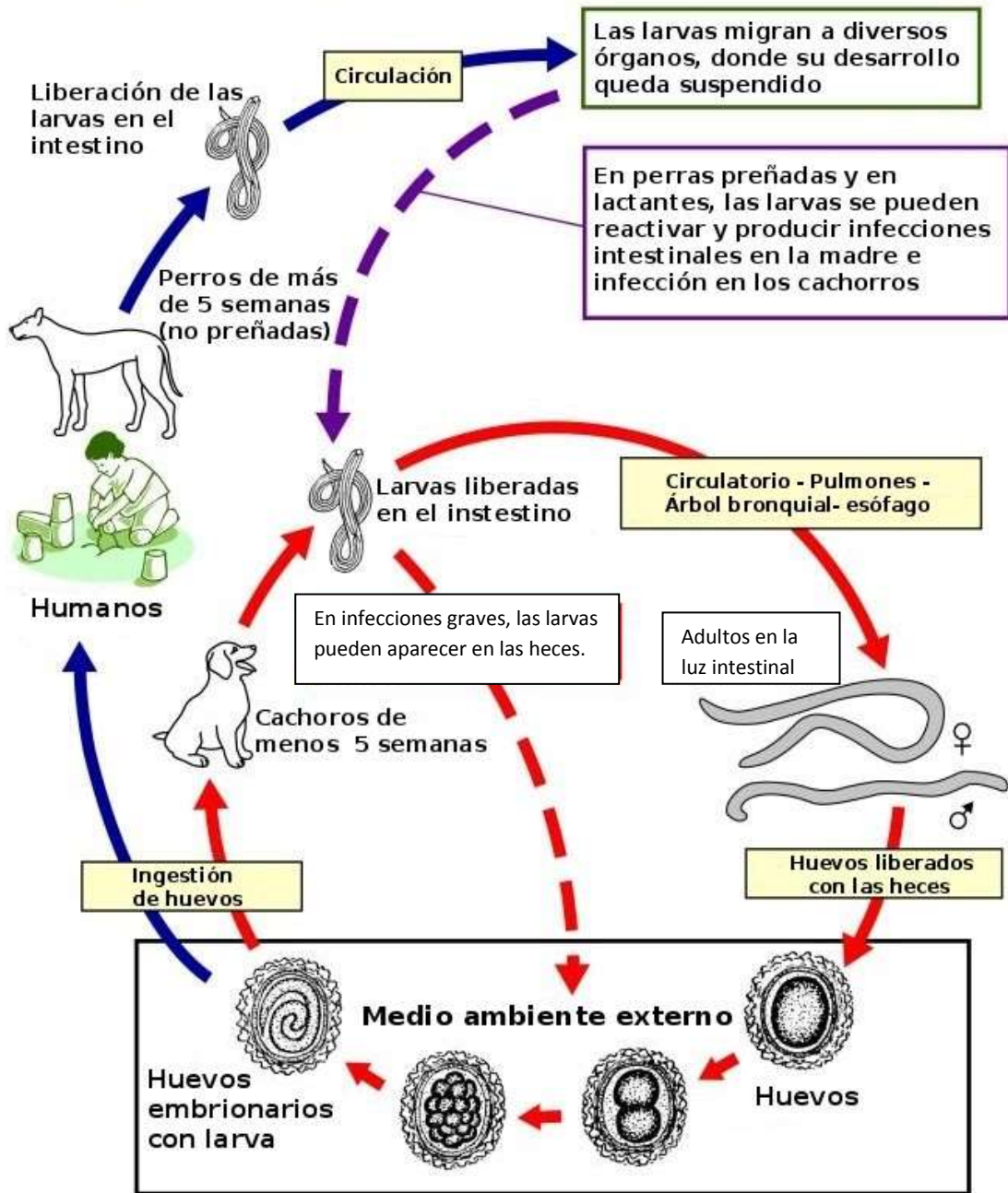


Fig.5. <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/larva-migrans-visceral.html>

Fig.5. En el esquema se puede apreciar el ciclo biológico de *Toxocara canis*

1.4. MECANISMOS DE ACCIÓN PATÓGENA.

El daño generado está en relación por una parte con la migración larvaria que realizan por los diferentes tejidos y por otra parte debido a sus necesidades metabólicas.⁽¹⁴⁾

La migración que realizan las larvas de estos ascáridos en los cachorros corresponde a la gastro-entero-hepato-cardio-pulmonar que ocurre en el caso de *Toxocara canis* en reinfestaciones y animales adultos.⁽¹⁴⁾

En la migración las L₂ ejercen acción traumática al pasar por diferentes tejidos como: pared intestinal, parénquima hepático y pulmonar, ruptura de capilares, alvéolos que destruyen y digieren las diversas capas de esas estructuras causando hemorragias y una severa respuesta inflamatoria que facilita la reparación posterior de estas lesiones. En forma paralela ejercen acción hematófaga e histófaga y de líquidos tisulares. Concomitante a esta ocurre la acción mecánica por obstrucción, que dependiendo de la cantidad a nivel pulmonar y hepática puede ser manifiesto. La eliminación de mudas, de líquido de mudas, secreciones y excreciones, ejerce acción antigénica que puede, por una parte, causar una respuesta inmune positiva y por otra ocasionar efectos anafilácticos y alérgicos. Las larvas de *Toxocara canis* en la placenta y en feto a nivel hígado, pulmón y cerebro ejercen acciones mecánicas, traumática, tóxica y antigénica.^(11,14)

En infecciones débiles, las migraciones larvarias no ocasionan daños importantes en los órganos y tampoco los adultos en el intestino. Por lo contrario, en infecciones intensas, el paso de las larvas por los pulmones se relaciona con neumonía y en ocasiones con edema o exceso de exudado pulmonar. En cachorros con infección prenatal intensa, la acción de las larvas de *Toxocara canis* a su paso por el hígado y los pulmones puede provocar la muerte, que suele presentarse 1-3 semanas después.^(14,45,63)

El daño ocasionado al intestino delgado por las formas juveniles y los adultos de *Toxocara canis* es similar. Ejercen una acción mecánica por obstrucción, que dependiendo de la cantidad, interfiere notablemente con el paso de los alimentos, alterando la digestión y absorción. Las formas juveniles y los adultos en el intestino causan enteritis catarral, algunas veces con perforación intestinal y peritonitis, sobre todo en cachorros. Otras veces invaden el conducto colédoco y canales biliares, asociándose a las lesiones hepáticas derivadas del desplazamiento de las larvas con destrucción de tejido y digestión del mismo produciendo severas hemorragias tanto en el parénquima como en la cápsula de la víscera, esta va seguida de una respuesta inflamatoria que rodea las zonas lesionadas y se caracteriza por mantenerse durante

largo tiempo después de que los organismos han desaparecido, lo cual se traduce en que las zonas lesionadas pierden por un lapso muy prolongado su capacidad para participar en los procesos metabólicos propios, provocando por una parte mala digestión debido a la deficiente cantidad de bilis que pasa al intestino y por otra, congestión biliar a nivel hepático, pudiendo resultar esto de importancia cuando se trata de animales jóvenes, por fortuna esta víscera tiene un gran potencial para repararse y finalmente regenerar las zonas lesionadas, la siguiente fase está relacionada con el daño a nivel pulmonar el cual se da a nivel del parénquima y se relaciona con la destrucción del tejido y su literal destrucción por productos de excreción de larvas, lo cual se asocia con el desarrollo de severas hemorragias, la aparición de una respuesta inflamatoria en la que se desarrolla una reacción granulomatosa que también se mantiene por largo tiempo y que afecta notablemente la capacidad respiratoria.^(14,40,45,63)

Dejan atrás a los pasajes respiratorios en donde generan reacciones a cuerpo extraño de forma temporal para ser expelidas hacia el tubo digestivo en donde se comportan como organismos quimófgos, se alimentan principalmente de contenido intestinal; sin embargo, esta acción es selectiva, utilizando grandes cantidades de vitaminas y nutrimentos de naturaleza proteica, lípidos y carbohidratos, además de otros elementos. Esta acción es una competencia por los elementos nutritivos del hospedero, que se traduce en desnutrición, que guarda una relación proporcional con la cantidad de gusanos por lo cual el impacto es variable, siendo poco perceptible cuando se trata de pequeñas cantidades de gusanos adultos y muy ostensible en caso de parasitosis masivas debido al grave detrimento en nutrientes que lleva a la caquexia del animal, además de que esto se complementa con el volumen ocupado por los organismos y la respuesta hipertrófica de la musculatura lisa del intestino provoca también aumento del volumen abdominal, en casos extremos de desnutrición esta puede llevar a la utilización de componentes estructurales (proteína de músculo) que serán invertidos en el metabolismo. La interacción física con los gusanos provoca también alteraciones en la mucosa intestinal y además disminuye la dimensión de las vellosidades, la acción irritativa que provocan estos ascáridos sobre la pared intestinal interfiere también con una adecuada digestión. Por otra parte, algunos productos de secreción y excreción alteran el contenido intestinal, provocando problemas de intoxicación al ser absorbidos.^(11,14,40,45,50,63)

Eventualmente los parásitos se desplazan al estómago y causan el reflejo emético siendo expulsados espontáneamente por los animales y en el mismo sentido puede haber suficiente estímulo a nivel intestinal para provocar un aumento de motilidad que permite su expulsión. También de forma esporádica se producen obstrucciones

intestinales y migraciones erráticas de consecuencias fatales. La presencia de los gusanos adultos ocurre durante algunos meses y al paso del tiempo se da su expulsión desapareciendo la infestación del animal.^(11,14,40,63)

1.5. CUADRO CLÍNICO

1.5.1. Cuadro clínico en humanos

La toxocariasis es probablemente la zoonosis producida por nematodos más propagada mundialmente. Aunque *Toxocara canis* es un parásito específico de los caninos, cuando el hombre ingiere sus huevos, la ubicación de los mismos y la respuesta inmune del hospedero son factores que determinan la migración larvaria y por lo tanto determinarán el tipo de síndrome que ocurra: síndrome de larva migrans visceral (SLMV), síndrome de larva migrans ocular u oftálmica (SLMO), síndrome de larva migrans cerebral (SLMC) o la toxocariasis encubierta (TE).^(25,34,40,63)

1.5.1.1. Síndrome Larva Migrans Visceral

En 1872 Werner describe morfológicamente por primera vez a *Toxocara canis*, posteriormente varios investigadores hacen aportaciones en los aspectos clínicos y patológicos sobre el SLMV entre ellos destaca Wildert que en 1950, describe un caso de SLMO.

La amplia distribución de las heces de perro y la prevalencia de los huevos de *Toxocara canis* en su interior condujeron a Fülleborn (1928) a preguntarse por el significado patológico en el hombre de los granulomas que contenían larvas de este parásito. Estos granulomas aparecían principalmente en el hígado, pulmones, riñones y cerebro. Beaver *et al* (1984) identificaron el papel etiológico común de las larvas de *Toxocara canis* entre SLMV y SLMO, siendo estas reconocidas como entidades definidas en casos de eosinofilia sostenida, neumonitis y hepatomegalia en un niño de tres años, y denominaron a este cuadro larva migrans visceral.^(16,18,24,25,28,50)

El SLMV es un síndrome resultado de la migración prolongada de la larva del nematodo a través de órganos internos en el hospedero. La típica situación epidemiológica consiste en un niño que gatea y come tierra contaminada con huevos infectados de *Toxocara canis*. Este tipo de suelo puede encontrarse con facilidad donde los perros suelen defecar y a una concentración especialmente elevada en los nidos de las perras con gran instinto maternal y sus camadas. El suelo de los parques públicos de las ciudades suelen estar intensamente contaminados con huevos infectantes de *Toxocara canis*.^(12,16,25,50)

La infección por *Toxocara canis* ocurre, desde luego, por la ingestión de la L₂, y el estado hepático por larva migratoria visceral se observa principalmente en niños, en especial en los menores de cuatro años. Esta frecuencia de edad no se basa en la resistencia a la infección por parte del niño, sino simplemente en el hecho epidemiológico de que los niños y los cachorros tienden a tener contacto muy cercano, estando los cachorros dentro del grupo de edad más susceptible para los perros. Los niños que sufren de pica son más susceptibles de infectarse y en general los de las comunidades más pobres, que juegan en suelos contaminados con excremento e incluso compartiendo dormitorio con los cachorros, son los que tienen el riesgo más elevado. Sin embargo, aún en las mejores comunidades los hábitos antihigiénicos naturales tanto de los niños como de los cachorros, brindan oportunidades para la infección.^(10,25,28)

Cuando los humanos ingieren los huevos de *Toxocara canis* eclosionan las larvas contenidas en estos en el intestino humano, penetran en la pared intestinal y son llevados por el torrente circulatorio hacia las vísceras. El hígado y los pulmones son los que se afectan con mayor frecuencia y en menor escala riñones, corazón, bazo, cerebro, ojos y otros tejidos. Los hallazgos clínicos y su intensidad dependen de la invasión tisular, número de larvas, grado de sensibilización del hospedero y frecuencia de las reinfecciones. Las manifestaciones clínicas y patológicas de los casos viscerales se deben a la lesión del tejido en forma mecánica durante la migración, además de la respuesta inflamatoria del hospedero y sus productos. En un inicio la respuesta inflamatoria alrededor de la larva es mínima. En el hígado, la invasión larvaria causa una reacción del hospedero con la formación de granulomas. Hay eosinofilia y hepatomegalia. La hiperglobulinemia parece ser una condición característica del padecimiento, y la toxocariasis puede confundirse con una infección por *Ascaris lumbricoides*, que también es una causa de este síndrome en el sujeto sensibilizado. La hiperglobulinemia desaparece cuando termina la fase de hepatomegalia aguda y por lo regular hay recuperación clínica completa cuando el hospedero se ha acostumbrado a la presencia de larvas en su hígado, seguida por encapsulación fibrosa y en ocasiones calcificación. Los signos, además de la eosinofilia y la hepatomegalia palpable simplemente incluyen dolor abdominal difuso con fiebre ligera que puede ser ondulante. Puede haber alguna demostración de neumonitis. El estado tiende a la cronicidad y puede continuar por un año o más después de la desaparición de los primeros signos agudos. El daño miocárdico se ha relacionado con insuficiencia cardíaca.^(50,66)

Cuando las larvas alcanzan la circulación general, pueden dirigirse a los riñones, en donde jamás son detectadas en vida, o al sistema nervioso central donde se les

encuentra ocasionalmente como dato de autopsia en caso de encefalopatía o al ojo y de hecho en cualquier órgano.^(10,66)

Los productos derivados del metabolismo de los nematodos inhiben la síntesis de hormonas en el tejido glandular de paratiroides y pueden producir raquitismo.

En infestaciones importantes con *Toxocara canis* los pacientes casi siempre se asocian con la presencia de tos, sibilancias, síntomas respiratorios (principalmente broncoespasmos, asma), estertores, febrículas, anorexia, mal estado general, irritabilidad, dolor muscular, artritis, palidez, eosinofilia (algunas veces cerca del 70%), frecuentemente se produce incremento de los niveles de IgE en el suero. El esputo es escaso y contiene eosinófilos, puede tener estrías de sangre pero está libre de larvas. Los hallazgos físicos incluyen hepatomegalia, esplenomegalia y linfadenopatía. Se han descrito erupciones cutáneas nodulares y urticaria. La fase aguda puede durar de dos a tres semanas, pero la resolución de todos los hallazgos clínicos y de la eosinofilia pueden llevar hasta 18 meses.^(16,18,24,29)

Las larvas no migran continuamente y durante los periodos de movimiento reducido son el foco de una respuesta de tipo inflamatorio que favorece la formación de un granuloma eosinofílico alrededor de la misma que queda inmobilizada, siendo de esta manera, destruida. En ocasiones, es capaz de moverse fuera del foco inflamatorio, evadiendo la respuesta inmune del hospedador, logrando sobrevivir durante períodos prolongados.^(24,28,29,50)

La capacidad de sobrevivir de las larvas de *Toxocara canis* en los tejidos del hospedero, pese a las reacciones generadas por él mismo, es un factor importante en su proceso de adaptación a sus hospederos.

Se ha encontrado que las larvas son capaces de secretar y excretar una serie de macromoléculas de naturaleza glucoprotéica, que son reconocidas como antígenos secretores-excretos (TES), que varían de acuerdo a condiciones fisiológicas del nematodo y forman parte de la envoltura externa del mismo.^(67,68)

La cutícula de las larvas está cubierta por un glicocalix rico en carbohidratos, que forma una envoltura aniónica vellosa de aproximadamente 10 mm de espesor y está delimitada por la epicutícula. La superficie de la cutícula tiene un papel importante como mecanismo de evasión ya que se desprende cuando interactúa con granulocitos o anticuerpos.

Los TES son producidos por glándulas esofágicas que se abren en la luz del esófago y vierten su contenido por la boca, emitiendo además ramificaciones caudales que se

abren en el poro excretor y que producen una barrera protectora sobre el cuerpo del nematodo que los aísla del hospedero. Los TES se desprenden y recambian; cada larva produce hasta el uno por ciento de su peso en antígenos por día^(67,69,70).

Los TES son los responsables de la inducción de la respuesta inmune. La gran densidad de eosinófilos en la respuesta inflamatoria asociada con el parásito es relevante en la evolución del proceso patogénico, ya que a la luz de los nuevos conocimientos se ha demostrado que la respuesta inmune contra *Toxocara canis* es mediada por los linfocitos T CD4+ tipo 2 (Th2), con un papel muy importante para las citocinas producidas por esas células (IL4, IL5, IL6, IL10 e IL3), que trabajan en conjunto para generar una respuesta inflamatoria efectiva para contrarrestar la presencia de algunos nematodos, éstos productos ayudan a la producción de anticuerpos y tienen actividad represora, aunque hay evidencia de que las respuestas mediadas por linfocitos T1 CD4 (Th1), pueden ser reguladas de forma cruzada por las citosinas, producidas por las células Th2.⁽⁶⁷⁾

La IL4 induce una respuesta policlonal por IgE e IgG, asociada con los linfocitos B y contribuye a la estimulación de una mastocitosis, que se asocia con la respuesta inflamatoria al producirse la degranulación de esas células, además induce a los macrófagos a producir la IL-1 que estimula linfocitos B, pero colateralmente deprime a las células Th1, todo esto con el fin de producir grandes cantidades de anticuerpos no específicos que puedan cubrir los determinantes antigénicos en los parásitos y prevenir la operación de los mecanismos efectores, como los anticuerpos específicos y la inmunidad mediada por células; además se ha visto una interrelación entre IL-4 y el interferón gama (INFg).⁽⁶⁷⁾

Las células Th2, producen también IL-6 que se asocia con la respuesta de fase aguda y contribuye al incremento policlonal en gammaglobulinas por inducción, de diferenciación de células B a células plasmáticas.

Los TES también inducen la producción de IL-5, la cual es una poderosa inductora de eosinofilia tanto a nivel local como a nivel sanguíneo. La eosinofilia se induce con apenas una pequeña cantidad de larvas y son los TES los responsables de esto porque producen adherencia en la superficie de las larvas de los eosinófilos. La IL-5 también es un factor quimiotáctico de las células de proliferación que promueve su diferenciación, degranulación, producción elevada de superóxidos y citotoxicidad dependiente de anticuerpos y además, prolonga su supervivencia, requiriéndose muy pequeñas cantidades de esta citosina para inducir la eosinofilia.⁽⁶⁷⁾

Los linfocitos dobles negativos CD4- y CD8- también pueden producir IL-5 y están distribuidos en piel, timo, intestino delgado, hígado, médula ósea y pulmón, que son los responsables de amplificar el estímulo eosinopoyético, así como se ha encontrado que los eosinófilos cuentan con un IL-5 α , lo cual les permite producir esta citocina y desarrollar un sistema de autorregulación una vez que han sido estimulados.

La eosinofilia, ocurre primariamente en el hígado, presentándose una gran concentración de estas células en las zonas de migración de las larvas. A nivel pulmonar, se ha observado que los eosinófilos presentan receptores de IgE, pero no son eficientes para matar a las larvas por un mecanismo dependiente de IgE⁽⁶⁷⁾

Los eosinófilos no pueden atravesar el endotelio vascular armados con antígenos monoméricos específicos, y para que ocurra la interacción el eosinófilo deberá contactar con una superficie cubierta de anticuerpos del isotipo adecuado, que se encuentra en la superficie de los gusanos, para desarrollar una citotoxicidad celular o degranulación específica de antígeno, fenómeno que no se observa incluso en otros tejidos o no resulta eficiente por el esquema de comportamiento de los TES.⁽⁶⁷⁾

Los eosinófilos son células con diferenciación terminal; son la mayor fuente de las cuatro distintas proteínas catiónicas, la neurotoxina derivada del eosinófilo, la proteína catiónica eosinofílica, la peroxidasa eosinofílica y la proteína básica mayor, que juegan el papel de defensa del hospedero contra helmintos, en condiciones normales tienen un receptor de baja afinidad para IgE, ya activados expresan uno de alta afinidad para IgE, asociado con la defensa contra parásitos⁽⁶⁷⁾

Por medio de sus receptores de IgE, los eosinófilos se unen a parásitos opsonizados por IgE, produciendo la activación y liberando los mediadores tóxicos como la peroxidasa eosinofílica y la proteína mayor del eosinófilo, así como incremento de oxígeno tóxico y leucotrienos para crear citocinas, como el factor de crecimiento tumoral beta TGF β , la cual promueve la producción de colágena y el desarrollo de fibrosis; también puede inducir la producción de IL-5, IL-3 y GM-CSF, que favorece la supervivencia de éstas células, como eotaxina, que son quimioatrayentes y potentes activadores de los eosinófilos.⁽⁶⁷⁾

En la toxocariosis humana, las larvas producen TES, las cuales se depositan durante la migración por tejidos blanco, mientras la respuesta de anticuerpos contra la larva migrante puede ser protectora, los TES son responsables de inducir daño tisular y manifestaciones patológicas.

Todo este mecanismo activado, que significa un importante desgaste para el hospedero, resulta inútil desde la óptica de protección, pues el organismo presenta la

capacidad de estar renovando permanentemente los TES, los cuales se desprenden del parásito y la respuesta no afecta los estados larvarios, pero los productos liberados sí tienen efectos en detrimento de los tejidos del hospedero, que se asocian con la persistencia de los procesos inflamatorios por periodos prolongados.⁽⁶⁷⁾

Lo anteriormente expuesto demuestra la tremenda eficiencia de los TES de las larvas de *Toxocara canis* como sistemas de evasión inmune.⁽⁶⁷⁾

1.5.1.2. Síndrome de Larva Migrans Ocular.

La Toxocariasis Ocular (TO) es una patología poco conocida y producida como consecuencia de la migración de las larvas de *Toxocara canis* al globo ocular.

La TO se manifiesta con signos y síntomas topográficamente localizados en el ojo. Se considera tradicionalmente como el resultado de la migración de muy pocas, a veces una sola larva, presentándose como una lesión típicamente unilateral, aunque se han descrito casos bilaterales. Son capaces de invadir casi todas las estructuras del ojo, siendo la edad media de los pacientes de 8 años, aunque se han descrito casos en edades comprendidas de 2 a 50 años.^(25,50)

La clínica de la TO se encuentra asociada a la formación de un granuloma en el polo posterior por lo que en ocasiones, ha mimetizado un estado temprano de retinoblastoma induciendo a la pérdida total o parcial de la visión en 1 o en los 2 ojos, lo que ha motivado, en algunos casos, la enucleación innecesaria del ojo afectado. También se ha asociado a otras alteraciones como granuloma en la retina periférica, endoftalmitis y uveítis. Otras menos comunes incluyen absceso vítreo, neuritis óptica, queratitis o estrabismo secundario.^(25,43,50)

La mayoría de los casos oculares se han descubierto después de la enucleación, ya que el granuloma puede simular numerosos padecimientos donde está indicada la cirugía. El granuloma por lo regular es redondo, del mismo diámetro aproximado que el disco óptico. Algunas veces con líneas de tensión o pliegues en la retina. En esta infección la endoftalmitis crónica es mucho más común que el granuloma en los niños. En la mayoría de los casos, la inflamación se extiende a partir del vaso en el cual ha quedado impactada la larva, y se ha sugerido que la reacción granulomatosa sólo se desarrolla en aquellos que han sido sensibilizados por una experiencia previa de infección por *Toxocara canis*^(50,54)

Son comunes los antecedentes de relación con perros. La lesión puede detectarse debido a las molestias visuales unilaterales, si los padres notan estrabismo o si se detecta lesión en un examen de rutina del fondo del ojo. Esta forma característica es

unilateral, indolora y no hay hallazgos de toxocariasis visceral o eosinofilia, a diferencia de la forma diseminada que precisamente se caracteriza por este hallazgo.

Los hallazgos oftalmológicos consisten en 1) presencia de una masa inflamatoria en la retina periférica, sin síntomas visuales; 2) granuloma que abarca la mácula y el disco óptico y se acompaña por síntomas visuales; 3) endoftalmitis con granuloma acusativo que puede dar origen a desprendimiento de retina; o 4) uveítis. Puede dar como resultado la ceguera. Los ojos se han enucleado en forma innecesaria debido a lesiones retinianas que se parecen al retinoblastoma.^(28,50,54,66)

1.5.1.3. Toxocariasis Encubierta

En la toxocariasis encubierta, los anticuerpos contra *Toxocara canis* están asociados con algunos síntomas sistémicos o localizados que no corresponden a los otros síndromes. El dolor abdominal es el signo más común. Las infecciones leves son asintomáticas, otros síntomas pueden incluir hepatomegalia, tos, alteración del sueño, dolor de cabeza, cambios de conducta, debilidad, prurito, rash, pérdida de apetito, fiebre, cansancio, asma y afección respiratoria. La forma encubierta no se asocia con eosinofilia. Los síntomas de la toxocariasis encubierta pueden durar meses o años, estos pacientes pueden ser positivos en las pruebas serológicas.^(23,25,28)

1.5.1.4. Síndrome de Larva Migrans Cerebral

Las larvas de *Toxocara canis* tienen una predilección por concentrarse en sistema nervioso central, donde actúan como focos irritativos, ya que generalmente no se encapsulan y los tractos dejados por su migración producen pequeñas áreas de necrosis e infiltrado inflamatorio mínimo.

En humanos infectados con *Toxocara canis* se concluyó que la migración de las larvas en el cerebro causa desordenes neuropsiquiátricos como déficit neurológico agudo, trastornos de la conducta, ataques epilépticos y meningoencefalitis. Es poco lo que se conoce acerca de este síndrome en humanos, debido a la ausencia de modelos animales adecuados para este estudio.⁽³⁴⁾

1.5.2. Cuadro clínico en animales

Los signos clínicos se presentan principalmente en cachorros y animales jóvenes. Las primeras manifestaciones en cachorros por la migración de *Toxocara canis* en los pulmones son tos con descargas nasales, que llegan a ser mortales o bien desaparecen espontáneamente después de tres semanas.

Los cachorros pueden morir (tanto por las migraciones larvarias como por broncoaspiración); esto se produce en caso de fuerte infestación del intestino en la segunda y la tercera semana de vida. Los síntomas típicos son la tos, flujo nasal (hay gran cantidad de gusanos en el intestino y estómago) se observan problemas por el vómito acompañado de gusanos; otras veces hay diarrea, con la consecuente deshidratación, (la diarrea es de tipo mucoide) después de las comidas, abdomen agudo (distendido y doloroso, sensible a la compresión), heces, sin forma y obstrucción intestinal por acúmulo de ascáridos. A los animales se les altera la digestión, pueden presentar anemia, adelgazamiento y algunas veces están raquíuticos como consecuencia de la carencia de vitamina D y presentan pelaje hirsuto.^(11,33)

Las infecciones prenatales graves con *Toxocara canis* provocan intensas molestias abdominales en los cachorros lactantes. Éstos gimotean casi constantemente y adoptan una postura bastante peculiar, manteniendo las patas traseras extendidas tanto al andar como al estar de pie. En las heces o el vómito pueden aparecer un número alarmante de vermes inmaduros y adultos. Cuando los ascáridos reaccionan ante algunos irritantes, se revuelven y se enredan formando nudos. Lo que puede provocar la rotura u obstrucción del intestino.^(12,16)

El paso de nematodos y contenido intestinal hacia la cavidad abdominal causa peritonitis, generalmente mortal. El paso de las larvas, especialmente en pulmones, hígado y riñón, causa inflamaciones focales, inicialmente hemorrágica y más tarde de carácter granulomatoso-eosinofílico. Las infestaciones moderadas normalmente no cursan con manifestaciones en la fase de migración intraorgánica, en cambio, las migraciones intensas pueden causar tos, taquipnea, flujo nasal y síntomas nerviosos de intranquilidad, que podrían deberse a la acción irritativa de los adultos en el intestino, o bien a larvas erráticas en el SNC. Paralelamente se observan alteraciones digestivas como mucosidad y sangre. La forma intestinal puede tener diferentes tipos de comportamiento pudiendo presentarse de forma subclínica en la mayoría de los casos cuando la carga parasitaria es reducida, con repercusiones principalmente de tipo nutricional, en tanto que las infestaciones fuertes pueden causar serios trastornos que ponen en riesgo la vida del animal, ya sea durante su desplazamiento por los pulmones o bien al asentarse en el intestino por provocar obstrucciones, ruptura de la pared intestinal o invadir otros órganos en la vecindad del intestino.

La forma extraintestinal generalmente transcurre como un evento con pocas manifestaciones clínicas, por darse el asentamiento de cantidades relativamente reducidas de larvas, que sin embargo se mantienen viables e interactivas con los tejidos causando procesos inflamatorios crónicos que afectan la condición de vida del

hospedero, las infestaciones masivas eventualmente causan la muerte de los que las adquieren, por la capacidad de sobrevivir en él, y la persistencia de los efectos resultan de mayor importancia los causados por las larvas, que los de las forma adultas.^(11,12,13,14,23,28,33)

Los perros adultos muestran estos síntomas durante infestaciones primarias o en caso de reinfestación antecedida por una infestación primaria anterior débil, y por consiguiente con insuficiente inmunidad; también es posible la aparición de la enfermedad en situaciones de estrés y a consecuencia de otras infecciones. En caso de existir una inmunización, mueren las larvas al atravesar la pared intestinal.⁽³³⁾

1.6. DIAGNÓSTICO

Como la larva de *Toxocara canis* no se desarrolla a etapa adulta en humanos y los síntomas de larva migrans visceral no poseen características específicas, el diagnóstico definitivo vía examen de deposiciones es imposible. La biopsia no es aceptada por los pacientes y es también impráctica porque se requiere de múltiples cortes para encontrar las larvas de *Toxocara canis*.

Por eso los métodos de inmunodiagnóstico son generalmente los procedimientos principales para la detección de las larvas de *Toxocara canis*.

1.6.1 Diagnóstico en humanos

1.6.1.1. Clínico

La edad del paciente indica el riesgo incrementado a padecer toxocariasis clínicamente expresada. El SLMV clásico es más frecuente en niños de alrededor de 5 años de edad. El factor más relacionado con la toxocariasis clínica es la geofagia que ocurre fundamentalmente en niños menores de 5 años pero además se debe considerar el contacto directo con perros ya que en sus pelos pueden permanecer adheridos los huevos viables de *Toxocara canis*.

Las pruebas de laboratorio muestran leucocitosis (de 30 mil a 100 mil/ μ l), generalmente la cuenta de eosinófilos es muy elevada en forma sostenida (de 20 a 80%) hay hipergammaglobulinemia (IgG, IgE, e IgM) e isohemaglutininas elevadas. Por lo general la toxocariasis ocular no se relaciona con eosinofilia periférica, hipergammaglobulinemia, o elevación de las isohemaglutininas. En casos seleccionados, el examen del líquido vítreo en búsqueda de anticuerpos por la prueba de ELISA mejora la posibilidad del diagnóstico.^(28,57,66)

1.6.1.2. Histopatológico

En los seres humanos se cuenta con el método directo de diagnóstico que consiste en la observación directa de larvas de segundo estadio en el material histológico obtenido por biopsia por lo general no está indicada. El inconveniente es que el volumen de tejido debe ser suficientemente grande y debe procesarse por un patólogo con experiencia pues pueden pasar inadvertidos. La detección de los antígenos parasitarios por inmunohistoquímica puede ser de ayuda cuando no existen larvas identificables en los tejidos.^(28,66)

1.6.1.3. Imagenología

Las radiografías de tórax muestran infiltrados o áreas de consolidación; los granulomas antiguos pueden calcificarse. En pacientes con alteraciones en el sistema nervioso central del líquido cefalorraquídeo presenta eosinófilos. Los granulomas cerebrales antiguos pueden ser la causa de calcificaciones cerebrales que aparecen en radiografías. Las pruebas de función hepática casi siempre son normales.^(28,66)

1.6.1.4. Inmunológico

La seropositividad es el marcador más importante de las infecciones por *Toxocara canis* en humanos y rodea a todo el espectro clínico de la toxocariasis desde formas asintomáticas a formas severas.

La prueba serológica más sensitiva (78%) y específica (92%) es la de ELISA que usa huevos embrionados de *Toxocara canis* como antígeno y permite un diagnóstico presuntivo. La absorción previa del suero con antígeno de *Ascaris lumbricoides* aumenta la especificidad. La prueba puede correrse usando suero o humor vítreo de los pacientes con toxocariasis ocular. Permanece positivo por cuatro años o más después de la resolución de la enfermedad. La hemaglutinación indirecta que usa el antígeno completo de la lombriz, también puede usarse aunque es menos específica que ELISA.^(28,57)

La medición de los antígenos de secreción/excreción puede ser más útil que las pruebas de anticuerpos al estimar la duración de la enfermedad ya que provienen de las larvas activas, además, la variación de estos antígenos en el suero o en el fluido intraocular, acompañado de los datos clínicos, ayuda a la valoración del tratamiento. El inconveniente es la falta de especificidad por la presencia de antígenos que presentan en común los ascáridos y otros helmintos, que son proteínas no específicas de especie dando lugar a reacciones cruzadas. Los resultados falsos positivos pueden ocurrir en infecciones con *Strongyloides stercoralis*, *Trichinella spiralis* y *Fasciola hepatica*. Un título positivo puede

ser de ayuda diagnóstica pero el rango de seropositividad de la población general debe tenerse en cuenta y un título negativo no puede excluir el diagnóstico.^(4,28,30,32,57)

1.6.2. Diagnóstico en perros

Para la detección de fases adultas (en cachorros), se recurre a la identificación microscópica de los huevos en las heces, facilitándose por medio de concentración con solución hipertónica. Sin embargo, la ausencia de huevos en las heces no excluye la presencia de parásitos. El diagnóstico de la infestación prenatal puede realizarse por la historia clínica y los signos clínicos que muestran los cachorros. Solo los síntomas pulmonares que afectan a toda la camada 1-2 semanas después del nacimiento hacen sospechar la infestación. Con frecuencia los cachorros eliminan nematodos espontáneamente con el vómito o en las deyecciones. La necropsia y la observación de las lesiones hepáticas, pulmonares o renales, junto con la demostración directa de los nematodos en el intestino delgado, confirman el diagnóstico.^(11,14,27,35,40)

En el caso de las fases adultas (perros adultos y hospederos paraténicos) se hace mediante pruebas serológicas. Los antígenos de excreción-secreción son sensibles y específicos y en gran parte los estudios de diagnóstico basados en ellos se hacen para la detección de la larva emigrante visceral humana.

También se han investigado otros componentes antigénicos para diagnosticar la toxocariasis del perro, valorándolos especialmente por inmunofluorescencia y ELISA. Los resultados indican que el nivel de anticuerpos frente a las larvas somáticas de *Toxocara canis* se mantiene alto durante un período prolongado, lo cual podría servir para mejorar el diagnóstico en perros adultos. Las larvas tisulares se han podido determinar también, en condiciones experimentales, mediante radioinmunoensayo.^(11,40,56)

El diagnóstico posmortem en los cachorros que mueren permite valorar mejor el problema. Es necesario considerar también a los animales adultos que generalmente no muestran signos y la carga parasitaria es mucho menor, pero eliminan huevos del parásito, los cuales se pueden observar fácilmente en el microscopio.

1.7. TRATAMIENTO

Quizá una de las asociaciones más difíciles de entender a fondo es la que existe entre los parásitos y su hospedero. En forma teórica, es factible suponer que la relación en vida libre de los parásitos con sus hospederos se mantenga en equilibrio entre la población de los primeros y la salud de los segundos, requisito indispensable para que la densidad de la población animal se ajuste de manera armónica con la dinámica de un ecosistema.

La comprensión de la relación entre las propiedades fisicoquímicas, el comportamiento farmacocinético y eficacia clínica es absolutamente necesaria para darle un enfoque racional comparativo del hospedero y del parásito para descubrir las diferencias en los procesos esenciales que permitan la inhibición selectiva en el parásito y no en el hospedero. Existen numerosos datos de la estrecha relación entre las propiedades farmacológicas y los resultados en cuanto a la eficacia sobre diferentes géneros de parásitos para los distintos antiparasitarios utilizados en medicina veterinaria y humana.^(35,56)

Existen tres tipos principales de objetivos potenciales para la quimioterapia de las enfermedades parasitarias: 1) enzimas únicas esenciales que solo se encuentran en parásitos, 2) enzimas similares que se encuentran tanto en el parásito como en el hospedero, pero que solo son indispensables para el parásito, y 3) funciones bioquímicas comunes que se llevan a cabo en el parásito como en el hospedero, pero con diferentes propiedades farmacológicas.⁽⁸⁾

Las parasitosis son enfermedades de verdadera importancia en el ser humano y en los animales domésticos que pueden originar sintomatología muy variada, según la gravedad, desde la pérdida de apetito hasta la muerte del individuo parasitado. Actualmente no son muchos los grupos químicos disponibles en el mercado farmacéutico que actúan sobre los parásitos nematodos que se localizan en el tracto gastrointestinal entre ellos se incluyen:⁽³⁵⁾

- 1.- Compuestos imidazotiazólicos (tetramisol y levamisol)
- 2.- Tetrahidropirimidinas (morantel y pirantel)
- 3.- Compuestos fenotiazínicos (piperazina)
- 4.- Compuestos bencimidazólicos (albendazol, mebendazol, fenbendazol)
- 5.- Lactonas macrocíclicas (ivermectina, moxidectina, doramectina)

1.7.1. Compuestos imidazotiazólicos

1.7.1.1. Levamisol y tetramisol

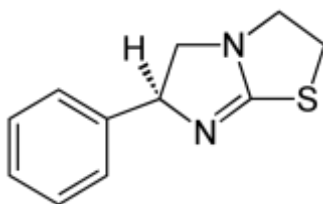


Fig.6. <http://es.wikipedia.org/wiki/Levamisol>

Fig.6. Estructura química del levamisol

Fue introducido en el año de 1966, siendo una mezcla racémica de dos isómeros, con los cuales se realizaron una serie de pruebas, posteriormente se separaron químicamente y se demostró que la actividad antihelmíntica de la mezcla recaía casi exclusivamente en el isómero levógiro, que se denominó levamisol, esto representó una gran ventaja, ya que permitió reducir a la mitad la dosis necesaria para la actividad antihelmíntica y aumentar su margen de seguridad. Actualmente se comercializa casi exclusivamente como levamisol.⁽⁵⁶⁾

El levamisol produce la parálisis del parásito debido a una contracción muscular permanente (parálisis espástica). No mata al parásito, y este es expulsado vivo. Este efecto paralizante lo logra por tener acción colinérgica en los ganglios nerviosos del parásito susceptible. Su acción es agonista nicotínica (esta acción es inhibida por los bloqueantes ganglionares como el hexametonio). Se cree también que tiene una débil acción inhibitoria de la acetilcolinesterasa que reforzaría su acción.^(7,8,27,35,56)

Esta molécula también produciría la inhibición de la enzima fumarato reductasa y la oxidación del ácido succínico en el parásito, bloqueando de esta manera el metabolismo de los hidratos de carbono. Sin embargo, esta acción no es de importancia en su efecto antiparasitario, debido a que las altas concentraciones que se deben lograr en el helminto para que se produzca dicha acción, no se logran con las dosis terapéuticas administradas al hospedero. Este fármaco actúa principalmente sobre nematodos adultos y con menor eficacia sobre estadios larvarios. No es ovicida y generalmente no tiene efectividad contra los estadios inhibidos en estos parásitos. El desarrollo de resistencia a esta molécula se debe a una disminución en el número o a la sensibilidad de los receptores colinérgicos del parásito.^(35,56)

El uso concomitante con fármacos de acción nicotínica (pirantel, morantel, dietilcarbamazina) o inhibidores de la acetilcolinesterasa (organofosforados, neostigmina) puede, teóricamente, aumentar la toxicidad del levamisol. En las especies resistentes se necesitan concentraciones 5 a 6 veces más altas para lograr un efecto. La resistencia al levamisol es cruzada con el pirantel y el morantel, debido a que comparten el mismo mecanismo de acción.^(27,35,56)

El tetramisol produce acción despolarizante muscular en los parásitos por efectos de inhibición de la colinesterasa, aunque tiene un espectro similar al levamisol, pero con menos potencia y es aproximadamente dos veces más tóxico.

1.7.2 Tetrahidropiridinas

1.7.2.1. Morantel, pirantel y oxantel.

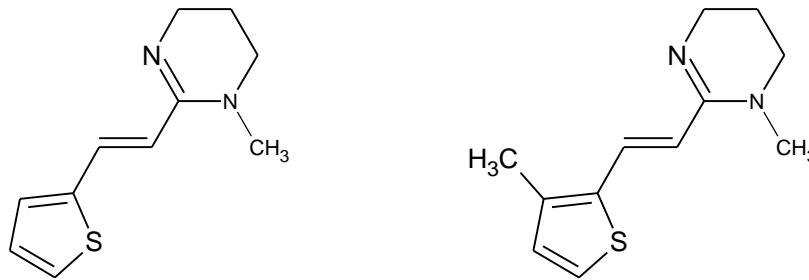


Fig. 7 Estructuras químicas del Morantel y Pirantel

El primer componente de este grupo que se utilizó como antiparasitario de amplio espectro fue el pirantel en 1966, luego se desarrolló el morantel (análogo metilado del pirantel) y por último el análogo m-oxifenil denominado oxantel.

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

El mecanismo de acción de las tetrahidropiridinas consiste en el bloqueo de la transmisión neuroganglionar del parásito, con un efecto de tipo colinérgico despolarizante.⁽⁵⁶⁾

A pesar de tener al mismo mecanismo de acción, los componentes de este grupo difieren en cuanto a potencia y velocidad de acción. Así, el morantel es 100 veces más potente que el pirantel, pero su efectividad máxima tarda más tiempo en aparecer. Otro mecanismo

por el cual podrían ejercer su efecto antiparasitario es a través de la inhibición de enzimas. El pirantel inhibe la acetilcolinesterasa y el morantel, la fumarato reductasa.^(35,56)

1.7.3. Compuestos fenotiazínicos

1.7.3.1. Piperazina

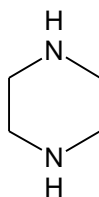


Fig. 8 Estructura química de la piperazina

A pesar de su descubrimiento alrededor del año 1900, la piperazina (dietilendiamina) ha sido reconocida sólo desde 1954 como molécula antihelmíntica por excelencia, siendo aún utilizada en varios países del mundo por su bajo costo.^(7,8)

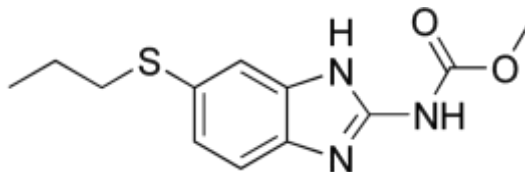
La molécula de piperazina base se desnaturaliza fácilmente por diversos factores del medio ambiente, y usualmente se combina con diferentes tipos de sales para otorgarle estabilidad (adipato, citrato, dihidrocloruro, fosfato, hexahidrato)^(7,8,56)

La piperazina actúa sólo sobre nematodos de equinos, porcinos, caninos y aves.

La piperazina ejerce una acción agonista selectiva sobre los receptores del neurotransmisor inhibitor GABA, que producen la apertura de los canales de Cl⁻ e hiperpolarizan la membrana de las células musculares del parásito.^(7,8,35,56)

1.7.4. Compuestos bencimidazólicos

1.7.4.1. Albendazol



http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Albendazole_structure.png

Fig.9. Estructura química del albendazol

El uso potencial de estos compuestos en enfermedades parasitarias, se estableció en el año de 1950 a partir del descubrimiento de la molécula de α -D-ribofuranacil que es parte integral de la vitamina B12. El descubrimiento del tiabendazol, en 1961, marcó el inicio del

desarrollo comercial de otros bencimidazoles y propició la síntesis de nuevos compuestos.^(7,8)

Los bencimidazoles representan una gran familia de productos de amplio espectro y con buen margen de seguridad que han gozado de una extensa aplicación en un amplio abanico de especies de animales durante muchos años, además se caracterizan por su efecto específico contra nematodos gastrointestinales.

Los compuestos bencimidazólicos más importantes responden a la siguiente clasificación farmacológica:^(7,8)

Bencimidazoles tiazoles

- ✚ Tiabendazol
- ✚ Cambendazol

Bencimidazoles metilcarbamatos

- ✚ Mebendazol
- ✚ Oxibendazol
- ✚ Albendazol
- ✚ Albendazol sulfóxido
- ✚ Fenbendazol

Entre los diferentes derivados probados, los que mayor utilidad terapéutica han poseído son aquellos que tienen modificaciones en las posiciones 2 y 5 o ambas en el anillo de bencimidazol, varios compuestos como el tiabendazol, mebendazol y albendazol han sido utilizados ampliamente en la erradicación de las helmintiasis humanas.

El mecanismo de acción es común para todos los bencimidazoles, en general se unen a la proteína tubulina e inhiben su polimerización para formar microtúbulos. En todos los organismos eucariotas, la unidad estructural de los microtúbulos, es un dímero formado por subunidades de tubulina α y β . Los microtúbulos, además de formar parte de la estructura del citoesqueleto, participan en diversas funciones celulares, particularmente en la división celular, el transporte de nutrientes y excreción de desechos metabólicos. Diferentes estudios de interacción entre moléculas de bencimidazol y tubulina, indican que estos compuestos se unen al monómero de la subunidad β no dejando de incorporar el mismo al polímero de tubulina. De esta manera, las moléculas de bencimidazol

provocan una disrupción en equilibrio microtúbulo/tubulina, desencadenando su polimerización.^(7,8,35,44,56)

La afinidad por el receptor, la actividad del fármaco y el número de receptores serán los que formalmente determinen la magnitud del efecto farmacológico que se obtenga. La unión de albendazol-tubulina no trae aparejados efectos instantáneos, sino que los cambios se observan transcurrido un cierto tiempo de exposición. Por esta razón la administración mantenida del albendazol incrementa su eficacia antihelmíntica.^(35,44,56)

En el caso del albendazol este compuesto es un carbamato bencimidazólico con actividad antihelmíntica y antiprotozoaria. Para el control profiláctico o terapéutico de los principales parásitos gastrointestinales de perros y gatos como: *Ancylostoma caninum*, con efecto adulticida, ovidica y larvicida en nematodos gastrointestinales y pulmonares.

1.7.5. Lactonas macrocíclicas

Las estructuras formadas a base de avermectina son complejos estrechamente relacionados con las lactonas macrocíclicas. A pesar de que comparten características estructurales con los macrólidos antibacteriales y los polienos macrocíclicos antimicóticos, las avermectinas no se agrupan usualmente con estos componentes. Las avermectinas no tienen actividad antibacterial ni antifúngica y no inhiben proteínas o la síntesis de quitina como los otros dos grupos.⁽⁶⁾

Se obtienen como producto de la fermentación del actinomiceto *Streptomyces avermitilis* originando 4 pares homólogos de compuestos estrechamente relacionados: avermectina A₁, A₂, B₁ y B₂. Los componentes "A" tienen el sustituyente 5-metoxi, mientras que los componentes "B" tienen un sustituyente 5-hidroxi, y los componentes A₁-B₁ dobles enlaces en 22,23 que es obtenido por deshidratación del grupo 23-hidroxi de los dos compuestos.⁽⁶⁾

Los cuatro pares además se dividen en más componentes A_{1a}, A_{2a}, B_{1a}, B_{2a} con un butil secundario en el C-25 de la cadena lateral y en menor composición A_{1b}, A_{2b}, B_{1b}, B_{2b} con un sustituyente de isopropil en el C-25. Los que se producen en gran cantidad durante la fermentación son A_{2a}, B_{1a} y B_{2a}. La avermectina B_{1a} es la más importante porque tiene alta potencia con un amplio espectro en contra de endoparásitos y ectoparásitos⁽⁶⁾

Como la separación de A_{1a} y B_{2a} que tienen 25-butil secundario que se encuentran en mayor cantidad de A_{1b} y B_{1b} que tienen 25-isopropil que se encuentran en menor cantidad, es muy tedioso e impráctico ya que la actividad biológica de los dos homólogos es prácticamente idéntica, los componentes de avermectina se usan en una mezcla de estos dos homólogos, en cuyo caso las mezclas representan no menos del 80% de los

componentes “a” y no más de 20% en los componentes “b”, por lo que el agente antiparasitario ivermectina (22,23- dihidroavermectina B₁) se comercializa como una mezcla de ambos.⁽⁶⁾

La avermectina B_{1a} contiene 5 dobles enlaces, 2 de los cuales son conjugados en una función de 8,9,10,11-dieno. Esto resulta en una gran absorción de UV a 245 nm, una propiedad ventajosa para su detección analítica. De los otros 3 dobles enlaces los 3,4- y 14,15-enos son trisustituidos y 22,23-eno (ocurriendo solamente en los componentes “1”) es cisdisustituido. Avermectina B_{1a} tiene tres grupos hidroxilo, en C-5 un alílico secundario, un segundo menos reactivo C-4”, y uno prácticamente no reactivo alílico terciario grupo hidróxido en C-7. El compuesto tiene muchas uniones de éter de los cuales 2 son glicosídicos en C-1’ y C-1” que son responsables de una fácil hidrólisis de los disacáridos y de los monosacáridos.⁽⁶⁾

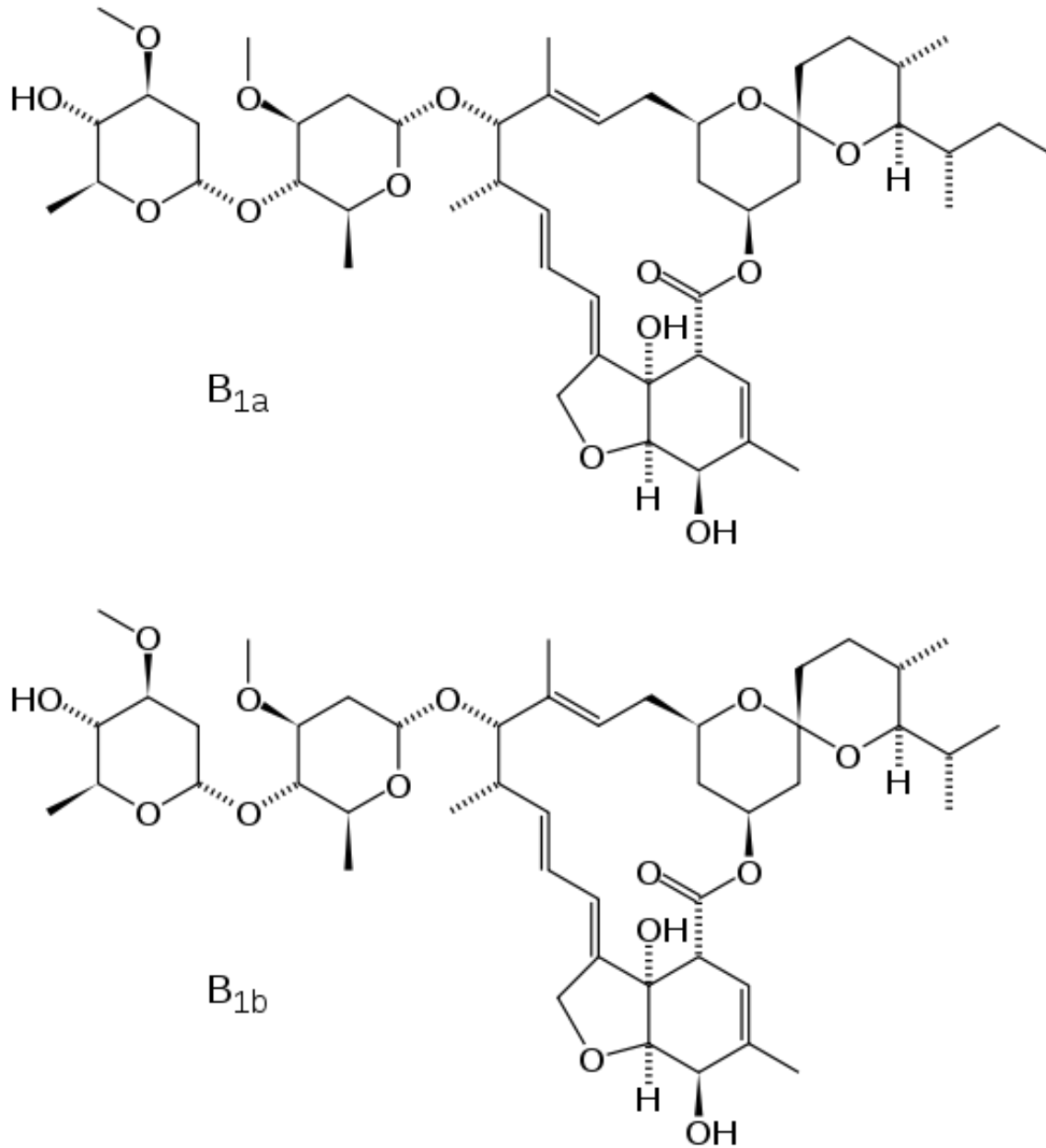
Dentro de sus propiedades químicas la avermectina es una sustancia altamente lipofílica y soluble en muchos solventes orgánicos como el cloroformo, cloruro de metileno, acetona, alcoholes, tolueno, ciclohexano, dimetilformamida, dimetilsulfóxido y tetrahidrofurano. Su solubilidad en agua es baja, solamente 0.006 a 0.009 ppm.⁽⁶⁾

Los estudios de estabilidad química son fáciles por cromatografía de capa fina en silicagel (TLC) o por cromatografía de alta resolución (HPLC), usando una fase reversa C₁₈. Los picos en HPLC o las marcas en TLC son visualizadas con una absorción de UV a 245 nm; las marcas de TLC pueden ser detectadas con sulfato cérico o con una tinción de ácido fosfomolibdico.⁽⁶⁾

Las avermectinas contienen un protón ácido en la posición asimétrica C-2 próxima al grupo carbonilo de la lactona. El tratamiento con una base fuerte como hidróxido de potasio metanólico o metóxido de sodio causa epimerización en el centro y cambia el doble enlace beta-gamma en una conjugación con el carbonilo de la lactona. Un tratamiento prolongado con una base lleva una aromatización en el sexto anillo abriéndolo y además degradándolo en una mezcla bruta de productos no identificados. Se deben evitar condiciones básicas fuertes durante la reacción de la avermectina, pero consecuentemente un álcali fuerte se puede ocupar para destruir sus residuos, para un desecho seguro.⁽⁶⁾

Los rayos UV por debajo de 280 nm rápidamente isomerizan los dobles enlaces E (trans) 8,9 y 10,11 hacia 8,9 y 10,11- Z isómeros. Radiación prolongada lleva a una larga lista de productos de descomposición no identificados que carecen de cualquier absorción UV. Las soluciones de avermectina en matraces de pyrex generalmente son estables porque el vidrio excluye la luz UV.⁽⁶⁾

1.7.5.1. IVERMECTINA



http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Ivermectin_skeletal.svg

Fig. 10. Estructura química de las moléculas B_{1a} y B_{1b} de la ivermectina

La ivermectina es una lactona macrocíclica semisintética, es una mezcla de ivermectina B_{1a} y B_{1b}, que se deriva del actinomiceto *Streptomyces avermitilis*, aislado en el Instituto Kitasato en Tokio.

La ivermectina es la lactona macrocíclica de mayor difusión y utilización en las diferentes especies de animales en el mundo; por lo tanto, es la molécula que más se ha estudiado con respecto a sus características farmacodinámicas y farmacocinéticas.^(7,35,47,49,56,59)

El comportamiento farmacocinético de estas moléculas difiere del resto de los fármacos antiparasitarios por la prolongada permanencia de concentraciones detectables en los diferentes tejidos del animal tratado tras la administración por diferentes vías, el tiempo de permanencia promedio en los tejidos de la ivermectina es de 9 días.^(35,49,56,57,59)

La ivermectina al ser lipofílica, es muy liposoluble y poco hidrosoluble, por lo que se puede aplicar por todas las vías, siendo las más recomendadas, la subcutánea, intramuscular o por vía oral; posterior a su administración oral, se absorbe rápidamente y casi en su totalidad, alcanza un pico máximo de concentración de 46.6 ng/ml, a las 4 horas después de su administración. La vida media plasmática es de aproximadamente 16 a 35 horas. La ivermectina no atraviesa la barrera hematoencefálica y se distribuye en bajas concentraciones en la leche materna, alcanzando su pico máximo entre las 4 y 12 horas después de su administración. La ivermectina se metaboliza parcialmente a nivel hepático. Tanto el fármaco original, como sus metabolitos se excretan casi exclusivamente en las heces, a lo largo de los 12 días posteriores al tratamiento. Menos de 1% de la dosis administrada se elimina en orina. Esta eliminación asegura la continua actividad parasiticida durante el ciclo biológico del parásito, actuando sobre las etapas larvaria y adulta de los parásitos susceptibles.^(6,71)

El mecanismo de acción de la ivermectina es el de inmovilizar a los gusanos afectados al inducir parálisis tónica de sus músculos ya que actúa en canales de Cl⁻ sensibles a GABA para producir este efecto. Las avermectinas se unen con afinidad alta a canales de Cl⁻ sensibles a GABA ya que tiene un potente efecto agonista de los receptores GABA y a otros ligandos en nematodos como *Ascaris* e insectos, pero las consecuencias fisiológicas no están bien definidas. Las avermectinas interactúan con los receptores del ácido gamma-aminobutírico (GABA) en el cerebro de vertebrados (mamíferos), pero su afinidad por receptores de invertebrados es unas 100 veces mayor. Debido a que el GABA y sus receptores en los mamíferos están confinados al sistema nervioso central, y a que el fármaco no atraviesa la barrera hematoencefálica, el producto no ejerce efectos semejantes en el humano. La ivermectina no tiene efecto en los gusanos adultos en el caso de filarias, pero afecta a las larvas en desarrollo a dosis de 4-12 µg/Kg y bloquea la salida de microfilarias del útero de los vermes adultos.^(7,8,35,44,47,49,55,56,59,71)

La ivermectina no es tóxica para el hombre, solo en condiciones en las que se altere la barrera hematoencefálica normal del individuo se puede producir una neurotoxicidad

potencialmente fatal. Algunas desventajas observadas consisten en que presenta baja solubilidad en el agua y se deposita en el tejido subcutáneo.^(49,59)

EN la formulación comercial es un antiparasitario de amplio espectro de acción, que elimina parásitos internos: nematodos gastrointestinales, pulmonares, renales y de la conjuntiva, tanto en su fase larvaria, como adulta; muy útil en el control de parásitos externos como: piojos, ácaros, adyuvante en el control de garrapatas en bovinos, ovinos, caprinos y cerdos.

En el perro existen estudios en los que el producto debe administrarse a intervalos mensuales, comenzando el plazo de un mes después de la primera exposición a los parásitos y se espera terminar dentro de un mes después de la última exposición potencial. La literatura indica que no se recomienda para perros de menos de 6 semanas de edad, particularmente de los Collies ya que son excepcionalmente susceptibles a la toxicidad de la ivermectina, en la cual las reacciones adversas se han reportado cuando se dan concentraciones de 200 µg/Kg pero no cuando se le administra a concentraciones de 50 µg/Kg.⁽⁶⁾

La indicación para su uso en tratamiento contra ectoparásitos como *Sarcoptes scabiei*, *Demodex canis*, *Otodectes cynotis*, *Ctenocephalides cati* y prevención de endoparásitos como *Dirofilaria immitis*, *Dipetalonema reconditum*, *Toxascaris leonina*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Strongyloides stercoralis*, *Filaroides osleri*, *Capillaria spp*, *Trichuris vulpis*, así como *Toxocara canis* en el cual el tratamiento de la infección adquirida naturalmente de *Toxocara canis* en perros reduce la carga parasitaria en un 91 % cuando la dosis de ivermectina fue de 200 µg/Kg por vía subcutánea y el 97 % cuando la dosis fue de 400 µg/Kg (Anderson y Roberson 1982)⁽⁶⁾

Los estados inmaduros de *Toxocara canis* son importantes en dos contextos muy diferentes: El intestinal y extraintestinal. Contra las larvas intestinales en el cuarto estadio (en perros tratados 2 semanas después de la inoculación con los huevos infectantes) ivermectina tuvo 97 % de efectividad usándola en dosis de 200 µg/Kg y 98 % efectiva a 400 µg/Kg (Anderson y Roberson, 1982). En dosis de 50 y 100 µg/Kg no dió ninguna reducción significativa en la carga de gusanos. Yazwinski, Tilley y Greenway (1982) también trataron los perros 2 semanas después de la inoculación con huevos infectantes de *Toxocara canis*, pero reportaron 100 % de eficacia en dosis de 100 µg/Kg e incluso hasta 50 µg/Kg. Esta discrepancia pudo ser debido a la diferencia en la intensidad de la infección, la carga de gusano media siendo 232 en el ensayo anterior, y sólo 5.4 en el segundo.⁽⁶⁾

El parasitismo por larvas extraintestinales (L₂), es que éstas desempeñan un importante rol en la transmisión transplacentaria y transmamaria de la perra a las crías que ha sido especialmente difícil de bloquear con medicación. Utilizando ratones infectados experimentalmente como un modelo, Abo-Shehada (1982) encontró que las L₂ se vieron afectadas por la ivermectina cuando usó dosis altas (2000 µg/Kg) administrada en los días 2-7 después de la inoculación.⁽⁶⁾

En los ratones tratados de esta forma las larvas no migraron desde el hígado hacia el cerebro y los músculos, pero cuando el tratamiento se dio después de que la larva ha completado su migración (días 8 a 13), incluso a dosis muy altas no se logró reducir su número. Los estudios realizados en perros, sin embargo, sugieren que si puede afectar a *Toxocara canis* en los tejidos de tal forma que las crías de hembras tratadas son esencialmente libres de la infección. Las perras inoculadas con huevos de *Toxocara canis* fueron tratadas con ivermectina alrededor del día 42 de gestación (etapa en la que las larvas se reactivan en los tejidos) y los cachorros nacidos posteriormente nacieron libres de larvas, situación que fue verificada al nacimiento o destete (Shoop *et al.* 1988). Los regímenes de tratamiento que dieron como resultado la reducción de más del 99% de la carga de gusanos y en el paso de los huevos en las heces fueron: 1000 µg/Kg en los días 20 y 42 de la gestación; 500 µg/Kg en los días 38, 41, 44 y 47 de la gestación; 1000 µg/Kg en el día 20 seguido por 500 µg/Kg en el día 42, 47 y 53 de la gestación.⁽⁶⁾

1.8. Control y profilaxis

En países subdesarrollados, la situación es compleja, porque el principal problema es la falta de una estructura sanitaria básica, como agua corriente y un sistema de alcantarillado apropiado, esto debe tomarse en consideración también por la complejidad del ciclo biológico de *Toxocara canis*.^(10,45)

Para el control de esta parasitosis y la prevención del riesgo de infección hacia el humano (especialmente en niños), debe darse especial atención a las perras en gestación y los cachorros, debido a la alta proporción de perros que nacen infectados, los perros recién nacidos son de especial interés en la profilaxis. Se recomienda tratar a los cachorros a las 2 semanas de nacidos y repetir la medicación a las 4, 6 y 8 semanas de edad, especialmente ante el riesgo de reinfestación por la leche materna y la contaminación ambiental, la finalidad de esto es destruir las fases maduras e inmaduras del parásito que son transferidas por vía transplacentaria y lactógena. Las madres deberán someterse a pautas de tratamiento simultáneas a la camada y los perros adultos deben de tratarse semestralmente o someterlos a estudios coprológicos periódicamente y trátalos si están infectados empleando principios que se haya demostrado que resulten eficientes.^(28,35,56)

Dado que aún el mejor tratamiento no ha demostrado tener una eficiencia al 100%, deben utilizarse otras medidas complementarias, una de ellas es reducir la población de perros callejeros y permitir solo perros que tienen dueño socialmente responsable. No se debe de permitir que los perros deambulen libremente por parques públicos, particularmente cuando hay áreas de juego para niños. ^(28,40)

Los dueños pueden pasear a sus perros sujetos de una correa y deben de recoger las heces producidas por estos en bolsas de plástico que deben de depositar en la basura. ^(10,28,40,56)

Finalmente la medida más importante es hacer que la población se familiarice con las diversas formas de transmisión de la toxocariasis y otras parasitosis, recalcar el riesgo que representa para los niños jugar en sitios que presentan o han presentado contaminación fecal, la importancia de lavarse las manos antes de comer, así como evitar el consumo de alimentos cárnicos crudos particularmente. ^(10,28,35,40,45,56)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En consideración a todas las experiencias en torno a los diferentes grupos de antiparasitarios y los diferentes esquemas de manejo que se han desarrollado particularmente con la ivermectina y su actividad contra las larvas enquistadas en el cuerpo de los hospederos paraténicos como estrategia de control la experiencia se remonta a varias décadas y dentro de los datos relevantes podemos considerar el trabajo de López y Mejía (2003) que detectaron que la aplicación de dosis repetitivas de ivermectina usando valores de 200 µg/Kg de peso vivo pudo eliminar hasta al 88.58 % de las larvas después de suministrar cinco tratamientos a intervalos mensuales, reduciendo de forma muy importante el número de larvas encontradas, incluso las de cerebro y en particular en musculatura esquelética, tejido en el que se vio una reducida tendencia al asentamiento, González y Morales (2002), utilizando 3 lactonas macrocíclicas (ivermectina, doramectina y moxidectina) usando dosis de 200 µg/Kg 30 días postinfección obtuvieron una eficacia del 50.13% para la ivermectina, del 25.5 % para la doramectina y del 17.5 % para la moxidectina; siendo la primera la más eficiente en comparación con las otras lactonas pero con una efectividad baja. Acosta (2005) utilizó la dosis de ivermectina aumentada 80 veces más para evaluar su actividad (tomando en cuenta que la dosis máxima es de 2 mg/kg), utilizando así dosis únicas de 4 µg/Kg, 50 µg/Kg, 400 µg/Kg, 800 µg/Kg, 1000 µg/Kg, en este trabajo se detectó que con los distintos niveles de dosificación de la ivermectina no se produjo la disminución de larvas que se esperaba, porque duplicando la dosis establecida de 200 a 400 µg/Kg, se obtuvo una eficacia de 51.34 %, a los 30 días P.I. con 4 µg/Kg se

obtuvo la menor eficacia, teniendo el 11.83 %, con 50 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ el 20.34 %, con 400 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, se obtuvo 51.34 %, con 800 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, el 61 % y con 1000 el 68.74 %; concluyendo que las dosis más adecuadas están entre 800 y 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. En este trabajo se planteó evaluar el suministro por tres días consecutivos de ivermectina en dosis de 200 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ a intervalos mensuales para determinar si es la más adecuada para suprimir la infección por el estadio larvario de *Toxocara canis*, usando el modelo experimental en ratones CD1.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

- ✚ Determinar el efecto de la ivermectina en dosis repetitivas a intervalos mensuales para tratar infecciones por estadios larvarios de *Toxocara canis*

2.2. Objetivos Particulares

- ✚ Evaluar la actividad antiparasitaria de la ivermectina contra las larvas de *Toxocara canis*, aplicando tres dosis repetitivas de 200 µg/kg a intervalos mensuales (30, 90, 120 y 150 días) usando como modelo experimental a ratones hembras CD1 inoculadas con larvas de *T. canis*, para determinar si es la más adecuada para eliminar la infección por el estadio larvario del nematodo de *Toxocara canis*.
- ✚ Determinar el porcentaje de eficacia con relación al número de tratamientos administrados.

2.3. HIPOTESIS

- ✚ Si el empleo de dosis individuales de ivermectina a intervalos mensuales ha permitido obtener eficacias de 58.1% (con un tratamiento) y hasta 88.58% (empleando 5 dosis) de eliminación de larvas enquistadas de *Toxocara canis* la aplicación de tratamientos repetitivos con dosis de 200 µg/kg a esos mismos intervalos puede generar una mayor reducción de larvas en animales infectados experimentalmente.

3. MATERIAL Y DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 Material y equipo de laboratorio

- ✚ Cajas de Petri de vidrio
- ✚ Agujas de disección
- ✚ Microscopio óptico
- ✚ Microscopio estereoscópico
- ✚ Bisturí
- ✚ Cajas de plástico
- ✚ Piseta
- ✚ Tubos de vidrio para centrífuga
- ✚ Pipetas Pasteur
- ✚ Cubreobjetos
- ✚ Portaobjetos
- ✚ Sonda gástrica
- ✚ Tijeras para disección
- ✚ Pinzas de disección
- ✚ Pipeta semiautomática
- ✚ Contador de piano o manual
- ✚ Gasas de 8 x 8 cm
- ✚ Charolas de disección
- ✚ Estufa bacteriológica
- ✚ Balanza granataria
- ✚ Agitador eléctrico
- ✚ Vórtex

3.2. Reactivos y soluciones

- ✚ Solución salina formolada al 2.5%
- ✚ Pepsina
- ✚ Ácido clorhídrico
- ✚ Agua destilada
- ✚ ivermectina (IVERMECTINA® Laboratorio Sanfer al 1%)
- ✚ Propilenglicol
- ✚ Glicerinformal
- ✚ Formol al 10%

3.3. Material biológico

- ✚ 61 ratones machos cepa CD1
- ✚ Cadáveres de cachorros de 2 o 3 meses de edad, procedentes del Centro del Control Canino del Municipio de Cuautitlán Izcalli, México.
- ✚ Hembras de *Toxocara canis* provenientes de los cachorros
- ✚ Huevos larvados de *Toxocara canis*.

3.4. Diseño metodológico

3.4.1. Obtención de los huevos

- ✚ Se obtuvieron cachorros parasitados naturalmente del Centro de Control y Bienestar canino del Municipio de Cuautitlán Izcalli.
- ✚ Se extrajeron hembras adultas de *Toxocara canis* del intestino delgado de los cachorros muertos parasitados.
- ✚ Se separaron las hembras que se disecaron para liberar los úteros grávidos y permitir la salida de los huevos maduros.

3.4.2. Mantenimiento y desarrollo de las larvas de *Toxocara canis*

- ✚ Se colectaron los huevos extraídos del útero de las hembras de *Toxocara canis* en cajas Petri con un volumen de una tercera parte de su capacidad de agua, dicha operación se llevó a cabo con el apoyo de un microscopio estereoscópico.
- ✚ Ya colectados los huevos, se colocaron en una suspensión (agua-huevos), en tubos para centrífuga y se centrifugaron durante tres minutos a 2000 r.p.m.
- ✚ Una vez terminada la centrifugación se extrajo el agua de los tubos y se reconstituyó la pastilla obtenida con solución salina formolada al 2.5 %
- ✚ La mezcla resultante se depositó en una caja Petri y se aproximó el contenido a una tercera parte de su volumen con solución salina formolada al 2.5 %, colocando la tapa de la caja se dejó reposar el contenido por un lapso de 3 o 4 semanas en estufa de cultivo a 28 °C con el objeto de favorecer el desarrollo del segundo estado larvario.

3.4.3. Determinación de la viabilidad de los huevos de *Toxocara canis*

- ✚ Se realizaron 10 conteos de huevos larvados del nematodo en volúmenes de 100 µl de suspensión homogeneizada de cultivo, enfocando con el objetivo de 40 X, y con la ayuda de un contador manual se determinaron los valores siguientes: El número total de huevos en 100 µl de la suspensión, de este valor se calculó el porcentaje de huevos viables, reportándolo como porcentaje de 100 µl de suspensión.
- ✚ De los 10 conteos realizados se tomó como valor final al valor promedio obtenido de huevos viables de *Toxocara canis*.

3.4.4. Inducción de la parasitosis

- ✚ La inoculación se llevó a cabo mediante sondeo gástrico, inoculando en promedio la cantidad de 600 huevos larvados viables de *Toxocara canis*, el volumen de la suspensión administrada dependió de la viabilidad de los huevos, y del número de huevos contenidos en 100 µl de la suspensión. Se mantuvo a los animales dentro del laboratorio de Parasitología con alimentación y agua *ad libitum*, en óptimas condiciones de higiene y temperatura, dejando evolucionar la infección por un período de 30 días antes de proceder a la aplicación de los medicamentos de prueba.

3.4.5. Lotes de ratones de experimentación.

Se formaron 6 lotes de ratones blancos cepa CD-1, cada lote quedo conformado por 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 con tres dosis repetitivas (cada 24 horas) a intervalos mensuales con ivermectina (30, 50,90 y 120 días).

3.4.6. Tratamiento de los animales

Se administró a un mes de la infestación por vía subcutánea 200 µg/Kg de IVERMECTINA diluida con 60 % de propilenglicol y 40 % de glicerín formal (diluyentes), suministrando tres dosis del principio con intervalo de 24 horas con intervalos mensuales.

LOTES	INOCULADO	TRATADO	TRATAMIENTO POST INOCULACIÓN	SACRIFICIO POST INOCULACIÓN
Control (-)	NO	NO	----	DÍA 60
Control (+)	SI	NO	----	DÍA 60
Primer Tratamiento	SI	SI	DÍA 30	DÍA 60
Segundo Tratamiento	SI	SI	DÍA 60	DÍA 90
Tercer Tratamiento	SI	SI	DÍA 90	DÍA 120
Cuarto Tratamiento	SI	SI	DÍA 120	DÍA 150

Tabla 1: Esquema de tratamiento y sacrificio de los diferentes lotes utilizados para evaluar la actividad de la ivermectina suministrada en dosis repetitivas a intervalos mensuales.

Procesamiento de las muestras.

Cumplidos 30 días posteriores al tratamiento los animales se sacrificaron a los 60, 90, 120 y 150 días, se disecaron extrayendo los riñones, hígado, bazo, corazón, pulmones, cerebro, y un gramo de músculo esquelético.

Cada uno de estos órganos se cortó finamente y se colocó en una gasa misma que se introdujo en un tubo de ensaye conteniendo jugo gástrico artificial (3-6 ml de HCl concentrado y 6 g de pepsina), y se dejó reposar por 24 horas en una estufa de cultivo a 37 °C inicialmente para digerir y liberar las larvas y pasado ese tiempo se agitaron las gasas con los órganos digeridos dejándolos otras 24 horas a la misma temperatura para liberar a los organismos del material digerido.

Una vez transcurrido el tiempo de reposo, se extrajo la gasa con el tejido del tubo de ensaye y el sedimento se centrifugó con el fin de concentrar las larvas presentes en la suspensión a continuación el jugo gástrico se sustituyó por formol al 10% para fijar el material hasta su observación manteniéndolo en refrigeración, la observación del material se realizó depositándolo entre porta y cubreobjetos revisando al microscopio óptico la totalidad del material realizando un conteo de la totalidad de las larvas recuperadas de cada uno de los órganos procesados

En el caso del músculo esquelético sólo se procesó un gramo de muestra y posteriormente se multiplicó el número de larvas en el gramo de muestra por el número de gramos que pesaba la carcaza del ratón.

El proceso se llevó a cabo con los diferentes lotes de animales de los diferentes esquemas de tratamiento.

3.4.7. Tratamiento estadístico de los resultados

Los datos recolectados durante el proceso experimental se organizaron y condensaron en tablas y gráficos para su mejor comprensión. Posteriormente fueron sometidos a un análisis estadístico utilizando la prueba de análisis de varianza (ANOVA) con el fin de determinar la existencia de diferencias significativas en el número de larvas recuperadas entre los diferentes grupos tratados y el grupo sin tratamiento. Posteriormente se aplicó la prueba de Tukey (para determinar la Diferencia de Medias Mínima Significativa Honesta) la cual permite comparar la diferencia de medias entre cada grupo; en ambas pruebas se utilizó un $\alpha=0.05$ Por otra parte, se calculó el porcentaje de eficacia (% ξ) de cada tratamiento, con base en la disminución del conteo larvario, por medio de la ecuación de Westcot (Ver anexo 1)

4. RESULTADOS

En la presente experimentación los primeros lotes procesados fueron el control negativo (no inoculado y no tratado), el control positivo (inoculado y no tratado) y el lote que recibió solo un tratamiento. El lote Control Negativo no presentó larvas y nos sirvió para corroborar que los animales utilizados en la experimentación se encontraban libres de larvas de *Toxocara canis*.

Partiendo de los resultados encontrados en el lote de animales inoculados sin tratamiento (Control Positivo) y en los lotes que recibieron tratamiento se detectó la presencia de larvas de *Toxocara canis* en todos los ratones mostrando la migración larvaria en los diferentes órganos estudiados y con un promedio de asentamiento a nivel global de 258.2 larvas, se observó el asentamiento de las mismas en dos tejidos principalmente: **músculo esquelético** y **cerebro**. (Tabla 2), el resto de las larvas se establecieron en corazón, pulmón, riñón, e hígado

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis estadístico de la varianza para determinar diferencias estadísticas y se complementó con la prueba de Tukey para establecer las diferencias de medias honestas entre los grupos analizados, de igual manera se realizó el tratamiento estadístico para el total de larvas así como para los órganos de mayor asentamiento como son músculo esquelético y cerebro

RATÓN	CEREBRO	MÚSCULO	CORAZÓN	PULMÓN	RIÑÓN	HÍGADO	Σ
1	104	180	2	2	1	4	293
2	88	119	3	8	0	9	227
3	78	168	0	1	2	7	256
4	69	181	2	4	0	3	259
5	136	139	1	0	0	4	280
6	103	167	3	0	2	3	278
7	155	110	1	0	0	2	268
8	101	136	0	1	0	3	241
9	63	147	0	2	0	2	214
10	89	172	1	3	0	1	266
SUMA	986	1519	13	21	5	38	2582
PROMEDIO	98.6	151.9	1.3	2.1	0.5	3.8	258.2

Tabla 2: Número de larvas de *Toxocara canis* recuperadas de los diferentes tejidos en el lote inoculado y no tratado (Control positivo)

Dicha migración siguió el mismo patrón a lo largo de todo el experimento aunque en general, el número de larvas encontradas en cada órgano disminuyó tras la aplicación de cada tratamiento.

Al administrar el primer tratamiento de ivermectina en tres dosis repetitivas de 200 µg/kg con intervalo de 24 horas (vía subcutánea), se observó una disminución de larvas en todos los órganos con respecto al control positivo, la presencia promedio de larvas en cerebro fue de 71 y en músculo de 105.4 en promedio, en corazón de 0.6, en pulmón de 1.2, riñón 0.1 e hígado de 1.1 (Ver Tabla 3)

RATÓN	CEREBRO	MÚSCULO	CORAZÓN	PULMÓN	RIÑÓN	HÍGADO	Σ
1	111	60	3	1	0	0	175
2	23	123	0	0	0	2	148
3	45	95	0	2	0	1	143
4	75	76	0	2	1	1	155
5	91	152	1	1	0	2	247
6	65	127	1	1	0	0	194
7	89	102	0	0	0	1	192
8	85	82	0	0	0	0	167
9	71	106	0	3	0	1	181
10	55	131	1	2	0	3	192
SUMA	710	1054	6	12	1	11	1794
PROMEDIO	71	105.4	0.6	1.2	0.1	1.1	179.4

Tabla 3: Número de larvas de Toxocara canis recuperadas de los diferentes tejidos en los animales del lote inoculado y con el primer tratamiento.

En la Tabla 3 de los animales sacrificados a los 60 días se observa una disminución de larvas en cada uno de los órganos estudiados.

Cuando se administró una segunda dosis de ivermectina a los 90 días post-inoculación (Lote 2), se encontró la misma tendencia inicial de reducción de larvas con un nivel porcentual de disminución del 62.5 % con respecto al control positivo, el promedio de larvas en corazón, pulmón, riñón fue menor a 1, en hígado fue de 1, en cerebro el promedio fue de 44 larvas reduciéndose un 56% con respecto al control positivo y en músculo esquelético el promedio fue de 50.3 larvas reduciéndose un 67% con respecto al control positivo. (Tabla 4)

RATÓN	CEREBRO	MÚSCULO	CORAZÓN	PULMÓN	RIÑÓN	HÍGADO	Σ
1	86	65	0	1	0	2	154
2	41	39	1	2	0	0	83
3	21	78	0	2	1	1	103
4	58	46	0	0	0	3	107
5	52	71	2	0	0	0	125
6	24	20	1	1	0	1	47
7	14	49	0	2	0	2	67
8	43	31	0	1	0	0	75
9	33	48	0	0	0	0	81
10	68	56	1	0	0	1	126
SUMA	440	503	5	9	1	10	968
PROMEDIO	44	50.3	0.5	0.9	0.1	1	96.8

Tabla 4: Número de larvas de Toxocara canis recuperadas en los tejidos de los animales del lote inoculado con dos secuencias de tratamientos de ivermectina.

Para la tercera administración de ivermectina (lote 3), se encontró que en corazón, pulmón, riñón e hígado el promedio de larvas encontradas es menor a 1, en músculo esquelético y cerebro se encuentra la mayor concentración de larvas, en comparación con el resto de los órganos sin embargo, siguen manteniendo la tendencia de reducción de larvas con un promedio de 33.7 para músculo esquelético y con un promedio de 28.4 para cerebro, (Tabla 5) encontrándose en músculo esquelético un máximo de 59 larvas y un mínimo de 15; en el caso de cerebro el máximo fue de 69 larvas y el mínimo 11 encontradas. En esta administración de ivermectina el porcentaje total de reducción fue de 75.13 %, en el músculo esquelético fue de 77.8 % y en el caso de cerebro la reducción porcentual de larvas fue de 71.2 %

RATÓN	CEREBRO	MÚSCULO	CORAZÓN	PULMÓN	RIÑÓN	HÍGADO	Σ
1	22	15	0	1	0	0	38
2	11	42	1	0	0	2	56
3	69	35	3	0	0	0	107
4	20	37	0	1	0	1	59
5	13	16	0	0	0	0	29
6	21	53	0	3	0	5	82
7	22	21	0	2	0	1	46
8	50	27	0	0	0	0	77
9	21	32	0	0	0	0	53
10	35	59	0	1	0	0	95
SUMA	284	337	4	8	0	9	642
PROMEDIO	28.4	33.7	0.4	0.8	0	0.9	64.2

Tabla 5: Número de larvas de Toxocara canis recuperadas en los tejidos de los animales del lote inoculado y tratados con tres secuencias de tratamiento con ivermectina

En el último tratamiento de tres dosis repetitivas con 200 µg/kg de ivermectina (Lote 4), el número de larvas promedio encontradas disminuyeron en todos los órganos eficazmente con respecto al control positivo, en corazón, pulmón y riñón se encontró menos de 1 larva en promedio, en hígado se halló un ligero aumento de la concentración de larvas en promedio llegando a 1.2 larvas, y en cerebro y músculo esquelético se encontró 22.4 y 18.5 larvas respectivamente. Un hallazgo diferente con respecto al resto de los tratamientos ya que se encontró mayor cantidad de larvas en cerebro que en músculo esquelético, cambiando la tendencia al tratamiento de ivermectina. (Tabla 6), sin embargo sigue encontrándose una reducción porcentual total de 83.46 %, en el caso de músculo esquelético le porcentaje de reducción fue de 87.8 % y en el caso de cerebro fue de 77.3 % la reducción porcentual de larvas.

RATÓN	CEREBRO	MÚSCULO	CORAZÓN	PULMÓN	RIÑÓN	HÍGADO	Σ
1	9	33	1	1	0	0	44
2	24	27	0	1	0	0	52
3	16	12	0	0	0	3	31
4	31	19	0	0	0	1	51
5	57	9	0	0	0	0	66
6	18	21	0	1	0	0	40
7	33	23	1	0	0	1	58
8	12	15	0	1	0	0	28
9	21	4	0	0	0	1	26
10	17	6	0	0	0	6	29
11	8	35	0	0	0	1	44
SUMA	246	204	2	4	0	13	469
PROMEDIO	22.4	18.5	0.2	0.4	0.0	1.2	42.6

Tabla 6: Número de larvas de Toxocara canis recuperadas en los tejidos de los animales inoculados y sometidos a cuatro secuencias de tratamientos con ivermectina.

En la tabla 7 se agrupan los resultados referentes a los órganos analizados anteriormente, en cada uno de los lotes y se puede apreciar que las larvas se alojan principalmente en músculo esquelético y en cerebro respectivamente, así como la gradual reducción de las larvas encontradas directamente proporcional a los tratamientos recibidos de ivermectina. Además de que no hubo una gran concentración en el resto de los órganos como corazón, pulmón, riñón, e hígado, probablemente porque solo sirven de paso para la migración larvaria y rara vez se alojan en éstos órganos.

LOTES	CEREBRO	MÚSCULO	CORAZÓN	PULMÓN	RIÑÓN	HÍGADO
No tratado No Inoculado Control (-)	0	0	0	0	0	0
Inoculado No tratado Control (+)	98.6	151.9	1.3	2.1	0.5	3.8
Primer Tratamiento	71	105.4	0.6	1.2	0.1	1.1
Segundo Tratamiento	44	50.3	0.5	0.9	0.1	1
Tercer Tratamiento	28.4	33.7	0.4	0.8	0.0	0.9
Cuarto Tratamiento	22.4	18.5	0.2	0.4	0.0	1.2

Tabla 7: Valores promedio de larvas de *Toxocara canis* recuperadas en los órganos de los animales de todos los grupos de animales experimentales.

En la Tabla 8 se muestra el promedio de larvas de *Toxocara canis* halladas en los lotes que recibieron tratamiento. En esta tabla se puede observar el porcentaje de reducción de larvas de *Toxocara canis* se va incrementando conforme aumenta el número de tratamiento.

	Control Positivo	Primer Tratamiento	Segundo Tratamiento	Tercer Tratamiento	Cuarto Tratamiento
PROMEDIO DE LARVAS	258.2	179.4	96.8	64.2	42.6
PORCENTAJE DE REDUCCIÓN	0%	30.51%	62.50%	75.13%	83.48%

Tabla 8: Promedio y porcentaje de reducción de larvas de *Toxocara canis* encontradas en los lotes que recibieron tratamiento.

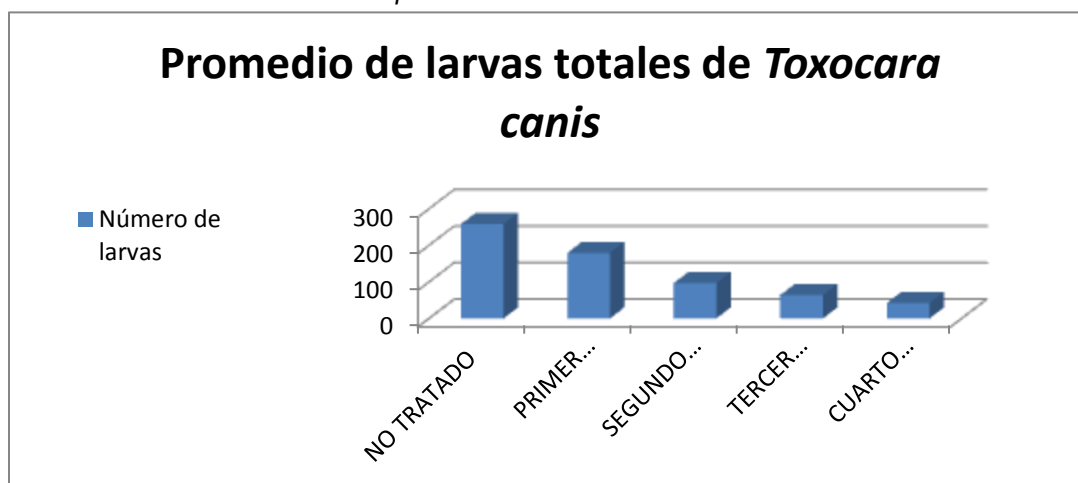


Gráfico 1: Comparativa de los valores promedio de larvas de *Toxocara canis* recuperadas en los tejidos de los animales de los diferentes lotes que recibieron tratamiento.

4.1. Análisis estadístico de los resultados.

TABLA DE ANOVA					
FUENTE DE VARIACIÓN	g.L.	SC	CM	Fc	F α , 0.05
TRATAMIENTO	4	326430.7643	81607.69	123.1137717	2.132
Error	46	30491.74545	662.864		
Total	50	356922.5098			

Tabla 9. Tabla de ANOVA aplicada a los valores en cuanto al número de larvas de *Toxocara canis* recuperadas en los lotes que recibieron tratamiento.

De los resultados de la ANOVA general se definen las siguientes hipótesis H_0 en la cual los tratamientos no actúan contra las larvas enquistadas y H_1 en la cual los tratamientos si actúan contra las larvas enquistadas

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$ Los tratamientos no actúan contra larvas enquistadas

$H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4$ Los tratamientos si actúan contra las larvas enquistadas.

En los resultados que se muestran en la tabla de ANOVA como la $F_c = 123.11 > F_{\alpha, 0.05} = 2.132$, se rechaza H_0 . Por tanto los tratamientos si actúan contra las larvas de *Toxocara canis* enquistadas en los tejidos de los ratones.

Teniendo estos resultados se procede a aplicar la prueba de Tukey (Tabla 10) para determinar la diferencia entre las medias de cada uno de los lotes, obteniendo que los valores son significativos, ya que cualquier diferencia entre dos medias se declara estadísticamente significativa si excede el valor de la Diferencia Mínima Significativa Honesta (DMSH)

PRUEBA DE TUKEY PARA EL TOTAL DE LARVAS ENCONTRADAS EN LOS LOTES		
COMPARACION	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
C+ - L1	258.2 - 179.4 = 78.8	C+>L1
C+ - L2	258.2 - 96.8 = 161.4	C+>L2
C+ - L3	258.2 - 64.2 = 194	C+>L3
C+ - L4	258.2 - 42.7 = 215.5	C+>L4
L1 - L2	179.4 - 96.8 = 82.6	L1>L2
L1 - L3	179.4 - 64.2 = 115.2	L1>L3
L1 - L4	179.4 - 42.7 = 136.7	L1>L4
L2 - L3	96.8 - 64.7 = 32.1	L2>L3
L2 - L4	96.8 - 42.7 = 54.1	L2>L4
L3 - L4	64.2 - 42.7 = 21.5	L3>L4

Tabla 10. Prueba de Tukey para determinar la diferencia de medias honestas entre los valores obtenidos de la totalidad de los lotes de animales

La disminución de larvas en cerebro entre los cuatro lotes que recibieron los tratamientos fue notorio, ya que se aprecia un descenso gradual en la cantidad de larvas (La media de 98.6 es mayor a la media de 71 que es mayor a la media de 44 que es mayor a la media de 28.4 que es mayor a la media de 22.4) (Tabla 11 y gráfica 2)

	CONTROL POSITIVO	PRIMER TRATAMIENTO	SEGUNDO TRATAMIENTO	TERCER TRATAMIENTO	CUARTO TRATAMIENTO
PROMEDIO DE LARVAS	98.6	71	44	28.4	22.4
PORCENTAJE DE REDUCCION	0.0 %	28.0 %	55.4 %	71.2 %	77.3 %

Tabla 11. Promedio y porcentaje de reducción de larvas de *Toxocara canis* recuperadas de tejido cerebral de los animales en todos los lotes que recibieron tratamiento.

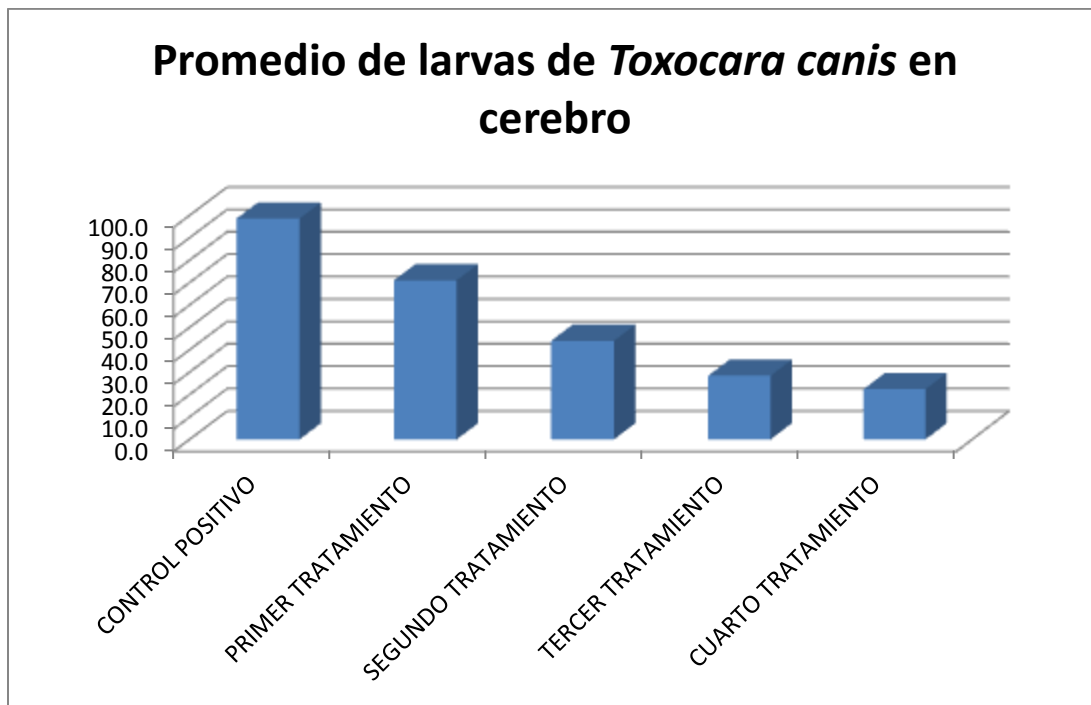


Gráfico 2. Comparativa del valor promedio de larvas de *Toxocara canis* encontradas en cerebro de cada uno de los lotes que recibieron tratamiento.

Se realizó el análisis de varianza del número de larvas de *Toxocara canis* encontradas en cerebro de todos los lotes que recibieron tratamiento observándose una diferencia significativa ($F_c=20.8618$ y $F_\alpha=2.132$) (Tabla 12)

TABLA DE ANOVA					
FUENTE DE VARIACIÓN	g.L.	SC	CM	Fc	F α , 0.05
TRATAMIENTO	4	41192.81141	10298.20285	20.86185425	2.132
Error	46	22707.34545	493.6379447		
Total	50	63900.15686			

Tabla 12. Tabla de ANOVA para larvas de Toxocara canis encontradas en cerebro en cada uno de los lotes que recibieron tratamiento.

Los resultados obtenidos al aplicar la prueba de Tukey al total de las larvas encontradas en cerebro mostraron significancia (Tabla 13)

PRUEBA DE TUKEY PARA EL TOTAL DE LARVAS ENCONTRADAS EN LOS LOTES DE CEREBRO						
COMPARACION	DIFERENCIA DE MEDIAS					SIGNIFICANCIA
C+ - L1	98.6	-	71.0	=	27.6	C+>L1
C+ - L2	98.6	-	44.0	=	54.6	C+>L2
C+ - L3	98.6	-	28.4	=	70.2	C+>L3
C+ - L4	98.6	-	22.4	=	76.2	C+>L4
L1 - L2	71	-	44.0	=	27.0	L1>L2
L1 - L3	71	-	28.4	=	42.6	L1>L3
L1 - L4	71	-	22.4	=	48.6	L1>L4
L2 - L3	44	-	28.4	=	15.6	L2>L3
L2 - L4	44	-	22.4	=	21.6	L2>L4
L3 - L4	28.4	-	22.4	=	6.0	L3>L4

Tabla 13. Prueba de Tukey para el total de larvas de Toxocara canis encontradas en cerebro en todos los lotes que recibieron tratamiento.

En el caso de músculo esquelético el número de larvas encontradas en cada uno de los lotes tuvo una disminución gradual y constante con un porcentaje de reducción del 30.6% al primer tratamiento, 66.9% al segundo tratamiento, 77.8% al tercer tratamiento y 87.8% al cuarto tratamiento, como se observa en la Tabla 14 y gráfico 3

	CONTROL POSITIVO	PRIMER TRATAMIENTO	SEGUNDO TRATAMIENTO	TERCER TRATAMIENTO	CUARTO TRATAMIENTO
PROMEDIO DE LARVAS	151.9	105.4	50.3	33.7	18.5
PORCENTAJE DE REDUCCION	0.0 %	30.6 %	66.9 %	77.8 %	87.8 %

Tabla 14. Promedio y porcentaje de reducción de larvas de Toxocara canis encontradas en músculo esquelético en todos los lotes que recibieron tratamiento.

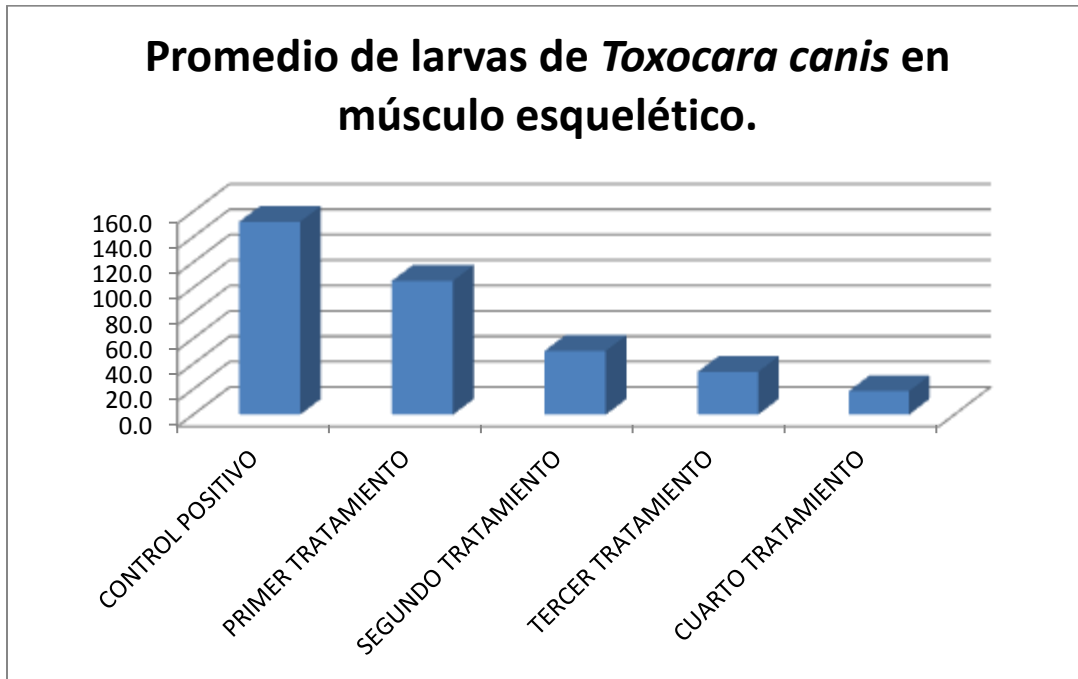


Gráfico 3. Comparativa del valor promedio de larvas de *Toxocara canis* encontradas en músculo esquelético de cada uno de los lotes que recibieron tratamiento.

En el caso de músculo esquelético el análisis de varianza del número de larvas de *Toxocara canis* encontradas fue significativo ($F_c=76.30$ y $F_{\alpha}=2.132$) Tabla 15

TABLA DE ANOVA					
FUENTE DE VARIACIÓN	g.L.	SC	CM	Fc	F α , 0.05
TRATAMIENTO	4	125745.459	31436.36475	76.30094119	2.132
Error	46	18952.22727	412.0049407		
Total	50	144697.6863			

Tabla 15. Tabla de ANOVA para larvas de *Toxocara canis* encontradas en músculo esquelético en cada uno de los lotes que recibieron tratamiento

En la tabla 16 se observa que al aplicar la prueba de Tukey a las larvas encontradas en músculo esquelético se obtuvieron diferencias significativas.

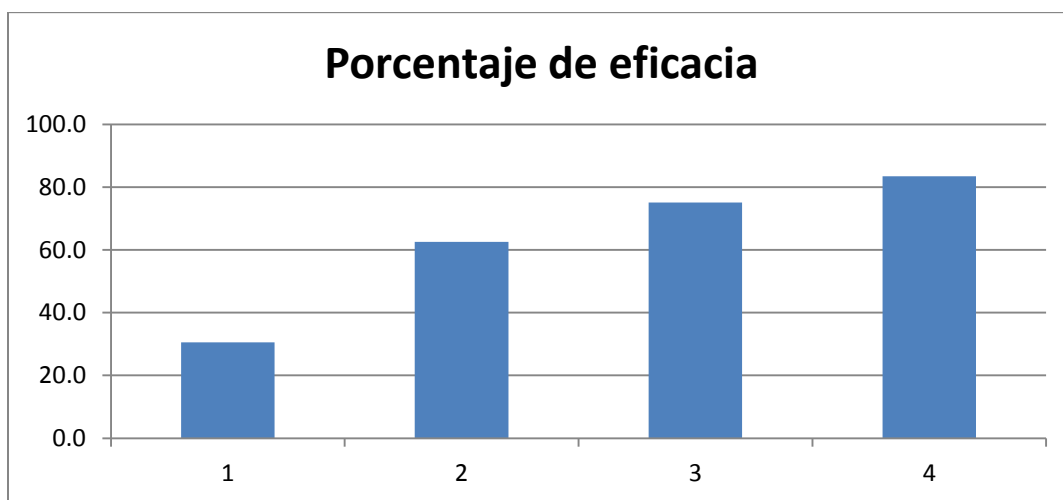
PRUEBA DE TUKEY PARA EL TOTAL DE LARVAS ENCONTRADAS EN MÚSCULO ESQUELÉTICO EN TODOS LOS LOTES						
COMPARACION	DIFERENCIA DE MEDIAS				SIGNIFICANCIA	
C+ - L1	151.9	-	105.4	=	46.5	C+>L1
C+ - L2	151.9	-	50.3	=	101.6	C+>L2
C+ - L3	151.9	-	33.7	=	118.2	C+>L3
C+ - L4	151.9	-	18.5	=	133.4	C+>L4
L1 - L2	105.4	-	50.3	=	55.1	L1>L2
L1 - L3	105.4	-	33.7	=	71.7	L1>L3
L1 - L4	105.4	-	18.5	=	86.9	L1>L4
L2 - L3	50.3	-	33.7	=	16.6	L2>L3
L2 - L4	50.3	-	18.5	=	31.8	L2>L4
L3 - L4	33.7	-	18.5	=	15.2	L3>L4

Tabla 16. Prueba de Tukey para el total de larvas de Toxocara canis encontradas en músculo esquelético en todos los lotes que recibieron tratamiento.

Después del tratamiento estadístico realizado para corroborar la significancia de los datos, se calculó el porcentaje de eficacia tomando como referencia los valores del control positivo (tabla 2) y se usan para ser comparadas con los lotes a los cuales se les administra el tratamiento (tabla 17)

	CONTROL POSITIVO	PRIMER	SEGUNDO	TERCER	CUARTO
PROMEDIO DE LARVAS	258.2	179.4	96.8	64.2	42.7
PORCENTAJE DE REDUCCION	0.0 %	30.51 %	62.5 %	75.13 %	83.46 %

Tabla 17. Tabla comparativa del porcentaje de eficacia de la eliminación de larvas de Toxocara canis en cada uno de los tratamientos.



Gráfica 4. Comparativa del porcentaje de eficacia de eliminación de las larvas de Toxocara canis en los lotes que recibieron tratamiento.

La tabla 18 muestra el porcentaje de eficacia en los órganos con mayor asentamiento de larvas; en cerebro (27.99 < 55.38 < 71.20 < 77.28) y en músculo esquelético (30.61 < 66.89 < 77.81 < 87.82), denotando un incremento en la eficacia del tratamiento de la ivermectina con respecto al número de tratamientos.

Órgano	PRIMER TRATAMIENTO	SEGUNDO TRATAMIENTO	TERCER TRATAMIENTO	CUARTO TRATAMIENTO
Cerebro	27.99 %	55.38 %	71.20 %	77.28 %
Músculo	30.61 %	66.89 %	77.81 %	87.82 %

Tabla 18. Tabla comparativa del porcentaje de la eficacia de la eliminación de larvas de Toxocara canis en cerebro y músculo esquelético en cada uno de los tratamientos.

En el Gráfico 5 se muestra que el mayor porcentaje de eficacia en cerebro y músculo esquelético se alcanzó con el cuarto tratamiento con porcentajes de 77.28 % y 87.82 % respectivamente.

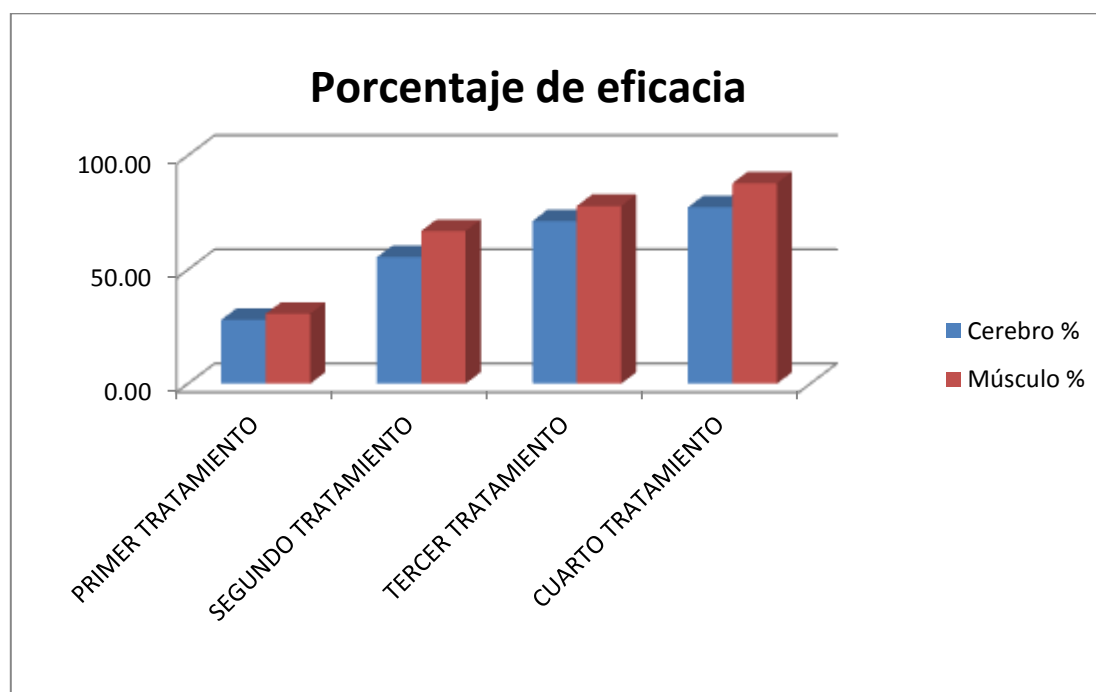


Gráfico 5. Comparativa del porcentaje de eficacia de eliminación de larvas de Toxocara canis del cerebro y músculo esquelético.

5. DISCUSIÓN

Debido a que la toxocariasis es una parasitosis muy común en el perro sobre todo en cachorros, y éste es un animal doméstico con estrecho contacto con los humanos con potencial para producir zoonosis resulta necesario buscar opciones que permitan el control de sus parásitos como *Toxocara canis*. En base a esto, se ha generado en la última década una enorme cantidad de estudios farmacológicos de las moléculas ya existentes, buscando optimizar la terapia antihelmíntica, así como tratamientos y estrategias que permitan la eliminación de las formas adultas del parásito y de manera más específica las fases larvarias con el fin de prevenir la transmisión lactogénica y transplacentaria, de igual forma contribuir a un mejor entendimiento de los problemas asociados al desarrollo de resistencia por parte de los helmintos a estos compuestos químicos.

En este trabajo se evaluó el efecto de la aplicación de tres dosis repetitivas de 200 µg/Kg a intervalos mensuales de ivermectina para determinar si resulta más efectiva para la eliminación del segundo estadio larvario del nematodo de *Toxocara canis* utilizando un modelo murino, cuya validez se basa en la similitud de comportamiento en la ruta migratoria del organismo entre roedores y humanos y los mecanismos patogénicos que se ponen en actividad.

La distribución de los estados larvarios inoculados en los animales, mostró el comportamiento ya identificado de migración que se ha descrito para los hospederos paraténicos, desarrollando el desplazamiento en prácticamente todos los órganos y presentando una mayor afinidad para su asentamiento definitivo en el tejido cerebral y la musculatura esquelética (Palmas B., López L. 2008) El tejido cerebral mostró el mayor nivel de concentración y esto ha sido explicado en función a que los mecanismos de respuesta inmune de este tejido son distintos ya que solo hay células de microglia (fagocitos locales), los cuales producen una respuesta inflamatoria de baja intensidad y solo bajo la condición de infección crónica. Estas reacciones se deben a que en otros órganos ocurre síntesis de colágeno y elastina asociada a la respuesta para que el tejido se restablezca e incluso se regenere; en cambio las células del sistema nervioso central tienen un limitado potencial regenerativo por lo cual resulta muy fácil asentarse en el cerebro y permanecer ahí indefinidamente, esa tendencia fue demostrada con el estudio estadístico (Tabla 10) al analizar la diferencia de medias honestas entre los valores obtenidos de la totalidad de los lotes de animales fue significativa.⁽¹⁾

Con el tratamiento de tres dosis repetitivas de 200 µg/Kg a intervalos mensuales de ivermectina, se observó un porcentaje acumulado de reducción de 83.48 % (Tabla 8)

proporcional al número de tratamientos que se encuentran dentro del rango de reducción esperado.

Los resultados obtenidos después del análisis de varianza (Tabla 9) de los diferentes grupos tratados y el grupo control inoculado y no tratado mostraron que la ivermectina generó un porcentaje de reducción de larvas (Tabla 8) que era más notoria conforme se incrementaba el número de tratamientos, es decir que con el primer tratamiento aplicado a los 30 días post inoculación la reducción de larvas en cerebro fue de 28 % en tanto que en el cuarto tratamiento a los 120 días fue de 77.3 % (Tabla 11) y en el caso de músculo esquelético la reducción fue de 30.6 %, en tanto que en el cuarto tratamiento fue de 87.8% de las que un alto porcentaje pueden ser las larvas que se han desplazado del cerebro a los tejidos musculares al ser afectadas las que ocupaban originalmente esos tejidos, por lo que al aplicar la prueba de Tukey para determinar diferencias entre medias de los grupos tratados determinó que los valores obtenidos fueron estadísticamente significativos.

Uno de los objetivos particulares fue el de obtener el porcentaje de eficacia con respecto al número de tratamientos administrados, la cual se calculó utilizando la ecuación de Westcot observándose la mayor eficacia en el cuarto tratamiento con un porcentaje de 83.46 % (Tabla 17). Al someter a tratamiento con ivermectina a los ratones infectados con las larvas la eficacia fue progresivamente mayor contra éstas conforme se incrementaban los tratamientos, ésta tendencia hace suponer que si se continúa con el suministro de tratamientos el porcentaje de reducción de larvas hubiera sido mayor y probablemente eliminado a la totalidad de las larvas, por lo que se podría plantear un nuevo trabajo con más tratamientos. Es importante considerar que en este trabajo se usaron tres tratamientos seguidos con intervalo de 24 horas suministrados mensualmente a diferencia de otros trabajos con dosis únicas, dosis a intervalos mensuales y otros esquemas con ivermectina o con otros principios activos)

Entre los antecedentes que existen de dosificación y estrategias de suministro de antiparasitarios podemos mencionar los siguientes:

Martínez y Col. (1993), realizaron un estudio donde se evaluó al metrifonato, junto con nitroscanate y dietilcarbamacina. El metrifonato demostró tener un 75 % de eficacia aplicándose dos dosis de 25 mg/Kg a los 18 y 21 postinfección. Cuando se administró una dosis de 50 mg/Kg presentó una eficacia del 43 % y esta aumentó a un 86 % al aplicar dos tratamientos usando la misma dosis que son los valores alcanzados en este trabajo con la consideración de que este estudio se realizó hace 20 años y que durante este lapso se han producido cambios en el concepto de la tenencia de mascotas, que un mayor porcentaje de estas son sometidas a desparasitación con una gran variedad de productos comerciales

y que el empleo de estos productos ha venido impactando en varios sentidos en la presencia, distribución y comportamiento de los organismos parasitarios.

Velebný y Col. (2000) utilizaron formulaciones liposomales de albendazol con glucanos administrándolo subcutáneamente a ratones inoculados con larvas de *Toxocara canis* usando dosis de 25 mg/Kg, 2 veces al día durante 5 días después del día 28 postinfección, encontraron una eficacia del 62.8 % en el músculo y del 88 % en el cerebro. Esta formulación liposomizada permite una liberación gradual y efectiva del principio logrando un 92.2 % de efectividad, sin embargo, este tipo de formulaciones requiere de tecnología farmacéutica que incrementa el costo del tratamiento. En esta tesis se aplicó por vía subcutánea a ratones inoculados con larvas de *Toxocara canis* con una dosis de 200 µg/Kg de ivermectina durante 3 días 30 días postinfección, por lo que se logró observar una eficacia mayor en músculo con un 87.82 %, sin embargo en cerebro tuvo una eficacia menor con un 77.28% por lo que se podría atribuir a la liberación gradual del fármaco al ser liposomizada y a la imposibilidad de que este fármaco atraviese la barrera hematoencefálica.

Enríquez y Martínez, (2004) con un esquema de tratamiento de 30, 60, 90 días postinfección con selamectina a dosis de 6 µg/Kg por vía epicutánea, encontraron una importante eliminación de larvas desde el primer tratamiento en músculo con 91.48 % y 86.04 % en cerebro, en el segundo fue de 92.25 % en músculo y para cerebro un 94.4 % y en el último tratamiento hubo una eliminación del 100 % para músculo y para cerebro del 98.66 %; se ha determinado que la selamectina se caracteriza por su persistencia sistémica en el plasma y su lento metabolismo que proporciona concentraciones eficaces durante el intervalo entre dosis, características que le son conferidas debido a la composición química de la molécula, que la hace más estable. El valor obtenido en este trabajo en cuanto a eficacia fue menor (músculo esquelético 87.82 % y en cerebro de 77.28 %) aún cuando este fármaco presenta un mecanismo similar a la ivermectina, la desventaja actual de la selamectina es que el costo de tratamiento es más elevado con respecto a la ivermectina. Una de las diferencias que se le puede atribuir entre estos trabajos es la persistencia sistémica en el plasma y su lento metabolismo lo que permite que esté más tiempo en el sistema, así como la diferencia estructural de la molécula que la hace más efectiva.

Jaramillo (2005) evaluó el efecto antiparasitario de albendazol suministrado a dosis de 5, 50, 100 y 400 mg/Kg sobre larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones, obteniendo una eficacia de 19.32 %, 33.62 %, 38.68 % y 41.91 % respectivamente indicando que a mayor dosis de albendazol mayor es la capacidad para matar larvas. Lo que se logra observar es que la ivermectina tiene mayor capacidad para matar larvas de *Toxocara*

canis con una dosis de 200 µg/Kg a diferencia del albendazol, que a pesar de utilizar diversas dosis no logró tener una eficacia similar a la que tuvo la ivermectina en este trabajo.

Olivares y Vargas (2008) evaluaron el efecto antiparasitario del Fenbendazol sobre larvas de *Toxocara canis*, utilizaron una dosis mensual de 5 mg/Kg dosis por 4 meses con una efectividad máxima global del 73 %, comparándolo con los resultados de este trabajo se puede observar que el porcentaje obtenido es mayor (83.46 %)

Por otro lado las lactonas macrocíclicas son un grupo de principios que surge en los 80's, la selamectina es de la clase de las avermectinas que presentan una estructura química parecida y posee propiedades similares en lo referente a su espectro de actividad considerados como candidatos para eliminar las larvas de nematodos (entre ellos *Toxocara canis*) superiores a otros principios conocidos.

Desde 1984 se han realizado experimentos con la ivermectina a dosis de 4 – 1000 µg/Kg arrojando resultados diversos, es importante citarlos ya que esto brinda un panorama acerca de cómo se ha comportado la eficacia de este principio en este lapso.

De estas experimentaciones podemos citar las investigaciones sobre la eficacia de la ivermectina como tratamiento contra larvas de *Toxocara canis* al estudio de Abo-Shehada y Herbert (1984) quienes encontraron una reducción del número de larvas aplicando ivermectina (con dosis de 200 µg/Kg vía oral o subcutánea) así como levamisol (100 mg/Kg y 150 mg/Kg subcutáneo), fenbendazol (100 mg/Kg vía oral) y albendazol (100 mg/Kg vía oral) al día 35 de inoculados, describiendo una disminución del 70 % del parasitismo total con levamisol oral, mientras que el tratamiento subcutáneo se alcanzó una reducción del 65 %, en el caso de la ivermectina hubo una reducción del 80 % tanto de la forma oral como para la subcutánea. Para el caso del fenbendazol la reducción fue del 20 %, mientras que para el albendazol fue del 38 % del parasitismo total con respecto al control.⁽¹⁰⁾

Martínez y Col (1993) en otro ensayo detecta que el producto más eficaz a dosis única contra larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratón, fue la ivermectina (0.2 mg/Kg vía subcutánea) con un 91 % de efectividad. Al comparar resultados con el presente modelo, en el cual se utilizan dosis repetitivas a intervalos mensuales se observa que es inferior al esperado, puesto que los resultados esperados serían eliminación total debido al tiempo de tratamiento.

Fok y Kassai (1998) administraron ivermectina (0.6 mg/Kg subcutánea, oral en el alimento) y otros principios (fenbendazol, flubendazol, oxibendazol y albendazol) por un lapso de 10 días, tuvieron una reducción del 33.5 % de larvas para el caso de la ivermectina administrada oralmente y de 10.5 % de reducción de larvas aplicando ivermectina

subcutánea, lo cual indica que esas dosis elevadas de ivermectina aplicadas subcutáneamente (0.6 mg/Kg) y por un lapso de 10 días consecutivos tuvieron un desempeño muy pobre para eliminar larvas lo cual nos puede hacer pensar que las poblaciones de gusanos de éstos animales han sido muy expuestos a este tipo de principios en Hungría lugar donde se realizó el estudio, lo cual ha hecho menos eficientes a los principios y las dosis debido a posible resistencia creada por el contacto continuo a este principio.

González y Morales (2002) evaluaron la efectividad antiparasitaria de tres principios de la familia de las lactonas macrocíclicas: ivermectina, moxidectina y doramectina contra larvas enquistadas de *Toxocara canis*, utilizaron una dosis única de 200 µg/Kg y el principio que mostró la mayor eficacia fue la ivermectina 50.8 %, la doramectina tuvo una eficacia intermedia de 25.5 % y finalmente la moxidectina fue la que tuvo la eficacia más baja con 17.5 %, este estudio muestra el porcentaje más bajo de efectividad desde la entrada al mercado de la ivermectina, aún utilizando el mismo esquema propuesto por Martínez (1993) aplicando una dosis única a los 30 días post inoculación.

López y Mejía (2003) detectaron que la aplicación de dosis repetitivas de ivermectina en 200 µg/Kg de peso vivo, aplicada subcutáneamente, fue altamente eficaz 58.1 % con un tratamiento y 88.58 % de eliminación después de cinco tratamientos mensuales, reduciendo significativamente las larvas encontradas en cerebro y músculo esquelético, tejido en el que se vio una reducida tendencia al asentamiento. En el presente estudio se obtuvieron resultados muy parecidos al utilizar 200 µg/Kg de ivermectina en dosis repetitivas a intervalos mensuales demostrando que esta dosis es altamente efectiva en el tratamiento en contra de larvas enquistadas de *Toxocara canis* ya que se redujo de forma significativa las larvas que se encontraron en cerebro y músculo esquelético.

Acosta S. N., (2004) verificó la actividad de diferentes niveles de dosificación de ivermectina contra larvas enquistadas contra larvas de *Toxocara canis* en ratones, obteniendo como resultado que la eficacia con dosis de menor concentración como por ejemplo las de 4 y 50 µg/Kg se obtenía un porcentaje de 11.83 % y 20.34 % respectivamente y con dosis de mayor concentración como las de 400, 800 y 1000 µg/Kg obtuvo 51.34 %, 61 % y 68.74 % de eficacia respectivamente. El porcentaje obtenido en el presente trabajo supera al obtenido por Acosta aún usando 200 µg/Kg, lo cual puede ser debido a la administración repetitiva a intervalos mensuales. Lo que se logra comparar entre el estudio de Acosta S.N., (2004) y el presente trabajo es que las dosis de mayor concentración a partir de 200 µg/Kg son altamente efectivas en contra de la infestación por larvas de *Toxocara canis* en los tejidos de cerebro y músculo esquelético, y en este estudio al manejar dosis repetitivas a intervalos mensuales se logró una eficacia

mayor que al dar una sola dosis que es una gran ventaja en el tratamiento de esta infestación, sin embargo se requiere de mayor tiempo al administrar dosis repetitivas con intervalos mensuales y no se logró una efectividad del 100% en la eliminación de esta infestación.

Fernández y Ortiz (2004) evaluaron el uso de la asociación de ivermectina (200 µg/Kg) albendazol (5 mg/Kg) utilizando cuatro tratamientos mensuales, encontraron que la remoción obtenida con el uso de la asociación ivermectina-albendazol usada a una sola dosis es del 3.9 %, para la segunda dosis 53.51 %, para la tercera dosis del 55.03 % y para la cuarta dosis del 91.35 % del parasitismo total. Encontraron una reducción del 50 % en cerebro y del 90 % en músculo esquelético, y observaron que el mejor efecto se presentó con los dos primeros tratamientos, en éste caso se ha descrito que el albendazol puede atravesar la barrera hematoencefálica y esta característica puede ser favorable para eliminar un mayor porcentaje de larvas en cerebro y la efectividad puede ser mayor si la dosis es incrementada de acuerdo a los datos disponibles. El trabajo de Fernández y Ortiz (2004) tienen gran similitud con el presente trabajo en cuanto a la eficacia y porcentaje de reducción en contra de las larvas de *Toxocara canis*, sin embargo una ventaja que tiene el trabajo de Fernández y Ortiz (2004) es el uso del albendazol ya que este medicamento logra atravesar la barrera hematoencefálica y logra eliminar las larvas en cerebro a diferencia de la ivermectina que no logra atravesar la barrera hematoencefálica.

Los resultados obtenidos en esta experimentación indican una gran efectividad a dosis terapéutica de la ivermectina en contra de las larvas de *Toxocara canis*. Sin embargo no hubo una reducción del 100 % de larvas y en comparación con los resultados a los trabajos citados anteriormente se propone continuar evaluando la ivermectina a otras dosis y de forma repetitiva o con más tratamientos mensuales con la inclusión de un sexto y aún un séptimo tratamiento o más con el propósito de eliminar en la totalidad a las larvas de *Toxocara canis* y mejorar la actividad antiparasitaria.

Al comparar los resultados con los estudios reportados en los últimos 20 años éste trabajo muestra una reducción total de larvas del 83.48 %, que se encuentra dentro del rango de efectividad esperado; anteriormente (López y Mejía 2003) usaron un estudio en el que se uso el esquema de dosis únicas mensuales, en el que se encontraron resultados muy semejantes, por lo que se puede considerar que los tratamientos con tres dosis repetitivas a intervalos mensuales y con un largo tratamiento podría llegar a una eficacia de reducción del 100% de las larvas, por lo que este estudio queda a consideración para su subsecuente análisis

6. CONCLUSIONES

La ivermectina tuvo un efecto antiparasitario, para eliminar infecciones por estadios larvarios de *Toxocara canis* en los ratones inoculados.

Los resultados obtenidos sugieren que la ivermectina administrada subcutáneamente a dosis de 200 µg/Kg en tres dosis repetitivas a intervalos mensuales durante 120 días en el modelo experimental con ratones hembras CD1, generó una remoción de la larvas de *Toxocara canis* encontrando que a los 30 días se obtuvo un porcentaje de reducción de 30.51 % a los 60 días de 62.50 % a los 90 días de 75.13 % y a los 120 días de 83.48 % del total de larvas de *Toxocara canis*

Si bien no se produce la eliminación total de los estadios larvarios de *Toxocara canis*, si causan una reducción gradual de éstas, la cual va en aumento conforme se avanza en la aplicación de los tratamientos. Por lo cual en siguientes estudios se puede aumentar el número de tratamientos para garantizar el 100 % de reducción de los estadios larvarios de *Toxocara canis*.

En el caso de la disminución de las larvas existentes en cerebro en el primer tratamiento realizado a los 30 días post inoculación la reducción de larvas fue de 28.0 % al segundo tratamiento de 55.4 %, al tercer tratamiento de 71.2 % y al cuarto tratamiento de 77.3 %

En el caso de músculo esquelético la reducción mostrada en el primer tratamiento hecho a los 30 días post inoculación fue de 30.6 % en el segundo de 66.9 % en el tercer tratamiento de 77.8 % y en el cuarto 87.8 %, de las que un alto porcentaje pueden ser las larvas que se han desplazado del cerebro a los tejidos musculares al ser afectados por esta parasitosis.

Perspectivas:

Un modelo interesante que se podría plantear a futuro sería utilizar la misma metodología pero en un intervalo de mayor tiempo, ya que la reducción de larvas fue gradual pero no se logró llegar al 100% de la eliminación de las larvas.

Otro de los modelos que se podría aplicar sería el uso combinado con otros antiparasitarios para lograr una reducción mayor de eliminación de las larvas de *Toxocara canis*.

O bien manejar un modelo similar pero con experimentación en perros, para observar su efectividad en la eliminación de las larvas de *Toxocara canis*.

ANEXO 1. PROCEDIMIENTOS ESTADÍSTICOS Y PORCENTAJE DE EFICACIA DE IVERMECTINA

1. Análisis de varianza del total del larvas de *Toxocara canis* encontradas en los lotes tratados y el no tratado.

RATÓN	INOCULADO NO TRATADO Control (+)	Primer Tratamiento	Segundo Tratamiento	Tercer Tratamiento	Cuarto Tratamiento	Σ
1	293	175	154	38	44	704
2	227	148	83	56	52	566
3	256	143	103	107	31	640
4	259	155	107	59	51	631
5	280	247	125	29	66	747
6	278	194	47	82	40	641
7	268	192	67	46	58	631
8	241	167	75	77	28	588
9	214	181	81	53	26	555
10	266	192	126	95	29	708
11					44	44
SUMA	2582	1794	968	642	469	6455
PROMEDIO	258.2	179.4	96.8	64.2	42.6	

H₀: μ₁ = μ₂ = μ₃ = μ₄

Los tratamientos no actúan contra larvas enquistadas

H₁: μ₁ ≠ μ₂ ≠ μ₃ ≠ μ₄

Los tratamientos si actúan contra las larvas enquistadas.

Donde t = 5 y N = 51

$$C = \frac{G^2}{N} = \frac{(6455)^2}{51} = 817000.49$$

Suma de cuadrados

$$SCTL = \sum_{I=1} \sum_{J=1} x^2 - C$$

$$SCTL = [293^2 + 227^2 + 256^2 + 259^2 + 280^2 + 278^2 + 268^2 + 241^2 + 214^2 + 266^2 + 175^2 + 148^2 + 143^2 + 155^2 + 247^2 + 194^2 + 192^2 + 167^2 + 181^2 + 192^2 + 154^2 + 83^2 + 103^2 + 107^2 + 125^2 + 47^2 + 67^2 + 75^2 + 81^2 + 126^2 + 38^2 + 56^2 + 107^2 + 59^2 + 29^2 + 82^2 + 46^2 + 77^2 + 53^2 + 95^2 + 44^2 + 52^2 + 31^2 + 51^2 + 66^2 + 40^2 + 58^2 + 28^2 + 26^2 + 29^2 + 44^2] - 817000.49 = 356922.51$$

$$SCTR = \frac{\sum_{i=1}^5 x^2}{r - C}$$

$$SCTR = (2582)^2/10 + (1794)^2/10 + (968)^2/10 + (642)^2/10 + (469)^2/11 - 817000.49 = 326430.764$$

$$SCER = SCTL - SCTR$$

$$SCER = 356922.51 - 326430.764 = 30491.7455$$

Grados de libertad

Para tratamiento (g.L. TR): $(t-1) = 5-1 = 4$

Para error (g.L. ER) : $(N-t) = 51-5 = 46$

Para el total (g.L. TL) : $(N-1) = 51-1 = 50$

Cuadrados medios

$$CMTR = SCTR \div \text{g.L. TR} = 326430.764 / 4 = 81607.69109$$

$$CMER = SCER \div \text{g.L. ER} = 30491.7455 / 46 = 662.8640316$$

Valor de Fc

$$F_c = \frac{CMTR}{CMER} = \frac{81607.69109}{662.8640316} = 123.1137717$$

Tabla de ANOVA

TABLA DE ANOVA					
FUENTE DE VARIACIÓN	g.L.	SC	CM	Fc	F α , 0.05
TRATAMIENTO	4	326430.7643	81607.69109	123.1137717	2.132
Error	46	30491.74545	662.8640316		
Total	50	356922.5098			

Como la $F_c = 123.11 > F_{\alpha, 0.05} = 2.132$, se rechaza H_0 . Por tanto los tratamientos si actúan contra las larvas de *Toxocara canis* enquistadas en los tejidos de los ratones.

2. Prueba de Tukey para el total de las larvas de *Toxocara canis* encontradas en los lotes tratados y el no tratado.

	CONTROL POSITIVO	PRIMER TRATAMIENTO	SEGUNDO TRATAMIENTO	TERCER TRATAMIENTO	CUARTO TRATAMIENTO
PROMEDIO DE LARVAS	258.2	179.4	96.8	64.2	42.7

$$DMSH = [q\alpha, t, g.L.] \cdot s\bar{x}$$

Donde: $\alpha=0.05$

t = 5

g.L.ER = 46

Por lo tanto tenemos q 0.05, 5, 46 = 4.039 (Que se saca de tablas)

$$s\bar{x} = \sqrt{\frac{2S}{r}} = \sqrt{\frac{2CMER}{n/Tx}} = \sqrt{\frac{2(662.8640316)}{10.2}} = 11.4005851$$

$$DMSH = (4.039)(11.4005851) = 46.046963$$

PRUEBA DE TUKEY PARA EL TOTAL DE LARVAS ENCONTRADAS EN LOS LOTES		
COMPARACION	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
C+ - L1	258.2 - 179.4 = 78.8	C+>L1
C+ - L2	258.2 - 96.8 = 161.4	C+>L2
C+ - L3	258.2 - 64.2 = 194	C+>L3
C+ - L4	258.2 - 42.7 = 215.5	C+>L4
L1 - L2	179.4 - 96.8 = 82.6	L1>L2
L1 - L3	179.4 - 64.2 = 115.2	L1>L3
L1 - L4	179.4 - 42.7 = 136.7	L1>L4
L2 - L3	96.8 - 64.7 = 32.1	L2>L3
L2 - L4	96.8 - 42.7 = 54.1	L2>L4
L3 - L4	64.2 - 42.7 = 21.5	L3>L4

3. Análisis de varianza para el total de larvas de *Toxocara canis* encontradas en cerebro en los lotes que recibieron tratamiento.

Ratón	INOCULADO NO TRATADO Control (+)	Primer Tratamiento	Segundo Tratamiento	Tercer Tratamiento	Cuarto Tratamiento	Σ
1	104	111	86	22	9	332
2	88	23	41	11	24	187
3	78	45	21	69	16	229
4	69	75	58	20	31	253
5	136	91	52	13	57	349
6	103	65	24	21	18	231
7	155	89	14	22	33	313
8	101	85	43	50	12	291
9	63	71	33	21	21	209
10	89	55	68	35	17	264
11					8	8
SUMA	986	710	440	284	246	2666
PROMEDIO	98.6	71	44	28.4	22.4	

H₀: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

Los tratamientos no actúan contra larvas enquistadas en cerebro

H₁: $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4$

Los tratamientos si actúan contra las larvas enquistadas en cerebro

Donde t = 5 y N = 51

$$C = \frac{G^2}{N} = \frac{(2666)^2}{51} = 139363.843$$

Suma de cuadrados

$$SCTL = \sum_{I=1} \sum_{J=1} x^2 - C$$

$$SCTL = [104^2 + 88^2 + 78^2 + 69^2 + 136^2 + 103^2 + 155^2 + 101^2 + 63^2 + 89^2 + 111^2 + 23^2 + 45^2 + 75^2 + 91^2 + 65^2 + 89^2 + 85^2 + 71^2 + 55^2 + 86^2 + 41^2 + 21^2 + 58^2 + 52^2 + 24^2 + 14^2 + 43^2 + 33^2 + 68^2 + 22^2 + 11^2 + 69^2 + 20^2 + 13^2 + 21^2 + 22^2 + 50^2 + 21^2 + 35^2 + 9^2 + 24^2 + 16^2 + 31^2 + 57^2 + 18^2 + 33^2 + 12^2 + 21^2 + 17^2 + 8^2] - 139363.843 = 63900.1569$$

$$SCTR = \frac{\sum_{l=1}^5 x^2}{r - C}$$

$$SCTR = (986)^2/10 + (710)^2/10 + (440)^2/10 + (284)^2/10 + (246)^2/11 - 139363.843 = 41192.8114$$

$$SCER = SCTL - SCTR$$

$$SCER = 63900.1569 - 41192.8114 = 22707.3455$$

Grados de libertad

Para tratamiento (g.L. TR): (t-1) = 5-1 = **4**

Para error (g.L. ER) : (N-t) = 51-5 = **46**

Para el total (g.L. TL) : (N-1) = 51-1 = **50**

Cuadrados medios

$$CMTR = SCTR \div \text{g.L. TR} = 41192.8114 / 4 = 10298.20285$$

$$CMER = SCER \div \text{g.L. ER} = 22707.3455 / 46 = 493.6379447$$

Valor de Fc

$$Fc = \frac{CMTR}{CMER} = \frac{10298.20285}{493.6379447} = 20.86185425$$

Tabla de ANOVA

TABLA DE ANOVA					
FUENTE DE VARIACIÓN	g.L.	SC	CM	Fc	Fα, 0.05
TRATAMIENTO	4	41192.81141	10298.20285	20.86185425	2.132
Error	46	22707.34545	493.6379447		
Total	50	63900.15686			

Como la $F_c = 20.86185425 > F_{\alpha, 0.05} = 2.132$, se rechaza H_0 . Por tanto los tratamientos sí actúan contra las larvas de *Toxocara canis* enquistadas en el cerebro de los ratones.

4. Prueba de Tukey para el total de las larvas de *Toxocara canis* encontradas en el cerebro de todos los lotes que recibieron tratamiento.

	CONTROL POSITIVO	PRIMER TRATAMIENTO	SEGUNDO TRATAMIENTO	TERCER TRATAMIENTO	CUARTO TRATAMIENTO
PROMEDIO DE LARVAS	98.6	71	44	28.4	22.4

$$DMSH = [q\alpha, t, g.L.] x^5$$

Donde: $\alpha=0.05$

t = 5

g.L.ER = 46

Por lo tanto tenemos $q\ 0.05, 5, 46 = 4.039$ (Que se saca de tablas)

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{2S}{r}} = \sqrt{\frac{2CMER}{n/Tx}} = \sqrt{\frac{2(493.6379447)}{10.2}} = 9.83828003$$

$$DMSH = (4.039)(9.83828003) = 39.736813$$

PRUEBA DE TUKEY PARA EL TOTAL DE LARVAS ENCONTRADAS EN LOS LOTES DE CEREBRO						
COMPARACION	DIFERENCIA DE MEDIAS					SIGNIFICANCIA
C+ - L1	98.6	-	71.0	=	27.6	C+>L1
C+ - L2	98.6	-	44.0	=	54.6	C+>L2
C+ - L3	98.6	-	28.4	=	70.2	C+>L3
C+ - L4	98.6	-	22.4	=	76.2	C+>L4
L1 - L2	71	-	44.0	=	27.0	L1>L2
L1 - L3	71	-	28.4	=	42.6	L1>L3
L1 - L4	71	-	22.4	=	48.6	L1>L4
L2 - L3	44	-	28.4	=	15.6	L2>L3
L2 - L4	44	-	22.4	=	21.6	L2>L4
L3 - L4	28.4	-	22.4	=	6.0	L3>L4

5. Análisis de varianza para el total de larvas de *Toxocara canis* encontradas en músculo esquelético en los lotes que recibieron tratamiento.

LOTES	INOCULADO NO TRATADO Control (+)	Primer Tratamiento	Segundo Tratamiento	Tercer Tratamiento	Cuarto Tratamiento	Σ
1	180	60	65	15	33	353
2	119	123	39	42	27	350
3	168	95	78	35	12	388
4	181	76	46	37	19	359
5	139	152	71	16	9	387
6	167	127	20	53	21	388
7	110	102	49	21	23	305
8	136	82	31	27	15	291
9	147	106	48	32	4	337
10	172	131	56	59	6	424
11					35	35
SUMA	1519	1054	503	337	204	3617
PROMEDIO	151.9	105.4	50.3	33.7	18.5	

Ho: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

Los tratamientos no actúan contra larvas enquistadas en músculo esquelético

H₁: $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4$

Los tratamientos si actúan contra las larvas enquistadas en músculo esquelético

Donde t = 5 y N = 51

$$C = \frac{G^2}{N} = \frac{(3617)^2}{51} = 256523.314$$

Suma de cuadrados

$$SCTL = \sum_{l=1} \sum_{j=1} x^2 - C$$

$$SCTL = [180^2 + 119^2 + 168^2 + 181^2 + 139^2 + 167^2 + 110^2 + 136^2 + 147^2 + 172^2 + 60^2 + 123^2 + 95^2 + 76^2 + 152^2 + 127^2 + 102^2 + 82^2 + 106^2 + 131^2 + 65^2 + 39^2 + 78^2 + 46^2 + 71^2 + 20^2 + 49^2 + 31^2 + 48^2 + 56^2 + 15^2 + 42^2 + 35^2 + 37^2 + 16^2 + 53^2 + 21^2 + 27^2 + 32^2 + 59^2 + 33^2 + 27^2 + 12^2 + 19^2 + 9^2 + 21^2 + 23^2 + 15^2 + 4^2 + 6^2 + 35^2] - 256523.314 = 144697.686$$

$$SCTR = \frac{\sum_{l=1}^5 x^2}{r - C}$$

$$SCTR = (1519)^2/10 + (1054)^2/10 + (503)^2/10 + (337)^2/10 + (204)^2/11 - 256523.314 = 125745.459$$

$$SCER = SCTL - SCTR$$

$$SCER = 144697.686 - 125745.459 = 18952.2273$$

Grados de libertad

Para tratamiento (g.L. TR): (t-1) = 5-1 = **4**

Para error (g.L. ER) : (N-t) = 51-5 = **46**

Para el total (g.L. TL) : (N-1) = 51-1 = **50**

Cuadrados medios

$$CMTR = SCTR \div \text{g.L. TR} = 125745.459 / 4 = 31436.36475$$

$$CMER = SCER \div \text{g.L. ER} = 18952.2273 / 46 = 412.0049407$$

Valor de Fc

$$F_c = \frac{CMTR}{CMER} = \frac{31436.36475}{412.0049407} = 76.30094119$$

Tabla de ANOVA

TABLA DE ANOVA					
FUENTE DE VARIACIÓN	g.L.	SC	CM	Fc	Fα, 0.05
TRATAMIENTO	4	125745.459	31436.36475	76.30094119	2.132
Error	46	18952.22727	412.0049407		
Total	50	144697.6863			

Como la $F_c = 76.30094119 > F_{\alpha, 0.05} = 2.132$, se rechaza H_0 . Por tanto los tratamientos si actúan contra las larvas de *Toxocara canis* enquistadas en el músculo esquelético de los ratones.

6. Prueba de Tukey para el total de las larvas de *Toxocara canis* encontradas en el músculo esquelético de todos los lotes que recibieron tratamiento.

	CONTROL POSITIVO	PRIMER TRATAMIENTO	SEGUNDO TRATAMIENTO	TERCER TRATAMIENTO	CUARTO TRATAMIENTO
PROMEDIO DE LARVAS	151.9	105.4	50.3	33.7	18.5

$$DMSH = [q\alpha, t, g.L.] x^5$$

Donde: $\alpha=0.05$

t = 5

g.L.ER = 46

Por lo tanto tenemos q 0.05, 5, 46 = 4.039 (Que se saca de tablas)

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{2S}{r}} = \sqrt{\frac{2CMER}{n/Tx}} = \sqrt{\frac{2(412.0049407)}{10.2}} = 8.98806333$$

$$DMSH = (4.039)(8.98806333) = 36.3027878$$

PRUEBA DE TUKEY PARA EL TOTAL DE LARVAS ENCONTRADAS EN MÚSCULO ESQUELÉTICO EN TODOS LOS LOTES						
COMPARACION	DIFERENCIA DE MEDIAS					SIGNIFICANCIA
C+ - L1	151.9	-	105.4	=	46.5	C+>L1
C+ - L2	151.9	-	50.3	=	101.6	C+>L2
C+ - L3	151.9	-	33.7	=	118.2	C+>L3
C+ - L4	151.9	-	18.5	=	133.4	C+>L4
L1 - L2	105.4	-	50.3	=	55.1	L1>L2
L1 - L3	105.4	-	33.7	=	71.7	L1>L3
L1 - L4	105.4	-	18.5	=	86.9	L1>L4
L2 - L3	50.3	-	33.7	=	16.6	L2>L3
L2 - L4	50.3	-	18.5	=	31.8	L2>L4
L3 - L4	33.7	-	18.5	=	15.2	L3>L4

7. Porcentaje de eficacia de los tratamientos contra larvas de *Toxocara canis*.

Ecuación de Westcot

$$\%E = \frac{(No. de larvas control) - (No. larvas Lote \#)}{(No. de larvas control)} \times 100$$

a) Porcentaje de eficacia de los tratamientos para el total de larvas de *Toxocara canis*

$$\%E \text{ Lote1} = \frac{(2582)-(1794)}{(2582)} \times 100 = 30.5189775$$

$$\%E \text{ Lote2} = \frac{(2582)-(968)}{(2582)} \times 100 = 62.5096824$$

$$\%E \text{ Lote3} = \frac{(2582)-(642)}{(2582)} \times 100 = 75.1355538$$

$$\%E \text{ Lote4} = \frac{(2582)-(469)}{(2582)} \times 100 = 81.8357862$$

b) Porcentaje de eficacia de los tratamientos para el total de larvas de *Toxocara canis* enquistadas en cerebro

$$\%E \text{ Lote1} = \frac{(986)-(710)}{(986)} \times 100 = 27.9918864$$

$$\%E \text{ Lote2} = \frac{(986)-(440)}{(986)} \times 100 = 55.3752535$$

$$\%E \text{ Lote3} = \frac{(986)-(284)}{(986)} \times 100 = 71.1967546$$

$$\%E \text{ Lote4} = \frac{(986)-(246)}{(986)} \times 100 = 75.0507099$$

c) Porcentaje de eficacia de los tratamientos para el total de larvas de *Toxocara canis* enquistadas en músculo esquelético

$$\%E \text{ Lote1} = \frac{(1519)-(1054)}{(1519)} \times 100 = 30.6122449$$

$$\%E \text{ Lote2} = \frac{(1519)-(503)}{(1519)} \times 100 = 66.8861093$$

$$\%E \text{ Lote3} = \frac{(1519)-(337)}{(1519)} \times 100 = 77.8143515$$

$$\%E \text{ Lote4} = \frac{(1519)-(204)}{(1519)} \times 100 = 86.5701119$$

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Harrison, Fauci, Braunwald, Isselbacher, Wilson, Martin, Kasper, Hauser, Longo (1998) "Principios de Medicina Interna", Ed Mc Graw Hill, 14a ed., Vol 1, páginas consultadas 1336c, 1342c, 1383
2. Palmas B., López L. (2008) "Actividad antiparasitaria de la asociación de ivermectina-albendazol contra larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones machos CD1" Tesis de Licenciatura (Químico Farmacéutico Biólogo). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.
3. Acosta, S.N., (2005) "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.
4. 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 Químico Farmacéutico Biólogo). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.
5. Mejía, L.J., López, H.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.
6. Campbell C.W. (1989) "Ivermectin and Abamectin" Ed. Springer-Verlag New York Inc.
7. Goodman y Gilman, Laurence, Brunton, John S. Lazo, Keit L. Parker, (2006) "Las bases farmacológicas de la Terapéutica" Ed. Mc Graw Hill, undécima edición, páginas consultadas 1075, 1084-1087, 1840c
8. Katzung, Bertram G.(2005) "Farmacología básica y clínica". Editorial El manual moderno, 9ª edición, México D.F.
9. Fernández A.C, Ortiz. R.C.(2004) "Evaluación del tratamiento con dosis repetitivas de una asociación albendazol-ivermectina contra las larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos". Tesis profesional. Médico Veterinario Zootecnista, FES Cuautitlán. UNAM
10. Angus, M. Dunn, (1983) "Helmintología Veterinaria". El manual moderno, México D.F.
11. Cordero, C., Rojo Vazquez F.A., Martínez Fernández A.R., (1999) "Parasitología Veterinaria". McGraw-Hill, España
12. Dwight, D. Bowman, (2004) "Parasitología para Veterinarios". 8ª edición, Elsevier, España

13. Norman, D. Levine, (1990) "Tratado de Parasitología Veterinaria". Acribia, Zaragoza España
14. Quiroz, Romero Hector., (2003) "Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos". Limusa, México
15. Robertson, I.D., Irwing, P.J., Lymbery, A.J., Thompson R.C.A., (2000) "The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses" Intl J Parasitol, 30 1369-1377
16. Dickson, D.,(2003) "Toxocariasis: Clinical Aspects, Epidemiology, Medical Ecology, and Molecular Aspects" Clin Microbiol Rev, Vol. 16, No2, p 265-272
17. Eguía A. P., Cruz-R.A., Martínez M. J.J., (2005) "Ecological analysis and description of the intestinal helminths present in dogs in México City". Vet Parasitol, 127: 139-146.
18. Gillespie, S.H., (1993) "Human toxocariosis", Communicable Disease Report Vol 3 Review No 10
19. Rubel, D., Zunino, G., Santillán, G., 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
20. Barriga, O.O., Myser, W.C., (1987) "Effects of irradiation on the biology the infective larvae of *Toxocara canis* in the mouse" J. Parasitol, 73 (1) 89-94
21. Gamboa, M.I., (2005) "Effects of temperature and humidity on the development of eggs of *Toxocara canis* under laboratory conditions" J. Helminthol. Dec, 79 (4) : 327-331
22. H. Oge, S.Oge, (2000) "Quantitative comparison of various methods for detecting eggs of *Toxocara canis* in samples of sand." Veterinary Parasitology, 92 75-79
23. Kassai, T., (1998) "Helmintología Veterinaria". Acribia, España
24. Habluetzel, G., Traldi, S., Ruggieri, A.R., Attili, P., Scuppa R., Marchetti G., Menghini F., (2003) "An estimation fo *Toxocara canis* prevalence in dogs, environmental egg contamination and risk of human infection in the Marche region of Italy" Vet Parasitol, 113 243-252
25. Almazán, M.U., (2001) "Efectos de las parasitosis sobre la integridad física y productiva del individuo en la República Mexicana" Tesis de licenciatura (Químico Bacteriólogo y Parasitólogo) Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. México
26. 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
27. Booth, N.H. (1999) "Farmacología y terapéutica veterinaria" Acribia, España
28. 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 RED VET, 7 (4): 1-42

29. 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
30. 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
31. 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.
32. Muñoz, G.M.A., (2002) "Determinación por Western-Blot de los antígenos de excreción-secreción de Toxocara canis que son reconocidos por anticuerpos de la clase IgE en pacientes asmáticos" Tesis de Maestría, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM
33. Melhorn, H., D. Dwel, W. Raether, (1993) "Manual de Parasitología Veterinaria", Editorial Grass-Iatros, E.U.A.
34. Beata, K. Jamroz, E., Marek, M., Bierzynska-Macyszyn, G., Ewa K., Marszat, E., (2006) "The cerebral form of toxocarosis in a seven-year-old patient" Neuropathol, 44 (1) : 72-76 Poland
35. Botana, L.M., Landoni, F., Martín- Jiménez T., (2002) "Farmacología y Terapéutica Veterinaria", Mac Graw-Hill
36. Bennett, A., Guayatt, H., (2000) "Reducing Intestinal Nematode Infection: Efficacy of Albendazole and Mebendazole" Parasitol, vol. 16, No.2
37. Chia-Kwung, F., Yun-Ho, L., Wen-Yuan, D., Kua-Eyre, S., (2003). "Infectivity and pathogenicity of 14 month-cultured embryonated eggs of Toxocara canis in mice". Vet Parasitol, 113 145-155
38. Flores, A.J., (1992), "Toxocarosis: Zoonosis por Nemátodos" Revista Nuestros Perros, Abril, Málaga.
39. 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.
40. Kirk, B., (1994) "Terapéutica Veterinaria de Pequeños Animales" Interamericana McGraw-Hill. España
41. Vargas, S.G., Olivares, N.M., (2008) "Efecto antiparasitario del Fenbendazol sobre larvas de Toxocara canis alojadas en tejidos de ratones blancos cepa CD1" Tesis de

Licenciatura (Químico Farmacéutico Biólogo) Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

42. Martínez B, I., Fernández P., A.M., Vázquez, O., Ruiz A., (1998) "Frecuencia de *Toxocara canis* en perros y áreas verdes del sur de la Ciudad de México Distrito Federal" Vet Mex 29 (3)
43. Pierre A.,Th., (2000) "Emerging parasite zoonoses: the role of host parasite relationship" Int J Parasitol, 30 1361-1367
44. Bennett, J.L., Williams, J.F., Dave, V., (1998) "Pharmacology of Ivermectin" Parasitol, vol. 4, No.8
45. Birchard, S.J., Sherding, G.R. (1996) "Manual Clínico de Pequeñas Especies" Mc Graw-Hill Interamericana, México
46. Guillian Roddie, Peter Stafford, Celia Holland, Alan Wolfe, (2008) "Contamination of dog hair with eggs of *Toxocara canis*" Vet Parasitol, 152 85-93
47. Thomas, B. Barragry., (1987) "A Review of the Pharmacology and Clinical Uses of Ivermectin" Can. Vet. Volumen 28, No.8 August
48. Uгаа, S., Matsuo, J., Kimura, D., RaS., Koshino, Y., Igarashi, K., (2000) "Differentiation of *Toxocara canis* and *T. cati* eggs by light and scanning electron microscopy". Vet Parasitol, 92 287-294
49. Serrano, N. G., (1995) "Tratamiento de infecciones por nematodos y artrópodos con ivermectina". Tesis de Licenciatura (Químico Bacteriólogo y Parasitólogo) Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN México.
50. Parsons, J.C., Bowman, D.D. Grieve, R. B., (1989) "Pathological and hematological responses of cats experimentally infected with *Toxocara canis* larvae" Int J Parasitol, 19 (5) 479-488
51. McTier, T.L., Siedek, E.M., Clemence R.G., J.A. Wrena, D.D. Bowman, Hellmann K., Holbert, M.S., Murphy, M.G., Young, D.R., Cruthers, L.R. D.G. Smith (2000), "Efficacy of selamectin against experimentally induced and naturally acquired ascarid (*Toxocara canis* and *Toxascaris leonina*) infections in dogs". Vet Parasitol, 91 333-345
52. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. "Resistencia a los antiparasitarios" Estado actual con énfasis en América Latina. Roma 2003. FAO vol. 157
53. Noordin Rahmah, Huw V. Smith, (2005) "Comparison of IgG-ELISA and IgG4-ELISA for *Toxocara* serodiagnosis". Act Trop, 93 57-62
54. Yrma Espinoza, Huapaya P., Ayllon C., Sevilla C., Huiza A., Jiménez S., (2003) "Toxocarosis humana en pacientes con lesión ocular". Facultad de Medicina Vol. 64, No.4 Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
55. W.L.Shoop. (1993) "Ivermectin Resistance" Parasitol, Vol.9, No. 5

56. Sumano, H., (1997) "Farmacología Veterinaria" McGraw-Hill. México
57. Tabla P., J. L., (1995) "Diagnóstico serológico de la toxocariasis humana" Tesis de Licenciatura (Químico Bacteriólogo y Parasitólogo) Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, México
58. Payne, P.A. Ridley R.K. (1999) "Strategic use of Ivermectin during pregnancy to control *Toxocara canis* in greyhound puppies" Vet Parasitol, 85 305-312
59. Márquez, N.A. (2003) "Establecimiento de un modelo *in vitro* para determinar la actividad parasiticida de fármacos antihelmínticos usados en larvas eclosionadas (J2) del nematodo de *Toxocara canis*" Tesis de Licenciatura (Químico Bacteriólogo y Parasitólogo) Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, México
60. K. Taira, I., Saeed, A., Permin, C., (2004) "Zoonotic risk of *Toxocara canis* infection through consumption of pig or poultry viscera" Vet Parasitol, 121 115-124
61. Maizels, R.M., Kevin, K.A., (2000) "*Toxocara canis*: genes expressed by the arrested infective larval stage of parasitic nematode" Int J Parasitol, 30 495-508
62. Köhler, Peter., (2001) "The biochemical basis of anthelmintic action and resistance" International J Parasitol, 31 336-345
63. Helwich, A.B. Lind, P., Nansen, P., (1999) "Visceral larva migrans: migratory pattern of *Toxocara canis* in pigs" Int J Parasitol, 29: 559-565
64. Horiuchia, A., Satoua, T., Akaob, N., Koikea, K., Fujitab, K., Tamotsu, N., (2005) "The effect of free and polyethylene glycol-liposome-entrapped albendazole on larval mobility and number in *Toxocara canis* infected mice". Vet Parasitol, 129 83-87
65. 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 CD1" Tesis de Licenciatura Médico Veterinario Zootecnista. FESC, UNAM
66. Goldsmith, R., D. Heyneman, (2005) "Parasitología y medicina tropical" El manual Moderno, México D.F.
67. Martínez L.P., (2005) "Eosinofilia y evasión inmune en la toxocariosis" AMMVEPE Vol 16, No.2 Marzo-Abril 2005 pp. 59-62
68. Asao N, Chu AE, Tsukidate S, Fujita K.A., (1997) "Rapid and sensitive screening kit for the detection of anti-*Toxocara* larval ES antibodies" Parasitol Int 108: 184-195
69. Gems D. Maizels RM (1996) "Abundantly expressed mucin-like protein from *Toxocara canis* infective larvae: the precursor of larval surface coat glycoproteins". Med Sc 1996: 1665-1670
70. Sher A. "Regulation of mediated immunity by parasites: the ups and downs of important host adaptation, molecular approaches to parasitology" Wiley-Liss Inc (1995) pp 431-442