

ACCION DE ALGUNOS ANTIHELMINTICOS SOBRE *Angiostrongylus costaricensis**

Dr. Pedro Morera** e Ileana Bontempo*

INTRODUCCION

La Angiostrongiliasis Abdominal (AA) causada por *Angiostrongylus costaricensis* Morera y Céspedes, 1971, (13) (= *Morerastrongylus costaricensis* Chabaud, 1972) (6) se observa con creciente frecuencia en los hospitales y centros de salud de Costa Rica (19). Además, la enfermedad se ha encontrado desde México hasta el sur de Brasil (1,2,3,4,8,25,26,29,30,31,32), y en algunos países donde no se han encontrado casos humanos, se ha podido demostrar la presencia del parásito en sus huéspedes naturales (10,18,22,27,28).

Los primeros casos fueron diagnosticados en piezas quirúrgicas (14,16,23). Sin embargo, conforme se ha incrementado la experiencia de los médicos y se ha introducido un método de diagnóstico serológico, el número de casos clínicos que no necesitan cirugía ha superado al de aquellos en que se hace indispensable el tratamiento quirúrgico. Se ha planteado entonces la posibilidad de usar en estos pacientes un tratamiento médico, a base de antielmínticos. La droga que se ha usado con más frecuencia es el tiabendazol (9). A pesar de que se ha descrito una mejoría de los síntomas después del tratamiento, la evaluación de la acción de la droga sobre el parásito no se puede hacer en seres humanos. Por este motivo hemos creído importante hacer un estudio para observar *in vivo* e *in vitro* los efectos de varios antielmínticos sobre el parásito y las consecuencias del tratamiento en el huésped.

MATERIAL Y METODOS

Ratas algodoneras (*Sigmodon hispidus*) que constituyen el principal huésped definitivo del parásito (11), fueron criadas en el laboratorio. Grupos de estas ratas de aproximadamente dos meses de edad, fueron infectadas mediante

* El presente es parte del Trabajo de Graduación de la Srta. Ileana Bontempo, estudiante de la Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica

** Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad de Costa Rica

sonda gástrica con 50 larvas de tercer estadio (L₃) de *A. costaricensis*. Estas larvas provienen de una cepa mantenida en el laboratorio desde 1970 (cepa LG). Las larvas fueron obtenidas de babosas (*Vaginulus plebeius*) que constituyen el principal huésped intermediario (12).

Debido a que el período prepatente de *A. costaricensis* es de 24 días (15), todas las ratas fueron sometidas a tratamiento 40 días después de la inoculación, para así poder garantizar que todos los parásitos habían alcanzado la madurez somática.

Los antihelmínticos utilizados fueron tiabendazol, levamisol y dietilcarbamazina. Estas drogas se escogieron debido a que pueden ser absorbidas a nivel intestinal y llegar al aparato circulatorio, habitat normal de los parásitos.

El tratamiento de las ratas se hizo siguiendo los esquemas del Cuadro 1.

CUADRO 1
Tiabendazol
100 mg/kg de peso vía oral

Grupo	Nº de ratas	Nº de dosis
1T	10	2 (1 c/24 horas)
2T	10	3 (1 c/24 horas)
3T	8	3 (1 c/48 horas)
4T	13	15 (1 c/24 horas)

Levamisol
10 mg/kg de peso vía oral

Grupo	Nº de ratas	Nº de dosis
1L	10	2 (1 c/24 horas)
2L	8	3 (1 c/24 horas)
3L	7	3 (1 c/48 horas)

Dietilcarbamazina
10 mg/kg de peso vía oral

Grupo	Nº de ratas	Nº de dosis
1D	5	3 (1 c/24 horas)
1D ₁	2	3 (1 c/24 horas)*
1D ₂	2	4 (1 c/24 horas)**
2D	5	6 (1 c/24 horas)
2D ₁	2	3 (1 c/24 horas)*

1D₁, 1D₂ y 2D₁ corresponden a los grupos 1D y 2D, pero se repitió el tratamiento.

* 30 mg/kg de peso

** 300 mg/kg de peso

RESULTADOS

El uso de las tres drogas por medio de los esquemas de tratamiento mencionados en el capítulo anterior tuvo un resultado general común, a saber: en ningún caso se logró la muerte de los parásitos adultos. A continuación se describen los cambios observados con cada droga y con cada esquema de tratamiento.

TIABENDAZOL

GRUPO 1T

Cuatro días después de administrada la última dosis se examinó la materia fecal de todas las ratas; este procedimiento se repitió durante los tres días subsiguientes con resultado negativo. Al noveno día después de la inoculación comenzaron a aparecer nuevamente L_1 en las materias fecales.

Una semana después se sacrificaron nueve ratas observándose las lesiones típicas de la AA murina y los parásitos vivos en el interior de las arterias de la región ileocecal. Una de las ratas de este grupo murió espontáneamente y la necropsia mostró una zona de infarto del intestino delgado debida a la presencia de parásitos adultos dentro de las arterias de la región afectada.

GRUPO 2T

El examen de las heces se hizo igual que en el grupo anterior obteniéndose resultados idénticos.

En este grupo no se observó ninguna muerte espontánea, de modo que las diez ratas se sacrificaron para el examen necrótico. En todos los casos los parásitos estaban ocupando su habitat normal.

GRUPO 3T

La materia fecal de las ratas tratadas se examinó igual que en los dos grupos anteriores, pero las L_1 empezaron a aparecer hasta el décimotercer día después de administrada la última dosis.

Las ocho ratas fueron sacrificadas y al igual que en los grupos anteriores se encontraron los parásitos vivos.

GRUPO 4T

La primera revisión de las heces de las ratas de este grupo se hizo el día que se administró la décimotercera dosis, y en ningún caso se encontraron larvas. La revisión de la materia fecal se reinició tres días después de administrada la décimoquinta y última dosis, continuándose la revisión diaria por

siete días, momento en que aparecieron nuevamente L_1 vivas.

En la etapa post-tratamiento se presentaron tres muertes espontáneas en este grupo. En dos de estas ratas se observó dilatación y aspecto necrótico de una porción importante del intestino delgado. En las arterias de la zona lesionada se encontraron parásitos vivos.

En la tercera rata muerta espontáneamente se encontró una esplenomegalia muy importante y el hígado tenía un aspecto de "cirrosis micronodular". La mayor parte de los parásitos, vivos, se encontraron obstruyendo ramas de la arteria hepática.

El resto de las ratas se sacrificó y en la necropsia se observó las lesiones típicas de la AA murina. En todas las ratas los parásitos adultos estaban vivos.

LEVAMISOL

GRUPO 1L

Las materias fecales de las ratas de este grupo fueron examinadas a los 4, 7, 14, 20 y 25 días después de la última dosis. En todos los casos se observó L_1 vivas.

En la etapa post- tratamiento se murieron tres ratas durante un fin de semana por lo que el avanzado estado de putrefacción no permitió el examen necrótico.

Las otras siete ratas fueron sacrificadas encontrándose los parásitos vivos y las lesiones características de la AA murina. En una rata además se observó una dilatación de la mayor parte del intestino delgado, encontrándose algunos parásitos en las arterias que irrigan esta zona.

GRUPO 2L

El examen de las heces se hizo a los 6, 13 y 18 días después de administrada la última dosis, encontrándose L_1 vivas en todos los casos.

Las ocho ratas fueron sacrificadas y se encontraron los parásitos vivos en su habitat normal, además de las lesiones características de la AA murina. En una rata se encontró en la unión ciegocólica una zona endurecida parcialmente calcificada de la cual se extrajo un parásito vivo.

GRUPO 3L

Las heces se examinaron 7 y 13 días después de la última dosis observándose L_1 vivas.

En los primeros días de la etapa post-tratamiento murieron dos ratas, el examen de las cuales mostró una extensa zona de infarto intestinal con parásitos vivos en las arterias de la misma.

Las otras cinco ratas se sacrificaron y se extrajeron los parásitos vivos de las arterias de la región ileocecal.

DIETILCARBAMAZINA

GRUPO 1D

El examen de las heces se inició 8 días después de administrada la última dosis y se observaron gran cantidad de L₁ vivas y muertas. Posteriormente se sacrificaron las ratas y al examen necróptico se observaron los parásitos vivos ubicados en su habitat natural. Se observó además una ligera hepatoesplenomegalia y pequeños puntos blanquecinos en la superficie del hígado; el examen a fresco de este material permitió observar huevecillos embrionados y L₁ vivas.

GRUPO 2D

Los resultados obtenidos en este grupo son iguales a los observados en el anterior.

En todos los casos se comenzó a recoger muestras de materias fecales, después de administrada la última dosis. Estas muestras fueron estudiadas mediante la técnica de concentración de Baermann y microscopio de disección.

En aquellos casos en que se produjo la muerte de las ratas, después del tratamiento, éstas fueron estudiadas para investigar la causa de muerte.

Todas las ratas que sobrevivieron fueron sacrificadas y examinadas treinta días después de administrada la última dosis.

El estudio *in vitro* se realizó utilizando grupos de parásitos vivos obtenidos de ratas con dos meses de infección. Los parásitos fueron extraídos cuidadosamente para no dañarlos. De inmediato fueron colocados en solución Tyrode modificada a 37°C.

Las drogas fueron agregadas al medio de mantenimiento calculando que la concentración final fuera similar a aquella lograda en la sangre de las ratas al administrar las dosis indicadas en el estudio *in vitro*.

Los controles se hicieron colocando grupos de parásitos en solución Tyrode a 37°C sin agregar ninguna otra sustancia.

Las observaciones se prolongaron hasta por 48 horas según el caso.

ACCION *in vitro*

El presente estudio se planeó después de haber obtenido resultados negativos con las tres drogas en estudio.

En el caso del tiabendazol se observó que el contacto con la droga produce un fenómeno de excitación que se pone de manifiesto por un aumento de

la actividad de los parásitos con respecto a los del grupo control. También se observó que en el medio conteniendo la droga, los vermes inician movimientos de traslación y permanecen vivos por más de 24 horas.

En el caso del levamisol y la dietilcarbamazina, los parásitos también permanecen vivos varias horas en contacto directo con la droga. Sin embargo, en estos casos no se observa aumento de la actividad; por el contrario, al primer contacto con el levamisol los parásitos disminuyen sus movimientos, pero al cabo de 20-30 minutos los recuperan presentando una actividad similar a los de los grupos control.

DISCUSION

La experiencia acumulada durante varios años, en el tratamiento de las helmintiasis intestinales con drogas como el tiabendazol y el levamisol, demuestran la eficacia de las mismas.

Menos experiencia se tiene en el tratamiento de las infecciones causadas por metastrongilídeos.

Guilhon *et al.* (7) encontraron que el levamisol a dosis de 10 mg/kg de peso vía subcutánea, durante dos días seguidos, lisan los parásitos en perros infectados con *Angiostrongylus vasorum*. Un efecto menos satisfactorio se observó cuando se usó tiabendazol a dosis de 120 mg/kg de peso, vía oral por dos días.

Cuckler *et al.* (5) y Nishimura (20) demostraron que el tiabendazol tiene un buen efecto sobre las formas juveniles de *Angiostrongylus cantonensis* durante su migración por el cerebro de la rata, previniendo la infección pulmonar. En cambio, la droga no fue efectiva contra los parásitos adultos. Nishimura (20) además no encontró ninguna acción del bitionol, dietilcarbamazina y fuadín sobre los juveniles o adultos del mismo parásito.

El uso de estas drogas en una parasitosis como la AA cuyo agente etiológico se localiza dentro las arterias, nos ha planteado desde hace mucho tiempo la pregunta: ¿en el supuesto de que la droga tenga acción sobre el parásito, qué sucede con los vermes muertos dentro de las arterias? (16).

Los resultados del presente trabajo demuestran que ninguna de las tres drogas estudiadas paralizan o dan muerte al parásito. La primera fase del estudio demostró que después de aplicar varios esquemas de tratamiento, en los que variaron el tamaño y el número de dosis, continuó apareciendo larvas de primer estadio en las materias fecales de las ratas. Si se toma en cuenta que se necesitan 4 a 5 días para la transformación del huevecillo en L₁ (15) las larvas que aparecieron después de este tiempo tenían que proceder de adultos vivos. El otro fenómeno que nos llamó la atención fue la muerte de algunas ratas después del tratamiento. La experiencia nos ha demostrado que una rata inoculada con 50 L₃ puede llegar a morir por la edad, a pesar de que la infección es importante como lo demuestra el hecho de la aparición de un promedio de 12.000 L₁/g de heces/día. De hecho, la

necropsia de las ratas tratadas demostró que la muerte espontánea se debió a localizaciones erráticas del parásito, posteriores al tratamiento.

En vista de estos hallazgos se hizo el estudio *in vitro* en el que se demostró no solamente que estas drogas no paralizan o matan el parásito, sino que por el contrario lo excitan, iniciando movimientos de traslación (tiabendazol) que no se observaron en los controles. No podemos explicar el hecho de que los parásitos sobrevivieron por períodos de tiempo más largos en el medio, conteniendo droga que en los grupos control.

Naturalmente que no se pueden extrapolar los resultados de este estudio experimental. Sin embargo queremos enfatizar dos hechos que nos parecen muy importantes: el parásito en contacto directo con la droga no sólo no se paraliza o se muere, sino que se excita y puede vivir en estas condiciones por períodos de tiempo más largos que en el medio de mantenimiento puro. En segundo lugar, es importante destacar el hecho de que también en algunas ratas la droga tiene un efecto negativo, al inducir, aparentemente, migraciones erráticas.

No existe ninguna evidencia de que el efecto de la droga pueda ser diferente cuando el parásito está en el hombre. Es un hecho definitivo que este tipo de experiencia no se puede hacer en seres humanos, ya que al no pasar las L₁ en las heces, no se puede comprobar los resultados del tratamiento; así, en ausencia de estos resultados experimentales nos atrevemos a pensar que también en el hombre, podrían producirse migraciones erráticas probablemente agravando el cuadro. De hecho, ya se han encontrado varios casos de localizaciones ectópicas en el hígado (17) y en testículo (24).

Es por este motivo que pensamos que si en un paciente con esta parasitosis no se justifica el tratamiento quirúrgico, no se debería dar tratamiento con las drogas estudiadas, dada la posibilidad de producir complicaciones. Ya se ha demostrado que pacientes con un cuadro clínico típico de AA y serología positiva, han evolucionado en forma satisfactoria en ausencia de tratamiento médico o quirúrgico (21).

En presencia entonces de pacientes con helmintiasis intestinales importantes, en los que se sospecha que además pueden tener AA, debería pensarse en aplicar tratamientos a base de drogas que no se absorban.

RESUMEN

Ratas aldoneras (*Sigmodon hispidus*) infectadas con 50L₃ de *Angiostrongylus costaricensis* fueron tratadas 40 días después de la infección, con tiabendazol, levamisol y dietilcarbamazina. Se usaron varios esquemas de tratamiento, variando el número y el tamaño de la dosis.

En todos los casos se observó la aparición de L₁ en las heces de las ratas 5-6 días después del tratamiento. Algunas ratas murieron espontáneamente, observándose los parásitos localizados ectópicamente. Todas las otras ratas fueron sacrificadas, encontrándose los parásitos vivos.

Las pruebas *in vitro* demostraron que los adultos de *A. costaricensis* permanecen vivos después de varias horas de estar en un medio conteniendo la droga. En el caso del tiabendazol, se observó aumento de la actividad y movimientos de traslación que no se observaron en los grupos control.

SUMMARY

Cotton rats (*Sigmodon hispidus*) infected with 50L₃ of *Angiostrongylus costaricensis* were treated with thiabendazole, levamisole and diethylcarbamazine; the administration of the drugs was started 40 days after the infection. Several trials were carried out, varying the dose and the duration of the treatment.

In all of the cases, first stage larvae appeared 5-6 after treatment. In some rats that died expontaneously, ectopically localized living parasites were observed. All of the rats were sacrificed and the adult parasites were found alive. *In vitro* trials demonstrated that the adults of *A. costaricensis* remain alive after several hours in direct contact with the drugs. An increase of the activity and translation movements were observed in the worms in contact with thiabendazole.

BIBLIOGRAFIA

1. Agostini, A.E., A. Peixoto, A.L. Calerfi, A. Dexhaimer & R.R. Camargo: Angiostrongiliase abdominal: tres casos observados no Rio Grande do Sul. R. AMRIGS. Porto Alegre 27:200, 1983.
2. Aguilar, F: Angiostrongiliasis abdominal en Guatemala (comunicación personal, 1980).
3. Campos, R., C. Marigo & M. Cabeza: Terceiro caso brasileiro de parasitismo humano por *Morerastrongylus costaricensis* (Morera e Céspedes, 1971). Resúmenes del IV Congreso Latinoamericano de Parasitología. San José, Costa Rica, 1976.
4. Caro, F. Fanny: Historia natural de *Angiostrongylus costaricensis* en una zona rural cercana a Dagua, Colombia. Tesis de Grado. Dep. de Microbiología, Univ. del Valle, Cali, Colombia. 29pp., 1984.
5. Cuckler, A.C., J.R. Egerton & J.E. Alicata. Therapeutic Effect of Thiabendazole on *Angiostrongylus cantonensis* infections in rats. J. Parasitol 51:392, 1965.
6. Chabaud, A: Description de *Stefankostrongylus dubosti* n. sp. parasite du Potamogale et essai de clasification des Nematodes Angiostrongylinae. Ann. Parasit. Hum. Comp. 47:735, 1972.
7. Guilhon, J., M. Fukui & R. Bernabé: Action in vivo de dérivés de l'imidazole de la pyridine et de la pyrimidine sur angiostrongylus vasorum. C.R. Acad. Sc. Paris 270: 1961, 1970.
8. Iabuki, K. & M.R. Montenegro: Apendicite por *Angiostrongylus costaricensis* A apresentação de um caso. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Pablo. 21:33, 1979.

9. Loría R. & J. F. Lobo: Clinical abdominal angiostrongylosis. A study of 116 children with intestinal eosinophilic granuloma caused by *Angiostrongylus costaricensis*. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 29:536, 1980.
10. Malek, E: Presence of *Angiostrongylus costaricensis* Morera and Céspedes, 1971 in Colombia. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 30:81083, 1981.
11. Morera, P. Investigación del Huésped Definitivo de *Angiostrongylus costaricensis* Morera y Céspedes, 1971. Bol. Chileno Parasitol. 25:133, 1970.
12. Morera P. & L.R. Ash: Investigación del Huésped Intermediario de *Angiostrongylus costaricensis* Morera y Céspedes, 1971. Bol. Chileno Parasitol. 25:135, 1970.
13. Morera, P. & R. Céspedes: *Angiostrongylus costaricensis* n. sp. (Nematoda: Metastrongyloidea) a new lungworm occurring in man in Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 18:173, 1971.
14. Morera, P. & R. Céspedes: Angiostrongilosis abdominal. Una nueva parasitosis humana. Acta Médica Cost. 14:159, 1971.
15. Morera, P: Life History and Redescription of *Angiostrongylus costaricensis* Morera and Céspedes, 1971. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 22:613, 1973.
16. Morera, P: Angiostrongiliasis abdominal. Anales Nestlé, 132:51, 1979.
17. Morera, P. F. Pérez, F. Mora & L. Castro: Visceral Larva Migrants-like Syndrome caused by *Angiostrongylus costaricensis*. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 31:67, 1982.
18. Morera, P., R. Lazo, J., Urquiza & M. Llaguno: First Record of *Angiostrongylus costaricensis* Morera and Céspedes. 1971 in Ecuador. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 32:1460, 1983.
19. Morera, P: Angiostrongiliasis abdominal. Transmisión y posibles medidas de control. Simposio sobre Control y Erradicación de Enfermeras Infecciosas. Costa Rica. Supp. PAHO, Washington (en prensa), 1984.
20. Nishimura, K.: Experimental studies on the chemotherapy of rat lungworm, *Angiostrongylus cantonensis*, in rats. Chemotherapy, 10:164, 1965.
21. Núñez, R. & F. Mirambell. Angiostrongilosis abdominal. Un caso de conducta conservadora. Rev. Med. Hosp. Nal. Niños Costa Rica 16:109, 1981.
22. Quintana, Ana M: *Angiostrongylus costaricensis*. Búsqueda de parásitos adultos en 126 ratas, en el área rural Tierra Nueva. La Democracia Escuintla. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad de San Carlos, Guatemala. 43 pp., 1984.
23. Robles, G., R. Loría, A. Robles, S. Valle & C. Cordero. Granuloma eosinofílico parasitario intestinal. Rev. Med. Hosp. Niños Costa Rica 3:67, 1968.
24. Ruiz, P. & P. Morera: Spermatic artery obstruction caused by *Angiostrongylus costaricensis* Morera & Céspedes, 1971. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 32:1458, 1983.
25. Sauerbrey, M: A precipitin test for the diagnosis of human abdominal angiostrongylosis. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 26:1156, 1977.

26. Sierra, E. & P. Morera: *Angiostrongylosis Abdominal*. Primer caso humano encontrado en Honduras (Hospital Evangélico de Siguatepeque). *Acta Médica Cost.* 15:95, 1972.
27. Tesh, R., L. Ackerman W. Dietz & J. Williams: *Angiostrongylus costaricensis* in Panamá. Prevalence and patholocial in wild rodents infected with the parasite. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 22:348, 1973.
28. Ubelaker, J.E. & N.M. Hall: First report *Angiostrongylus costaricensis* Morera and Céspedes, 1971 in the United States. *J. Parasitol.* 65:307, 1979.
29. Zambrano, Z: *Ileocolitis pseudotumoral eosinofílica de origen parasitario*. *Rev. Latinoamericana de Patología.* 12:43-50, 1973.
30. Zavala, J., W. Ramírez, A. Reyes & M. Bates: *Angiostrongylosis costaricensis*. Primeros casos Mexicanos. *Rev. Invest. Clin.* 26:389, 1974.
31. Zilitto, A., J.E. Künzle, J. E. Ruas-Fernández, A. L. Prates-Campos J.C. & Costa Britto, R.: *Angiostrongylase: a presentacao de um provavel caso*. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 17:312.
32. Zúñiga, S.R., V. Cardona-López & D. Alvarado. *Angiostrongylosis abdominal*. *Rev. Médica Hondur.* 51:184, 1983.