Universidad de Santiago de Compostela
Facultad de Farmacia
Cátedra de Parasitologia *
Santiago de Compostela. España

ACCION ANTIHELMINTICA DE BENZIMIDAZOL CARBAMATOS FRENTE A TRICHINELLA SPIRALIS. I. MEBENDAZOL

por

RODRIGUEZ CAABEIRO, FILOMENA; ** MARTINEZ FERNANDEZ, A. R.; SANMARTIN DURAN, M. L.; TORO ROJAS, M.

SUMMARY

The efficacy of Mebendazole against *Trichinella spiralis* was determined at various times during the infestation. For preadults doses as small as 5 mg/kg can pratically protect againts a human infestation that is discovered within its first three days, its efficacy in adults is less, needing exact doses of 40 mg/kg to produce statistically significant reductions. Doses of between 30 and 60 mg/kg produce greater reductions to 56%, when applied to migratory larvae. As with preadults, Mebendazole again is a very effective anthelmintic against muscular larvae, with a minimum of 92% of the larvae that are isolated after the treatment are either dead or sufficiently weakned as not to be able to resist digestion. Of the larvae still living after the treatment against encysted larvae, only a small percentage reach the adult state and become embedded in the muscle of the next host.

INTRODUCCION

Recientemente, un nuevo antihelmintico, Mebendazol (metil-5-benzoil benzimidazol-2-carbamato) demostró ser efectivo

---

* Catedrático: Prof. Dr. A. R. Martinez Fernández.
** Dirección postal: Universidad Complutense de Alcalá de Henares. Alcalá de Henares. Madrid.

(Recibido el 5-IX-1977).

en el tratamiento de una gran variedad de nematodos intestinales e incluso de cestodos (1), (6), (14). En estudios preliminares realizados frente a *Trichinella spiralis* los resultados también fueron satisfactorios (19).

En los ensayos realizados en el hombre y animales, se demostró que Menbendazol es un fármaco de aplicación segura. Dosis tan altas como 640 mg/kg, no indujeron daños detectables en los cromosomas de las células germinativas pre- y postmeióticas del ratón (9). Asimismo tratamientos crónicos en ratas y perros, sólo produjeron algún incremento en el peso del hígado y disminución de peso en las gónadas de los machos de rata (10). Cuando se aplicó a niños infestados con *Trichuris trichiura,* dosis de 100 mg/kg dos veces al día durante tres días, tampoco dieron lugar a la aparición de efectos secundarios (14).

En el presente trabajo, se pretende comprobar la eficacia del Mebendazol, frente a cada una de las fases del ciclo de *Trichinella spiralis,* profundizando más en el estudio de sus efectos cuando el tratamiento se realiza en el momento en que las larvas han alcanzado el período de enquistamiento, por considerar que es en esta fase en la que existen menos compuestos que presenten alguna eficacia, a la vez que constituye el período de la enfermedad en el que el diagnóstico es más seguro.

MATERIAL Y METODOS

La cepa de *Trichinella spiralis* utilizada fue la GM-1, registrada en la OMS y mantenida en nuestro laboratorio por pases periódicos en ratas.

Las larvas para la infestación fueron obtenidas, según la técnica de Brand y col. (2) por digestión en pepsina acidifica da de músculo de rata infestada. El material digerido fue pasado por mallas de 0,03 y 0,06 mm. para su lavado, y las larvas seleccionadas por baermanización. Los recuentos fueron realizados en cámaras McMaster y ajustadas las dosis a la concentración deseada en gelatina al 1%.

Los vermes adultos fueron determinados, siguiendo la técnica de Denham (4), con posterior modificación de Martinez y col. (11), mediante disección del intestino delgado, incubación a 37° en solución salina durante 4 horas y refrigeración en la

cámara fría. Los vermes fueron recogidos por paso por mallas de 0,03 y 0,01 mm. procediéndose finalmente a su recuento al estereomicroscopio.

La eficacia del tratamiento frente a las fases parenterales, fue determinada por recuento del número de larvas musculares existentes en cada uno de los ratones después de 30 días de realizada la infestación.

En todas las experiencias se dispuso de lotes controles que permanecieron intratados y cuya diferencia estadística con los lotes experimentales fue calculada mediante la t de Student, no se consideraron significativas aquellas diferencias con una probabilidad mayor de 0,05.

Los estudios histológicos fueron realizados sobre cortes teñidos por Hematoxilina-eosina y PASH (reacción del ácido peryodico de Schiff), siguiendo las técnicas de Romeis (13) y McManus y col. (12).

Mebendazol y Maretin fueron administrados oralmente en un vehículo de carboximetilcelulosa al 1%.

RESULTADOS

Experiencia 1.ª

Tuvo como fin estudiar el efecto de varias dosis de Mebendazol sobre *Trichinella spiralis* en el estado de preadultos. El tratamiento se realizó a las 24 h. p. i. (post infestación), sacrificándose la totalidad de los ratones a los 8 días p. i.

Como puede apreciarse en los resultados expuestos en la tabla I, Mebendazol resultó sumamente eficaz en esta fase,

TABLA I

Efectos del Mebendazol sobre preadultos de *T spiralis,* resultados de la Experiencia 1.ª

Dosis de Mebendazol (mg/kg)	Número de ratones	Porcentaje de reducción	t de Student	Significación
5	9	99	12,6644	P<0,01
10	9	99	12,6644	P<0,01
20	9	100	—	—
30	8	100	—	—
40	8	100	—	—
50	8	100	—	—
60	8	100	—	—

siendo obligado utilizar dosis cada vez más pequeñas, con el fin de comprobar en cual de ellas disminuía su eficacia. Las dosis de 20, 30, 40, 50, 60 mg/kg produjeron la total erradicación de los vermes, mientras que dosis tan pequeñas como 5 y 10 mg/kg continuaron manteniendo una excelente actividad antihelmintica, 99% de reducción.

Experiencia 2.ª

Se utilizaron dosis alternadas de las empleadas en la experiencia anterior, siendo administradas al 6.º día p. i., tiempo en el cual las formas intestinales maduras se encuentran en el interior de la mucosa intestinal. Todos los ratones fueron sacrificados al 8.º día p. i.

En esta fase se observó (tabla II) una disminución en la eficacia del compuesto, así dosis de 5 y 20 mg/kg produjeron reducciones tan pequeñas como 20 y 24%, que no son estadísticamente significativas, cuando se aumentó la dosis a 40 y 60 mg/kg, las reducciones ya fueron significativas, oscilando entre el 54 y el 57%.

TABLA II

Efectos del Mebendazol sobre adultos de *T. spiralis*, resultados de la Experiencia 2.ª

Dosis de Mebendazol (mg/kg)	Número de ratones	Porcentaje de reducción	t de Student	Significación
5	8	20	1,0378	P>0,05
20	8	24	1,1906	P>0,05
40	8	54	7,7364	P<0,01
60	8	57	6,9090	P<0,01

Experiencia 3.ª

En este caso se estudió la eficacia del Mebendazol frente a larvas emigrantes. Se consideró oportuno utilizar dosis relativamente altas en todas las pruebas realizadas, ya que existían antecedentes (19), de una mayor resistencia de esta fase al tratamiento con este antihelmíntico.

Los adultos intestinales se eliminaron al 9.º día p. i., mediante administración de 60 mg/kg de Maretin, con el fin de que no interfirieran en la acción del fármaco. El tratamiento con Mebendazol se realizó los días 13, 14 y 15 p. i., siendo sacrificados los ratones a los 30 días p. i. Los resultados se resumen en la tabla III. De lo expuesto en la misma se desprende que todas las dosis produjeron reducciones significativas, que fueron desde un 56% para la de 30 mg/kg a un 72% para la de 60 mg/kg.

TABLA III

Efectos del Mebendazol sobre larvas emigrantes de *T. spiralis* resultados de la Experiencia 3.ª

Dosis de Mebendazol (mg/kg)	Número de ratones	Porcentaje de reducción	t de Student	Significación
30	8	56	6,8043	P<0,01
40	9	67	4,5995	P<0,01
50	8	64	8,2514	P<0,01
60	8	72	9,8465	P<0,01

Experiencia 4.ª

Cuando el tratamiento se efectuó frente a larvas enquistadas, los días 45, 46 y 47 p. i., las dosis utilizadas fueron en parte las mismas que en la experiencia anterior, pero en este caso se planteó un doble ensayo, siendo sacrificados parte de los ratones tres días después del tratamiento mientras que la otra mitad lo era a los 15 días de recibir Mebendazol. Los resultados se resumen en las tablas IV y V.

Aunque el porcentaje más alto para los sacrificados al tercer día del tratamiento fue del 42% (tabla IV); Mebendazol resultó ser muy eficaz frente a larvas enquistadas, ya que la mayor parte de las larvas, 92 al 100%, aparecieron muertas después de la digestión. Los resultados obtenidos a los 15 días de efectuado el tratamiento son todavía más satisfactorios (tabla V), produciéndose un mayor porcentaje de reducción y mortandad en las larvas.

De todos los ratones se realizaron preparaciones en fresco de músculo diafragmático, en las que se observó que los quistes aparecían muy atacados por la defensa celular, y en algu-

TABLA IV

Efectos del Mebendazol sobre larvas enquistadas de *T. spiralis*, cuando el análisis de los resultados se realizó a los tres días del tratamiento, resultados de la Experiencia 4.ª

Dosis de Mebendazol (mg/kg)	Número de ratones	Porcentaje de reducción	t de Student	Significación
30	8	0*	—0,7141	P>0,05
50	8	31**	4,6748	P<0,01
60	8	42***	6,1010	P<0,01

*: el 92% de las larvas estaban muertas en el momento del recuento
**: " 96% " " "
***: " 100% " " "

TABLA V

Efectos del Mebendazol sobre larvas enquistadas de *T. spiralis*, cuando el análisis de los resultados se realizó a los 15 días del tratamiento, resultados de la Experiencia 4.ª

Dosis de Mebendazol (mg/kg)	Número de ratones	Porcentaje de reducción	t de Student	Significación
30	8	56***	6,8134	P<0,01
50	8	86***	16,7395	P<0,01
60	8	89***	19,3647	P<0,01

***: el 100% de las larvas estaban muertas en el momento del recuento.

nos casos con desaparición total de la cápsula, lo que se pudo apreciar para las distintas dosis, siendo más patente a dosis más altas y a los 15 días del tratamiento.

En cortes histológicos teñidos por hematoxilina-eosina y PASH, realizados de maséteros de ratones tratados con 60 mg-flg y sacrificados a los 15 días del tratamiento, se manifiesta acusada infiltración inflamatoria que rodea y penetra en el interior de los parásitos, advirtiéndose con frecuencia, células gigantes que fagocitan estructuras parasitarias, mientras que en el tejido muscular circundante sólo se advierten discretas alteraciones atróficas de las fibras, así como moderada reacción inflamatoria en el tejido endo y perimicial.

Experiencia 5.ª

Se estudió el poder de infestabilidad, de las larvas recogidas a los tres días del tratamiento con 30 y 50 mg/kg de Mebendazol, cuando se aplica contra larvas enquistadas, en comparación con el de larvas procedentes de ratones intratados.

Los resultados (tabla VI) demostraron que sólo un 6% de las larvas recuperadas después del tratamiento con Mebendazol, alcanzaban el estado adulto y un 7 y 2% lograban enquistarse en el músculo.

TABLA VI

Poder de infestabilidad de las larvas procedentes del tratamiento con Mebendazol en fase de enquistamiento, resultados de la Experiencia 5.ª

Dosis del tratamiento	Porcentaje de adultos recuperados	t de Student	Significación
30 mg/kg	6	27,0469	P<0,01
50 mg/kg	6	27,2442	P<0,01

Dosis del tratamiento	Porcentaje de adultos recuperados	t de Student	Significación
30 mg/kg	7	21,4457	P<0,01
50 mg/kg	2	22,8095	P<0,01

DISCUSION

Mebendazol ha demostrado poseer a dosis relativamente bajas, un efecto muy considerable en todas las fases del ciclo biológico de *Trichinella spiralis*.

Su uso como profiláctico podía postularse después de las experiencias realizadas por SPALDONOVA y col. (19), que advierten que dosis de 15 mg/kg influyen sobre el número de preadultos, en el presente trabajo se confirmó el gran efecto reductor (99%) de dosis tan pequeñas como 5 y 10 mg/kg, cuando se aplican a las 24 horas de la infestación, con esto su empleo profiláctico queda asegurado tanto por la inocuidad de la dosis como por la eficacia conseguida.

Sin embargo frente a adultos las reducciones encontradas, que no superaron el 57%, no alcanzan las conseguidas por

THIENPONT y col. (20) que indican el 100%, o por SPALDONOVA y col. (19) que las cifras en el 90-100%, esto es imputable a que estos autores utilizan períodos de tratamiento más amplios de 4 a 7 días. En el período de larvas en emigración se amplió el período de tratamiento a tres días, por lo cual los resultados obtenidos que oscilaron entre 56 y 72% están en concordancia con los de los autores precedentes.

Contra larvas enquistadas se observó que dosis tan bajas como 30 mg/kg, cuando se aplicaron durante tres días producen a los 15 días del tratamiento el 100% de muerte de las larvas, con una casi total recuperación del tejido muscular. Hay que apuntar la rápida acción del Mebendazol frente a este estado del ciclo biológico de *T. spiralis*, pues a los tres días del tratamiento con 30, 50 y 60 mg/kg del 92 al 100% de las larvas estaban muertas.

De los estudios histológicos realizados sobre el efecto de este antihelmíntico en el estado de larvas enquistadas se puede deducir de acuerdo con SONJA DE NOLLIN y col. (18) que el Mebendazol actúa principalmente sobre el material que rodea a la larva, haciendo que los metabolitos de la larva junto con sus antígenos entren en la circulación del hospedador con lo cual se desencadena una más intensa respuesta inflamatoria e inmunológica.

Los excelentes resultados obtenidos con este compuesto en la última fase del ciclo, constituyen una esperanza para la definitiva solución del tratamiento clínico de la triquinosis, cuya mayor dificultad estriba en la determinación tardía del diagnóstico correcto. Es preciso reseñar que Mebendazol ha sido utilizado en el tratamiento humano de diferentes parasitosis a dosis muy superiores a las empleadas en estas experiencias, (3), (5), (6), (7), (8), (15), (16), (17), dosis que en su mayoría oscilaron entre 100 y 200 mg/kg.

No existe precedente del estudio del poder de reinfección de las larvas sometidas a tratamiento con Mebendazol en el período de encapsulación. De los resultados expuestos se deduce que las larvas que resisten el tratamiento, pierden casi totalmente el poder de infestar un nuevo hospedador, así sólo 2 de 100 llegan a enquistarse para la dosis de 50 mg/kg. De esto se concluye que este compuesto presenta unas características inmejorables para el tratamiento del ganado triquinoso, pues

además de poseer una elevada eficacia frente a larvas enquistadas produce una pérdida considerable en el poder de infestibilidad de las larvas resistentes al tratamiento.

RESUMEN

Se determinó la eficacia del Mebendazol contra *Trichinella spiralis*, en diversos períodos de la infestación. Contra preadultos, dosis tan pequeñas como 5 mg/kg, pueden protejer prácticamente contra una infestación humana descubierta dentro de los tres primeros días del proceso; su eficacia disminuye frente a adultos, siendo preciso dosis de 40 mg/kg para producir reducciones estadísticamente significativas. Dosis entre 30 y 60 mg/kg producen reducciones superiores al 56%, cuando se aplica contra larvas emigrantes. Como contra preadultos, Mebendazol vuelve a ser un antihelmíntico eficacísimo contra larvas enquistadas, como mínimo el 92% de las larvas que se aíslan después del tratamiento están muertas o suficientemente débiles como para no resistir la digestión. De las larvas recuperadas del tratamiento contra larvas enquistadas, sólo un pequeño porcentaje alcanzan el estado adulto y logran enquistarse en el músculo del siguiente hospedador.

REFERENCIAS

1. BONCOMPTE ANTONIJUAN, P.; ROCA TORRAS, D. J. (1975).—"Estudio de un nuevo antihelmíntico: Mebendazol". *Panorama Veterinario*, 5, 219-229
2. BRAND, T.; WEISTEIN, P.; MEHLAN, B.; WEINBACH, E. (1952).—"Observation on the metabolism of bacteria free larvae of *Trichinella spiralis*". *Expert. Parasit, 1*, 245-255.
3. CHODERA, L.; PAWLOWSKI, Z.; STHELIK, A.; SUCHOWIAK, J. (1975).—"Mebendazole in the treatment of *Trichuris trichiura*". *Wiad. Parazyt, 21*, 427-430.
4. DENHAM, D. A. (1968).—"Immunity to *Trichinella spiralis*. III. The longevity of the intestinal phase of the infection in mice". *J. Helminth., 42*: 257-268.
5. GATTI, F.; THIENPONT, D.; BRUGMANS, J. (1974).—"Specific and broad spectrum anthelmintic activity of mebendazole in man". *Proc. 3rd. Int. Congr. Parasit., 3*, 1358.
6. GOLDSMID, J. M. (1974).—"The use of Mebendazole as a broadspectrum anthelmintic in Rhodesia" *S. Afr. Med. J., 48*, 2265.
7. KALE, O. O. (1975)—"Mebendazole in the treatment of dracontiasis". *Am. J. Trop. Med. Hyg., 24*: 600-605.
8. KRUBWA, F.; GATTI, F.; LONTIE, M.; NGUETE, K.; VANDPITTE, J.; THIENPONT, D. (1974).—"Three-monthly administration of mebendazole to suburban schoolchildren". *Med. Trop., 34*: 679-687.
9. LEONARD, A.; VANDESTEENE, R.; MARSBOOM, R. (1974).—"Mutagenicity test with mebendazole in the mouse". *Mutat. Res., 26* (5), 427-430.

10. MARSBOOM, R. (1973).—Toxicologic studies on mebendazole". *Toxicol. Appl. Pharmacol., 24* (3), 371-377.
11. MARTINEZ FERNANDEZ, A.; CORDERO DEL CAMPILLO, M.; ALLER GANCEDO, B. (1969).—"Studies on the immunological tolerance to *Trichinella spiralis* infection in rats". *Wiad. Pararyt., 15,* 585-596.
12. MCMANUS, S.; MOWRY, R. (1968).—*Técnicas Histológicas.* Atika, S. A, Madrid.
13. ROMEIS, B. (1928).—*Guia Formulario de Técnicas Histológicas.* Labor, S. A. Barcelona.
14. SAJID MAQBOOL, M. D.; DENISE LAWRENCE, B. S.; MICHAEL KATZ, M. D.; (1975).—"Treatment of trichuriasis with a new drug, mebendazole". *J. Pediatrics., 86* (3): 463-465.
15. SARGENT, R. G.; SAVORY, A. M.; LEE, P. R.; MINA, A. (1974).—"A clinical evaluation of mebendazole in the treatment of trichuriasis". *Am. J. Trop. Med. Hyg., 23* (3): 375-377.
16. SCHENONE, H.; ORRALI, A.; GALDAMES, M.; DOREN, G.; INZUNZA, E.; JIMENEZ, M.; ROMERO, E.; PINTO, C. G.; ANRIQUE, B. (1974).—"Treatment of human intestinal helmintic infections with mebendazole". *Bol. Chil. Parasit., 29*: 2-5.
17. SINGSON, C.; BANZON, T.; CROSS, J. (1974).—"Effectiveness of mebendazole in the treatment of intestinal capillariasis". *Proc. 3rd. Int. Congr. Parasit., 3,* 1361.
18. SONJA DE NOLLIN, BORGERS, M.; VANPARIJS, O.; VAN DEN BOSSCHE H. (1974).—"Effects of mebendazole on the encysted phace of *Trichinella spiralis* in the rat: an electron-microscope study". *Parasit., 69,* 55-62.
19. SPALDONOVA, R.; TOMASOVICOVA, O.; CORBA, J. (1974).—"The influence of mebendazole on the course of *Trichinella spiralis* infection in mice. *Proc. 3rd. Int. Congr. Parasit., 2,* 675-676.
20. THIENPONT, D.; VANPARIJS, O. F.; VANDESTEENE, R. (1972).—"Anthelmintic and histopathological effects of mebendazole on *Trichinella spiralis* in the rat. *Proc. 3rd. Int. Conf. on Trichinellosis.* Florida, USA. 2-4 Nov.