

Acción antihelmíntica de dos insecticidas organofosforados frente a las fases de larvas en migración y enquistadas de *Trichinella spiralis* en ratones

SANMARTÍN-DURAN, M.L.; CASAL, M.*; LEIRO, J.; UBEIRA, F.M.; SANTAMARINA, M.T.

Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad de Santiago. Santiago de Compostela.

(*) Dirección actual: Cátedra de Edafología. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago. Santiago de Compostela.

Summary

In this work the anthelmintic efficacy of two organophosphorated insecticides, 2,2-dichlorovinyl-4-phenyl butyl methyl phosphate (MFD) and 2,2-dichloro vinyl-4-(2-tienyl) butyl methyl phosphate (MTD), against the migratory and muscle larvae phases of *Trichinella spiralis* is evaluated.

Our results show a low efficacy of these two drugs against both phases of *Trichinella*, whose number of encysted larvae are only reduced to 50-60% even at high doses.

Key Words: *Trichinella spiralis*, organophosphorated insecticides, anthelmintics.

Resumen

En este trabajo se muestra la eficacia antihelmíntica de dos insecticidas organofosforados (2,2-diclorovinil-4-fenil butil metil fosfato (MFD) y 2,2-diclorovinil-4-(2-tienil) metil fosfato (MTD), frente a las fases de larvas en emigración y muscular de *Trichinella*.

Nuestros resultados muestran una baja eficacia de estos dos productos contra ambas fases, con reducciones en el número de larvas enquistadas que oscilan entre el 50-60% aún a dosis elevadas.

Palabras Clave: *Trichinella spiralis*, insecticidas organofosforados, antihelmínticos.

Introducción

Los organofosforados o ésteres del ácido fosfórico son compuestos pertenecientes al grupo de las anticolinesterasas, sustancias que potencian la acción de la acetilcolina.

El amplio espectro antihelmíntico del diclorvos, 2,2-diclorovinil fosfato (Whetstone y Harman¹) ha llevado a la investigación con éxito de otros compuestos semejantes.

Morales y col.⁷ y Carr y col.¹ han comprobado la actividad antihelmíntica del alquil, araquil y araquenil diclorovinil fosfatos frente a *Syphacia obvelata*, *Hymenolepis nana* y *Nippostrongylus brasiliensis* con resultados variables, dependiendo del tipo de compuesto y de la especie de parásito tratada.

Con el fin de estudiar la utilidad de estos

productos en terapia antihelmíntica experimental, y basándonos en trabajos previos (Martínez-Fernández y col.⁴) que demostraron una alta eficacia de los diclorovinil fosfatos frente a la fase intestinal de *Trichinella*, en el presente trabajo hemos evaluado el efecto de dos de estos compuestos frente a la fase de larvas en emigración y de larvas enquistadas de *Trichinella spiralis*.

Material y Métodos

Animales de experimentación:

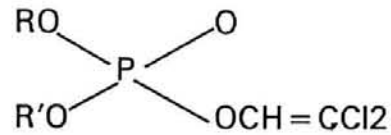
Se han utilizado ratones CD-1 (Charles River, Francia) suministrados por el estabulario de la Facultad. En todos los experimentos se utilizaron lotes de 8-12 ratones por grupo.

Parásitos:

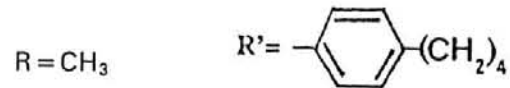
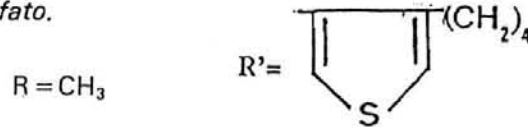
Se empleó la cepa GM-1 (OMS) de *Trichinella spiralis* (Martínez-Fernández⁵), aislada de un gato montés capturado en Asturias y mantenida en el Departamento por pases anuales en ratones CD-1.

Fármacos:

Los organofosforados utilizados nos fueron suministrados por la Shell Development Company (California). Todos ellos tienen como núcleo estructural:



y donde R y R' corresponden a los radicales:

a) 2,2-diclorovinil-4 fenil butil metil fosfato**b) 2,2-diclorovinil-4 (2-tienil) butil metil fosfato.**

Los fármacos se administraron por vía oral a las dosis que se indican en la Tabla 1, utilizando como vehículo aceite de semilla de maíz. Debido a la alta toxicidad de estos compuestos organofosforados se utilizó como antídoto, atropina. La dosis fue de 0,3 mg/ratón en agua estéril y apirógena.

Técnicas parasitológicas:

Las dosis infestante fue de 300 larvas viables, obtenidas de músculos de ratones CD-1 infestados por digestión péptica según se ha descrito previamente (Martínez-Fernández y col.⁴, Sanmartín-Durán y col.⁶).

Análisis estadístico:

Para determinar el nivel de significación en la reducción de las larvas en emigración y enquistadas obtenida por los organofosforados ensayados se ha utilizado el test de la t de Student.

Resultados**1) Efecto del MFD y MTD sobre la fase de larvas en emigración de *Trichinella*.**

Para comprobar el efecto del MFD y MTD sobre la fase de larvas en emigración de *Trichinella* se han tratado varios lotes de ratones durante 3 días consecutivos de acuerdo con el siguiente protocolo: *Experimento A.* — Los animales se trataron los días 13, 14 y 15; *Experimento B.* — Los animales se trataron los días 15, 16 y 17; *Experimento C.* — Los animales se trataron los días 18, 19 y 20.

Los resultados obtenidos con distintas dosis de estos compuestos se presentan en la Tabla 1, en donde se puede apreciar que la acción antihelmíntica máxima alcanzada se aproxima al 50% de reducción en los animales tratados con respecto al control, requiriéndose para ello dosis elevadas de ambos productos (MFD y MTD).

Con relación a los protocolos terapéuticos establecidos (A, B y C), no se han apreciado diferencias significativas en el número de larvas en emigración entre dichos grupos.

2) Efecto del MFD y MTD sobre la fase muscular de *Trichinella spiralis*.

En la Tabla 1 se han expresado los valores obtenidos después del tratamiento con MTD, los días 35, 36 y 37 postinfestación, para las dosis de 50, 100 y 250 mg/kg. Con la dosis de 250 mg/kg se observó el mayor efecto reductor en el número de larvas enquistadas, que fue el 65,1% respecto al control.

Con relación al MFD, la Tabla 1 muestra que se necesitan dosis mayores que con el MTD, siendo necesaria una dosis de 600 mg/kg para lograr una reducción en el número de larvas enquistadas del 53%.

Discusión

Según han demostrado Schoop y Lamina⁹, el Triclorfon, un insecticida organofosforado, protege a los ratones de la infestación por triquina y destruye los vermes adultos a dosis de 80 mg/kg de peso. Estos

Tabla 1

Efecto del tratamiento con los antihelmínticos MTD y MFD sobre larvas de *Trichinella spiralis* durante las fases de larvas en emigración y muscular. La tabla muestra el número de larvas enquistadas en el día 40 postinfestación (larvas viables) (en millares). ND = no determinado

FASE DE LARVAS EN EMIGRACION	DOSIS (mg/kg)					—	
	100	150	250	600°			
MTD							
	54,9 ± 4,8 (A) (18)	43,5 ± 1,2 (A)* (35)	34,3 ± 6,6 (A)* (49)	ND		65,3 ± 6,1	
	63,4 ± 5,2 (B) (1)	40,5 ± 7,8 (B)** (39)	ND	ND			
MFD							
	ND	51,1 ± 5,5 (A°) (24)	37,4 ± 5,6 (A)* (44)	37,2 ± 5,0 (A)* (44)			
	ND	ND	36,3 ± 7,6 (B)* (46)	ND			
	ND	ND	36,4 ± 7,6 (C)* (46)	ND			
FASE MUSCULAR							
	50	100	150	250	450	600	—
MTD	59,2 ± 8,9 (9,4)	51,3 ± 8,3 (21,5)	25,8 ± 4,9* (60,5)	22,8 ± 5,8* (61,5)	ND	ND	65,3 ± 11,2
MFD	ND	ND	66,9 ± 9,2 (0)	58,0 ± 5,6 (11)	53,4 ± 9,2 (18)	30,6 ± 8,5** (53,2)	

MTD: 2,2-diclorovinil 4(2-tienil) butil metil fosfato

MFD: 2,2-diclorovinil 4 fenil butil metil fosfato.

(°): Protección con Atropina.

Significación: (*): P<0,01 . (**): P<0,05

A: Tratamiento en días 12, 13, 14

B: Tratamiento en días 15, 16, 17

C: Tratamiento en días 18, 19, 20

Los números entre paréntesis expresan el porcentaje de reducción respecto al control sin tratar.

mismos autores han comprobado cierta eficacia contra las larvas en emigración y enquistadas, así como la posibilidad de incrementar la dosis del fármaco mediante la aplicación simultánea de antídotos.

Otros autores, Drudge y col.², Walker y col.¹⁰, Hasslinger³, también han utilizado con éxito insecticidas organofosforados en el control de nematodosis intestinales.

Nuestros resultados son coincidentes, en cierta medida, ya que según se puede observar en la Tabla 1, estos compuestos presentan una cierta actividad contra la fase de larvas en emigración y musculares de *Trichinella*, que es proporcional a la dosis utilizada. Sin embargo, como señalan Zimmerman y col.², los organofosforados resultan en general eficaces contra adultos de *Trichinella*

pero presentan poca actividad contra larvas en tránsito hacia los músculos o cuando ya se han alojado en los mismos.

La alta eficacia del MFD y MTD sobre preadultos y adultos intestinales fue demostrada por nosotros en trabajos previos (Martínez-Fernández y col.⁶). Sin embargo, durante la migración y el enquistamiento, las larvas se hacen resistentes a los productos, hecho que puede estar relacionado con los cambios metabólicos que sufren las mismas durante estos períodos.

Referencias

1. Carr, J.B.; Kiney, P.; Goodrow, M.H.; Durham, H.G.; Hass, D.K.; Boudreau, J.J.—Novel phosphate anthelmintics. 2-araquil and aralkenyl analogs of diclorvos. *J. Med. Chem.*, 15, 1972, 1.231-1.234.
2. Drudge, J.M.; Lyons, E.T.; Tolliver, S.C.—Controlled tests of pastes of diclorvos and thiabendazole against induced *Strongyloides westeri* infections in pony foals in 1973-1974. *Am. J. Vet. Res.*, 43, 1982, 1.675-1.677.
3. Hasslinger, M.A.—Control of endoparasites in horses. *Equine Practice*, 6, 1984, 23-25.
4. Martínez-Fernández, A.—Algunos efectos de los corticoides sobre el ciclo endógeno de *Trichinella spiralis*. *Trab. Comp. Biol.*, 17, 1978, 183-217.
5. Martínez-Fernández, A.R.; Boev, S.N.; Sanmartín-Durán, M.L.; Barcena, F.; Arias, C.—Presencia en España de *Trichinella nelsoni* (Britov y Boev, 1972). *II Reunión Anual de Parasitólogos Españoles*. Madrid, 1978, 56.
6. Martínez-Fernández, A.R.; Rodríguez-Cabeiro, F.; Sanmartín-Durán, M.L.—Efecto de cuatro diclorovinil fosfatos frente a las fases intestinales de *Trichinella spiralis*. *Rev. Ibér. Parasitol.*, 40, 1980, 315-325.
7. Morales, J.G.; Whetstone, D.W.; Stoutamire, D.W.; Hass, D.K.—Novel phosphate anthelmintics. 1. Alkyl 2,2 dichlorovinyl methyl Phosphates and related alkoxyalkyl and cycloalkyl analogs of diclorvos. *J. Med. Chem.*, 15, 1972, 1.225-1.231.
8. Sanmartín-Durán, M.L.; Santamarina, M.T.; Ubeira, F.M.—Effect of clofibrate and hydrocortisone on intestinal trichinellosis in mice. *Vet. Parasitol.*, 21, 1986, 55-60.
9. Schopp, G.; Lamina, J.—Ueber die Wirkung eines wasserlöslichen phosphonsaureesters auf *Trichinellen*. I. Beeinflussbarkeit von darmund wandertrichinelles beim experimentell infizierten mause. *Zent. Bakt. Par. Infek. Hyg. Orig.*, 186, 1962, 562-673.
10. Walker, W.R.; Maxwell, C.V.; Jorda, N.H.E.; Cuce, W.G.—Swine internal parasites: effect of anthelmintic and management system. *Anim. Sci. Res. Rep.*, 112, 1982, 227-230.
11. Whetstone, R.; Harman, U.S.—Patent 3116201 (1963).
12. Zimmerman, W.T.; Hubbard, E.D.; Schwarter, L.H.; Biester, H.E.—*Trichinella spiralis* in Iowa wildlife during they cars. *J. Parasitol.*, 48, 1962, 429-432.

(Recibido el 18 de febrero de 1987; aceptado el 30 de mayo de 1987).