

# Actividad larvicida del timol frente a *Anisakis simplex* s.l.

I. Hierro

A. Valero

J.M. González de Selgas

M.C. Navarro

## Introducción

La anisakidosis es una parasitosis emergente, provocada por larvas del género *Anisakis*. Un gran número de peces comercializados albergan al tercer estado larvario de estos nematodos, pudiendo infectar al hombre cuando ingiere pescado crudo, ahumado, salado o adobado con distintas especias. En nuestro entorno, la especie responsable de la enfermedad es fundamentalmente *Anisakis simplex*. Los cuadros clínicos que provocan estos nematodos se deben a la infección del tracto gastrointestinal o a reacciones de hipersensibilidad mediada por IgE. En la actualidad, no existe ningún fármaco efectivo frente a esta parasitosis, de ahí que diversos autores<sup>(1-3)</sup> hayan realizado estudios *in vitro* sobre el efecto larvicida de determinados compuestos de origen vegetal.

## Materiales y métodos

Se ha estudiado *in vitro* e *in vivo* la actividad del timol frente a larvas L<sub>3</sub> de *A. simplex* s.l., aisladas del hospedador *Micromesistius poutassou* (bacaladilla). Las experiencias *in vitro* con las tres concentraciones de timol (12,50, 6,25 y 3,12 µg/mL) se han realizado según Hierro *et al.*<sup>(3)</sup>. Por otro lado, se infectaron ratas Wistar con larvas de *A. simplex* s.l. mediante sonda gástrica; por el mismo procedimiento se les administró, de tres formas diferentes, el tratamiento de timol a 17,3 mg/0,5mL (en aceite de oliva como vehículo). Modelo A: infección y tratamiento conjunto y sacrificio a 3 h. 30 min. Modelo B: infección, tratamiento a 2 h. y sacrificio a 3 h. 30 min. Modelo C: infección, tratamiento a 2 h. y sacrificio a 12 h. En las ratas disectadas se procedió a una exhaustiva búsqueda de las larvas, en el tracto digestivo, distintos órganos, así como en las heces presentes en la jaula.

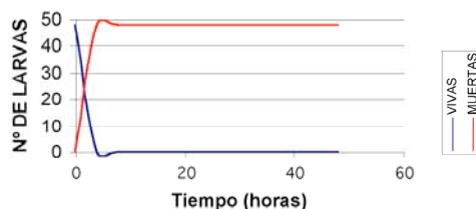


FIGURA 1. Letalidad *in vitro* del timol (12,5 µg/ml) sobre *Anisakis simplex*.

## Resultado

*In vitro*, el timol provoca una letalidad máxima a las 4 h a 12,50 µg/mL (FIGURA 1), mientras que a 6,25 µg/mL lo hace a las 24 h., con una supervivencia 50 de 2 h. 45 min. (TABLA 1).

En el experimento *in vivo* del Modelo A, se observó que el 53,6 % de las larvas aparecen muertas en estómago y ninguna de las ratas sufrió hemorragias gastrointestinales. En el Modelo B y C, el 2,3 y 24,6 % de los parásitos se encontraron muertos y el porcentaje de hemorragias en cada uno de los modelos fue alto (46,7% y 53,9 % respectivamente) (TABLA 2).

## Discusión

En Japón, lo mismo que en la República China, el hábito de ingerir pescado crudo está ampliamente extendido; sin embargo, la parasitación del hombre por anisakidos es menor en esta última. Ante la sospecha de que el motivo estuviera en la costumbre de consumir el pescado con *Perilla frutescens* (rica en perillaldehído), Kasuya *et al.*<sup>(1)</sup> comprueban que este compuesto, a la concentración de 125 µg/mL, mata la totalidad de las larvas de *A. simplex*. Por otra parte, Goto *et al.*<sup>(4)</sup> han demostrado que el rizoma de *Zingiber officinale*, con una importante presencia de [6]-sogaol y [6]-gingerol, tiene efectos larvicidas frente a *Ani* -



Timol	N° L <sub>3</sub>	Supervivencia media				S <sub>50</sub>	S <sub>máx.</sub>
		4 h	8 h	24 h	48 h		
12,50 µg/ml	48	0	0	0	0	-	0
6,25 µg/ml	48	31,25%	4,16%	0	0	2h 45'	0
3,12 µg/ml	36	97,22%	97,22%	88,57%	75%	-	27

Tabla 1. Actividad *in vitro* del timol sobre *Anisakis simplex*.

Timol	N° L <sub>3</sub>	Hemorragias gastrointestinales	L <sub>3</sub> muertas
Modelo A*	84	0	53,57%
Modelo B*	88	46,67%	2,73%
Modelo C*	69	53,85%	24,63%

Tabla 2. Actividad *in vivo* del timol sobre *Anisakis simplex* en rata.

sakis a concentraciones de 62,5 y 250 µg/mL, respectivamente. En nuestro caso, el timol se ensayó *in vitro* frente a las larvas de este parásito a una concentración mucho menor (12,50 µg/mL), obteniendo una mortalidad del 100% a las 4 horas. Teniendo en cuenta que, por lo general, las lesiones producidas por la larva *A. simplex* en el tracto digestivo van acompañadas de hemorragias, los resultados obtenidos *in vivo* a una concentración 17,3 µg/mL se pueden considerar satisfactorios, ya que en el modelo A, ninguna de las ratas presentó signos hemorrágicos, siendo menos positivos los resultados obtenidos con los modelos B y C, hecho indicativo de que el timol ejerce el máximo efecto cuando se administra conjuntamente con los agentes infecciosos.

#### Autores

I. Hierro, A. Valero, J.M. González de Selgas  
 Servicio de Farmacia  
 Hospital Clínico  
 Universidad de Granada  
 M.C. Navarro  
 Departamentos de Parasitología y de Farmacología  
 Facultad de Farmacia  
 Universidad de Granada

#### Dirección de contacto

A. Valero  
 Servicio de Farmacia  
 Hospital Clínico  
 Universidad de Granada  
 e-mail: avalero@ugr.es

#### Referencias bibliográficas

- Kasuya, S.; Goto, C.; Koga, K.; Ohtomo, H.; Kagei, N.; Honda, G. (1990). Lethal efficacy of leaf extract from *Perilla frutescens* (traditional chinese medicine) or perillaldehyde on *Anisakis* larvae *in vitro*. *Jpn. J. Parasitol.*, 39:220-225.
- Tojo, J.; Santamarina, M.T.; Peris, D.; Ubeira, F.M.; Leiro, S.L.; Sanmartín, M.L. (1992). *In vitro* effect of antihelmintics on *Anisakis simplex* survival. *Jpn. J. Parasitol.*, 341: 473-480.
- Hierro, I.; Valero, A.; Pérez, P.; González, P.; Cabo, M.M.; Montilla, M.P.; Navarro, M.C. (2004). Action of different monoterpenic compounds against *Anisakis simplex* s.l. L3 larvae. *Phytomedicine* 11 (2004). (En prensa)
- Goto, C.; Kasuya, S.; Koga, K.; Ohtomo, H.; Kagei, N. (1990). Lethal efficacy of extract from *Zingiber officinale* (traditional Chinese medicine) or [6]-shogaol and [6]-gingerol in *Anisakis* larvae *in vitro*. *Parasitol. Res.*, 76:653-656.