

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⁽¹⁻³⁾ 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 L₃ 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.*⁽³⁾. 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.

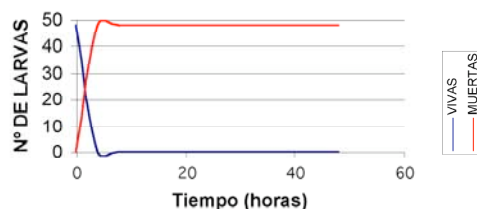


FIGURA 1. Letalidad *in vitro* del timol (12,5 µg/ml) sobre *Anisakis simplex*.

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.*⁽¹⁾ 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.*⁽⁴⁾ 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 ₃	Supervivencia media				S ₅₀	S _{máx.}
		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 ₃	Hemorragias gastrointestinales	L ₃ 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.