

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS IGG ANTI-TOXOCARA CANIS EN ESTUDIANTES DE MEDICINA

Determination of igg antibodies anti-toxocara canis in medical students

36

Determinação dos anticorpos igg anti-toxocara canis em estudantes de medicina

Ferrero M⁴, Sánchez, RJ³, Pizzi RD², Pizzi, HL¹

Cátedra de Parasitología y Micología Médicas. FCM-UNC. Córdoba-Argentina
1 Dr. Profesor Titular Plenario. hugoluispizzi@gmail.com. 2 Magister. Profesor Adjunto. 3 Dr. Profesor Adjunto. 4 Bioq Profesora Asistente.

Resumen

La Toxocariasis es una infección causada por el estadio larval de un nematodo del género *Toxocara* (con más frecuencia *T. canis* y rara vez *T. cati*), y es adquirida por ingestión de tierra y alimentos contaminados con huevos embrionados de dicho parásito provenientes de materia fecal animal. El objetivo fue determinar si la presencia del perro y el contacto frecuente con él representa un riesgo mayor para la infección en poblaciones sanas sin manifestaciones de síntomas clínicos de la enfermedad. Método: mediante el método de ELISA se determinaron los niveles de anticuerpos contra *Toxocara canis*, en dos poblaciones, una poseedora de perro (183 alumnos del tercer año de la carrera de medicina, de entre 21 y 23 años de edad, provenientes de todo el país, presentados voluntariamente para el estudio, con perro como mascota) y otra testigo (30 individuos aspirantes a policías, de entre 20 a 25 años de edad, que no poseen perro como mascota). Resultados: de las 183 muestras analizadas de la primera población (estudiantes de medicina), 25 resultaron positivas, lo que demuestra una prevalencia del 13,67 %. En los no poseedores de perro la prevalencia fue del 3,33 %. Conclusiones: si bien el porcentaje de positividad en ambas poblaciones fue bajo, se puede apreciar una mayor prevalencia de anticuerpos anti-*Toxocara canis* en los alumnos de medicina, lo que sugiere que el contacto permanente con el animal favorece la infección parasitaria.

Trabajo recibido: 20 de abril 2013. Aprobado: 16 de diciembre 2013

Por lo tanto, es de suma importancia educar a la población en cuanto al cuidado y control veterinario de su mascota, y extremar las medidas de higiene para evitar la propagación de ésta y otras parasitosis.

Palabras clave: Toxocariasis, anticuerpos anti-*Toxocara canis*, contacto con el perro, educación y control veterinario.

Abstract

Toxocariasis is an infection caused by the larval stage of a nematode parasite, the *Toxocara* (*T. canis* more often and *T. cati*, rarely), and it is acquired by ingestion of contaminated dirt or food by embryonated eggs of the parasite coming from animal feces. The aim was to determine whether the presence of a dog and frequent contact with it imply a greater risk for infection in healthy populations without evidence of clinical symptoms of the disease. Method: Using ELISA method, the levels of antibodies against *Toxocara canis* were determined in two populations: a group of dog owners (183 students in the third year of medical school, between 21 and 23 years old, from different areas of the country who voluntarily submitted for the study, with a dog as a pet) and a control group (30 would-be policemen, aged 20-25, who do not own a pet dog). Results: Out of the 183 samples analyzed from the first population (medical students), 25 were positive, showing a prevalence of 13.67%. In the population with no dogs, the prevalence was 3.33%. Conclusions: Although the percentage of positivity in both populations was low, a higher prevalence of *Toxocara canis* antibodies can be seen in the medical students, suggesting that contact with the animal favors parasitic infection. Therefore, it is extremely important to educate the population as regards care and veterinary control of pets, and to maximize hygiene measures to prevent the spread of this and other parasites.

Key words: Toxocariasis. Antibodies to *Toxocara canis*. Contact with the dog. Education and veterinary checks.

Resumo

A toxocaríase é uma infecção causada pelo estágio larval de nematóides do gênero *Toxocara* (*T. canis*, com mais frequência, e raramente *T. cati*) e é adquirida pela ingestão de alimentos contaminados com terra e ovos fertilizados da dita parasita a partir de fezes animais. O objetivo era determinar se a presença do cão e o contato frequente com ele representa um maior risco para a infecção em populações saudáveis sem manifestações de sintomas clínicos da doença. Método: Usando o método de ELISA foram determinados os níveis de anticorpos contra a *Toxocara canis* em duas populações, uma delas possuidora de cão (183 alunos do terceiro ano do curso de Medicina, tendo entre 21 e 23 anos, oriundos de diferentes pontos do País, dispostos voluntariamente para a pesquisa, com cão como animal de estimação) e outra a guisa de controle (30 indivíduos candidatos a policiais, com idades entre 20 a 25 anos que não têm cão como animal de estimação). Resultados: Das 183 amostras analisadas a partir da primeira população (estudantes de Medicina), 25 foram positivas, mostrando uma prevalência de 13,67%. Em não proprietários de cão a prevalência foi de 3,33%. Conclusões: Embora o percentual de positividade em ambas as populações foi baixo, salientou-se uma maior prevalência de anti-*Toxocara canis* nos estudantes de Medicina, o que sugere que o contato permanente com os animais favorece a infecção parasitária. Portanto, é muito importante educar as pessoas sobre os cuidados e controle veterinário do seus mascotes, e maximizar as medidas de higiene para evitar a propagação deste e de outros parasitas.

Palavras-chave: Toxocaríase. Anticorpos anti-*Toxocara canis*. Contato com o cão. Educação e controle veterinário.

Introducción

La Toxocariasis es una infección crónica, causada por el estadio larval de un nematodo del género *Toxocara* (con más frecuencia *T. canis*, y rara vez *T. cati*), y es adquirida por la ingestión de huevos embrionados a partir del contacto con suelos infectados, por geofagia, por manos mal lavadas, por onicofagia y en menor proporción por el consumo de vegetales contaminados con materia fecal animal (perro), y que compromete en especial a niños de corta edad. ⁽²⁾

Fue descrita por Beaver y colaboradores en New Orleans en 1952; aunque Wilder en 1950 ya había reportado larvas de nematodos en ojos de niños del sudeste de EEUU, adjudicándolas como propias de Uncinarias (*Necator* o *Ancylostoma*). En 1956 Nichols realizó la individualización de las larvas de *Toxocara*. La parasitosis tiene una distribución mundial; en EEUU, por ejemplo, tiene presencia en todos los estados. ⁽¹¹⁾

El ciclo biológico del *Toxocara canis* tiene como hospedador principal al perro. El hombre se comporta como hospedador intermediario accidental. El desarrollo del parásito en el perro depende fundamentalmente de la edad del animal. El hábitat de *T. canis* adulto es el intestino delgado del cachorro (menor de 2 meses de vida) y por medio de las materias fecales elimina los huevos. Estos huevos se embrionan en el medio ambiente, siempre que las condiciones sean favorables, transformándose en infectantes, después de 2 a 5 semanas luego de haber pasado por el animal. Por lo tanto, los individuos infectados no pueden pasar la infección a otros individuos. ⁽⁶⁾

La Toxocariasis puede manifestarse como enfermedad larvaria visceral (ELV) o enfermedad larvaria ocular (ELO). Los signos y síntomas de ELV pueden variar desde un estado asintomático con leve eosinofilia, a un trastorno severo y potencialmente fatal, dependiendo del número de larvas que han producido la infección y del órgano afectado. Los pacientes con ELO pueden variar ampliamente su presentación clínica, desde lesiones agudas en ojos, hasta infecciones asintomáticas. Son graves las formas oculares observadas en los adolescentes con formación de un granuloma pseudotumoral en la retina. En general, esta parasitosis es más frecuente en niños menores de 5 años, en quienes puede presentarse como una infección inaparente con elevada eosinofilia e hipergammaglobulinemia; o con manifestaciones clínicas como fiebre, astenia, anorexia y hepatoesplenomegalia. Cuando el enquistamiento larvario se localiza en el SNC, suele producir granulomas con signos de meningoencefalitis y convulsiones ⁽¹²⁾. Las larvas de *Toxocara canis* no completan su ciclo vital en los hospedadores humanos, por lo que nunca se encuentran huevos en las heces y por consiguiente no se puede hacer un diagnóstico por medio de un examen coproparasitológico. Por otro lado, debido a que las larvas del parásito se localizan en tejidos, su visualización directa para el diagnóstico etiológico es muy dificultosa. Por lo tanto, la demostración de la presencia de anticuerpos séricos circulantes específicos para antígenos larvarios, puede considerarse una apropiada forma para testear una población de riesgo, y determinar si existe la infección. ⁽⁴⁾

Las cifras de seroprevalencia en niños y en adultos muestran una distribución cosmopolita con amplias variaciones de acuerdo a las características sanitarias de cada país o región. Las poblaciones de bajo nivel socioeconómico presentan generalmente altas tasas de infección por *Toxocara* y concomitantemente también alta frecuencia de enteroparásitos; en los países desarrollados, aún cuando la prevalencia de enfermedades parasitarias es habitualmente baja, la Toxocariasis es la helmintiasis más frecuente ^(8,1).

En Argentina, se han publicado muchos trabajos sobre el tema, destacando la importancia de esta infección por su impacto en las poblaciones. Sin embargo, por tratarse de una patología que no es de notificación obligatoria y por la existencia de casos asintomáticos, las cifras reales de prevalencia no son bien conocidas y por ello la Toxocariasis tiene un bajo reconocimiento como problema de salud pública ⁽⁹⁾. Hay estudios que muestran que la infección y la enfermedad por *Toxocara canis* entre los niños de la ciudad de Resistencia (Nordeste de Argentina) es frecuente y que la contaminación de los suelos está presente ⁽³⁾.

Estas circunstancias nos indujeron a ampliar el conocimiento sobre la dimensión de la infección humana por este agente, para lo cual se decidió determinar la seroprevalencia en una de población adulta sana, representada por estudiantes de Medicina. Por otro lado, ya que el contacto cercano con el perro cachorro puede considerarse un importante factor de riesgo para adquirir esta parasitosis, el objetivo del presente trabajo fue determinar, mediante el análisis serológico, si la presencia del perro y el acercamiento frecuente con él representan un riesgo mayor para la infección en poblaciones sanas (inmunocompetentes), aunque no existan manifestaciones de síntomas clínicos de la enfermedad.

Material y método

Se utilizó el método de ELISA indirecto (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* - Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) para la detección de anticuerpos séricos. Es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado sobre un soporte (en este caso, antígeno de larvas de *T. canis*) se enfrenta a un primer anticuerpo (presente en el suero del paciente) que luego de un tiempo de incubación formarán un complejo antígeno-anticuerpo; este complejo se revela agregando un segundo anticuerpo (antiinmunoglobulina humana) enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable por un cambio de color en la solución final.

Se determinaron los niveles de anticuerpos contra *Toxocara canis* en dos poblaciones, ambas integradas por adultos sanos:

Primera población: grupo de estudio: 183 alumnos del tercer año de la carrera de Medicina, de entre 21 y 23 años de edad, provenientes de todo el país, presentados voluntariamente para el estudio. Todos son poseedores de perro como mascota.

Segunda población: grupo control: 30 individuos aspirantes a policías, de entre 20 a 25 años de edad. Ninguno posee perro como mascota.

Para el ensayo se utilizó un equipo comercial, que determina la presencia de anticuerpos IgG por el método de ELISA, provisto por IVD Research Inc.. Breve descripción: microcubetas fueron sensibilizadas con un antígeno excretor/secretor de larva de *Toxocara*. Durante la primera incubación con los sueros diluidos de los pacientes, los anticuerpos presentes reaccionan con los antígenos específicos ligándose a la microcubeta. Después de una serie de lavados para remover el exceso de suero, se agrega el conjugado enzimático. Si los anticuerpos estaban adheridos al pocillo, el conjugado enzimático se unirá a dichos anticuerpos. Después de otra serie de lavados, se agrega un cromógeno (tetramethylbenzidine o TMB) y el sustrato (peróxido de hidrógeno). Si el conjugado enzimático está presente, la peroxidasa catalizará la reacción consumiendo peróxido, oxidando al cromógeno que cambiará de color, pasando desde una solución incolora hacia una de color azul. Luego de una incubación de 15 minutos, se agrega una solución de frenado, para detener la reacción, percibiéndose otro cambio de color, de azul a amarillo brillante. Esta reacción final, puede ser leída visualmente o con un lector de ELISA a 450 nm.

Resultados

Se determinaron los niveles de anticuerpos séricos (serología) de las poblaciones investigadas; para lo cual las densidades ópticas (D.O.) de las muestras fueron leídas a 450 nm, y se determinó el grado de positividad (interpretación semicuantitativa) según IVD Research Inc. indica en el protocolo de la técnica, a saber:

D.O. (450 nm)	INTERPRETACIÓN	GRADO DE POSITIVIDAD
0 a 300	Negativo	(-)
300 a 500	Positivo	(+)
500 a 1000	Positivo	(++)
Mayor de 1000	Positivo	(+++)

Analizando las lecturas de las D.O. del grupo de estudio (Figura 1), se puede apreciar que 25 muestras de un total de 183 estudiadas, superan el valor de corte (D.O. 300), por lo que se interpretan como muestras positivas (presencia de anticuerpos específicos para *T. canis*). Mientras que en el grupo control (Figura 2) sólo una muestra de un total de 30, superó la línea de corte. Es decir, sólo una fue positiva.

En la Tabla 1 y en la figura 3, se muestra la interpretación de los resultados obtenidos a partir de las D.O. de las muestras de cada una de las poblaciones estudiadas (porcentaje de positivos).

Tabla 1: Interpretación de los resultados: proporción de serología positiva.

	Cantidad de Muestras Negativas	Cantidad de Muestras Positivas	Proporción de Positivos. (Prevalencia)
Población de estudio (n=183)	158	25	13,67 %
Grupo Control (n=30)	29	1	3,33 %

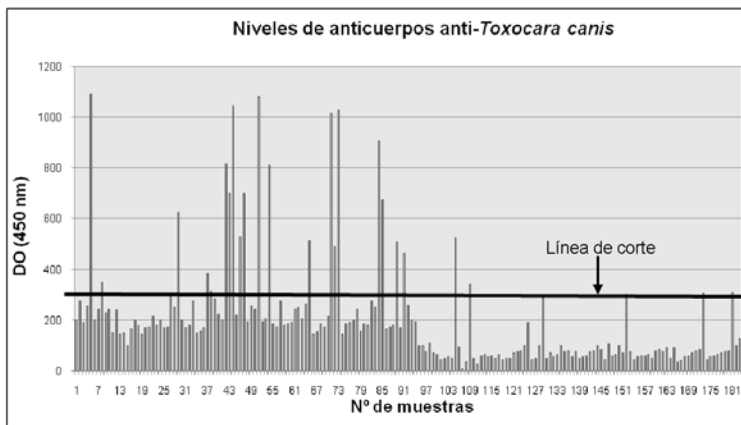


Fig.1: Niveles de anticuerpos en el grupo de estudio (estudiantes de Medicina, con perros)

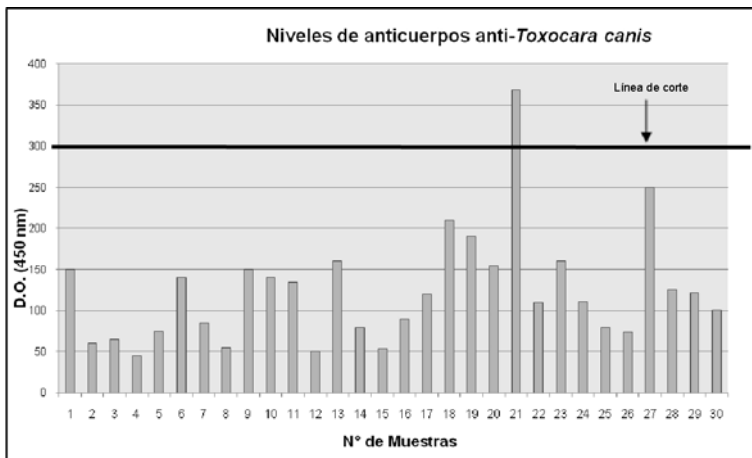


Fig.2: Niveles de anticuerpos en el grupo control (aspirantes a Policía, sin perros).

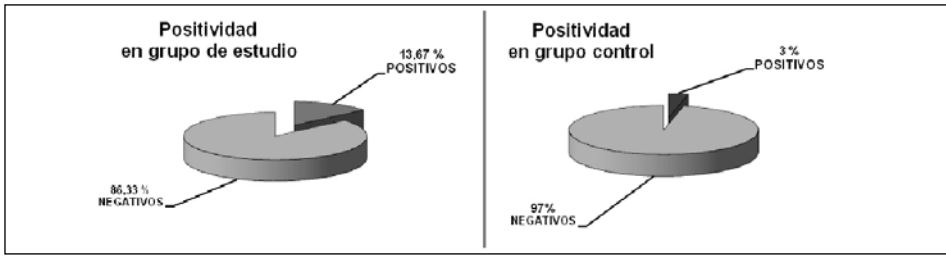


Fig.3: Proporción de positivos en las poblaciones estudiadas.

Comparando el porcentaje de positividad en ambos grupos (de estudio y control), se puede apreciar una mayor prevalencia de anticuerpos anti-*Toxocara canis* en los alumnos de medicina, todos poseedores de perro como mascota. (Figura 4)

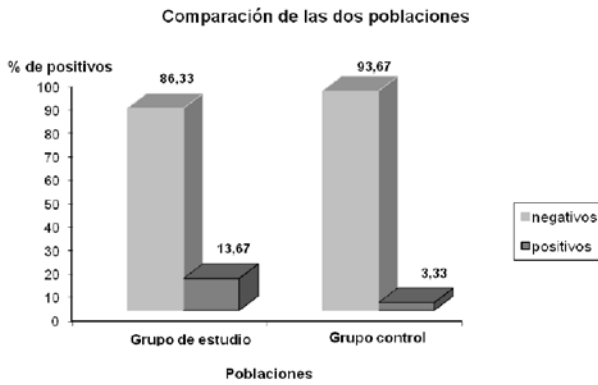


Fig.4: Comparación del porcentaje de positividad en las poblaciones estudiadas.

Además, a partir del análisis de los resultados se puede distinguir que las 25 muestras del grupo de estudiantes de medicina que arrojaron resultados positivos (D.O. mayor de 300), presentaron distintos grados de positividad (Tabla 2), aún cuando ningún individuo presentó sintomatología compatible con la infección.

Tabla 2: Distintos grados de positividad en las 25 muestras positivas del grupo de estudiantes de Medicina

MUESTRAS POSITIVAS	GRADO DE POSITIVIDAD	CANTIDAD DE MUESTRAS
Muestras N°: 8; 37; 38; 46; 72; 87; 93; 109; 155 y 175	(+) (D.O. 300 a 500)	10
Muestras N°: 28; 42; 43; 47; 54; 65; 85; 86; 90 y 107	(++) (D.O. 500 a 1000)	10
Muestras N°: 5; 44; 51; 71 y 73	(+++) (D.O. mayor de 1000)	5

Discusión

La Toxocariasis es una de las infecciones helmínticas más frecuentemente reportadas en el mundo.

En general, hay dos tipos de estudios reportados: unos que analizan la contaminación de suelos con huevos de *Toxocara canis* provenientes de heces caninas, y otros que investigan la seroprevalencia, fundamentalmente asociada con manifestaciones clínicas. Entre los primeros, se encontró que en la Ciudad de La Habana el 42,2 % de 45 muestras de suelo examinadas estaban contaminadas con huevos de *T. canis*, siendo larvados el 38,5 % de estos ⁽¹³⁾. Otros estudios refieren que en Perú, la prevalencia de infección en heces perros alcanza un 70,6%, en Brasil 20,5% y en Venezuela 60% ⁽¹²⁾. En este sentido, en nuestro país se llevaron a cabo estudios en diversos puntos geográficos, por ejemplo en Corrientes se encontró un 16% de prevalencia de contaminación con huevos de *T. canis* en heces caninas recolectadas en las aceras; en Resistencia, en parques públicos alcanzó el 33,3%; en el Chaco salteño fue del 17,2 % y en Chubut del 17,4% ⁽⁹⁾. Un estudio realizado en la ciudad de Córdoba demostró la presencia de huevos de *Toxocara spp.* en suelos de plazas y espacios verdes, con una prevalencia del 32%, y un total de 42% de perros infectados ⁽⁷⁾.

En Mar del Plata se hallaron huevos tanto en suelos de paseos públicos (14,17%) como en heces caninas (6,83%) ⁽¹²⁾.

En cuanto a la prevalencia de la infección humana, en la Argentina las cifras reales no se conocen debido a que se trata de una enfermedad que no es de notificación obligatoria.

Los estudios de seroprevalencia efectuados entre adultos sanos de áreas urbanas de países desarrollados señalan valores diversos, como ser 2% en Francia, 3,9% en Italia, 7% en Suecia, y valores más elevados en pobladores rurales, como ser 16% en Escocia. En los países en desarrollo, particularmente en los de climas cálidos, las cifras de prevalencia son generalmente altas, pudiendo alcanzar valores extremos como ser 92,8% entre los adultos de la isla de La Reunión ⁽⁵⁾.

En la ciudad de La Plata, estudios serológicos realizados en 156 pacientes adultos tomados al azar, de clínicas y hospitales, con o sin síntomas clínicos de la enfermedad, dieron valores positivos en el 39% de la población estudiada; mientras que las investigaciones llevadas a cabo en el hospital de niños de dicha ciudad, arrojó un 42,8% de positivos. En Salta los estudios serológicos en niños dieron positivos en un 20,4%, y en la provincia de Buenos Aires alcanzó el 23% ⁽³⁾.

En la ciudad de Córdoba, un estudio clínico y seroepidemiológico de la Toxocariasis, realizado en una población de 42 niños menores de 10 años, con epidemiología positiva para la parasitosis y eosinofilia mayor del 10%, demostró un 57,1% de serología positiva ⁽¹⁴⁾.

Por otro lado, la prevalencia de anticuerpos anti-*T. canis* en una investigación llevada a cabo en Brasil fue del 8,7 % y el único factor de riesgo analizado fue el contacto con el suelo contaminado con los huevos ⁽¹⁰⁾.

Todo lo expuesto refleja la variabilidad en la prevalencia de la Toxocariasis, debido a diversos factores, como la distribución geográfica del parásito, las condiciones socioambientales de las distintas poblaciones, el grado de contaminación del suelo con heces caninas, la falta de hábitos de higiene (sobre todo en la población infantil, que es la más vulnerable), entre otros.

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo demuestran una seroprevalencia en niveles moderados en los estudiantes de Medicina (una población adulta inmunocompetente, sin ninguna manifestación clínica compatible con la infección y con epidemiología positiva); y una seroprevalencia baja en los aspirantes a policía (grupo control, también una población adulta sana, pero con epidemiología negativa).

Además, se observó que en el grupo de estudiantes de Medicina las muestras positivas presentaron distintos grados de positividad siendo todos asintomáticos, por lo que no se podría establecer una correlación directa entre el nivel de anticuerpos séricos y las manifestaciones clínicas de la Toxocariasis. Aunque se debería estar alerta en estos casos

por eventuales complicaciones futuras, dependiendo de las localizaciones de las larvas del parásito.

Si bien el porcentaje de positividad serológica en ambas poblaciones fue relativamente bajo, se puede apreciar una mayor prevalencia de anticuerpos anti-*Toxocara canis* en los alumnos de medicina, todos poseedores de perro como mascota, respecto del grupo control, que no eran propietarios de canes, lo que sugiere que la intermediación permanente del animal favorece la infección parasitaria por parte de las personas.

Es por eso que el propósito final de este trabajo es divulgar las medidas para la prevención de la Toxocariasis y promoción de la salud, destacando la importancia de educar a la población en cuanto al cuidado y control veterinario de su mascota, y extremar las medidas de higiene para evitar la propagación de ésta y otras parasitosis.

Bibliografía

1. Anaruma Filho F, Chieffi P, Correa CR et al.: Human toxocariasis: a seroepidemiological survey in the municipality of Campinas (SP), Brazil. *Rev Inst Med trop S Paulo* 2002; 44: 303-307.
2. Atías A. Parasitología Clínica. Publicaciones Técnicas Mediterráneo. Santiago, Chile. 2006; pág. 163-170.
3. Alonso JM, Bojanich MV, Chamorro M, Gorodner J. Toxocara seroprevalence in children from a subtropical city in Argentina. *Rev Inst Med Trop S. Paulo* 2000; 42: 235-237
4. Basualdo J, Coto C, de Torres RA: Microbiología biomédica. Editorial Atlante. Buenos Aires. 2006, pág. 1317-1320.
5. Bojanich MV, López MA, Fernández GJ, Azula L, Alonso JM. Infección por *Toxocara canis* en población infantil vulnerable del noreste de Argentina. *Enf Emerg* 2008; 10: 84-87.
6. Botero D, Restrepo M. Parasitosis Humanas. Tercera Edición. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia. 1998; pág. 336-339.
7. Huck GA. Estudio parasitológico y epidemiológico de la Toxocariasis en la ciudad de Córdoba, Argentina. Tesis Doctoral. 1999.
8. López MA, Martín G, Chamorro MC, Alonso JM. Toxocariosis en niños de una región subtropical. *Medicina*. Buenos Aires. 2005; 65: 226-230.
9. Martini UO; Machuca PB.; Demonte MA, Contini L: Estudio en niños con diagnóstico presuntivo de Toxocariasis en Santa Fe, Argentina. *Medicina*. Buenos Aires. 2008, vol.68, n.5, pp. 353-357. ISSN 1669-9106.
10. Negri EC, Alvares SV, Rubinsky GE, Giuffrida R. Anti-*Toxocara* spp. antibodies in an adult healthy population: serosurvey and risk factors in Southeast Brazil. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2013. Journal homepage: www.elsevier.com/locate/apjtb.
11. Pizzi HL; Sánchez RJ; Carrizo de Huck, GA: Helminología. Edit Rotagraf. Córdoba. 2008. pág. 133-137.
12. Pizzi HL; Sánchez RJ; Carrizo de Huck GA; Tomás AF: El avance de los gusanos-Helminthos-un enfoque actual. Edit Rotagraf. Córdoba. 2012. pág 185-189.
13. Ramírez EF (Cuba), Mesén FJ (Costa Rica). Revista Médica del Caribe. Toxocariasis. WordPress.com. 2011
14. Sánchez RJ. Estudio clínico y seroepidemiológico de la Toxocariasis en la ciudad de Córdoba, Argentina. Tesis Doctoral. 2003.