



UBA
Universidad de Buenos Aires

UBA190
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES ANIVERSARIO

Facultad de Ciencias
VETERINARIAS
Universidad de Buenos Aires

Tesis Doctoral

***Epidemiología y patogénesis de Toxocara cati
en la infección experimental murina.***

Período 2005- 2011



Tesista: Natalia Marina Cardillo

Director: Dra. Irma Estela Sommerfelt

Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires.

*A mis padres, Mirta y Pablo,
a mi esposo Ariel y mi hija Giuliana,
mis seres más amados; sostenes pasados
y presentes de mi alma y mi profesión.*

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Irma E. Sommerfelt, Profesora titular de la Cátedra de Vet. en Salud Pública y Directora de la presente tesis doctoral; por haber creído en mi, por su estímulo y supervisión permanentes, su apoyo académico y sobretodo, personal.

A la Universidad de Buenos Aires, por haberme dado la oportunidad de dedicarme tempranamente a esta fascinante carrera científica.

A las impulsoras de este presente, la Dra. Adriana Rosa y Dra. Mabel Ribicich, Profesoras adjuntas de la Cátedra de Parasitología y Enf. Parasitarias, por sus consejos y amistad.

Al técnico para Bioterio Martín Brahamian, por su amistad, su meritoria colaboración en el desarrollo de esta tesis y por su apoyo incondicional.

A la Dra. Graciela Santillán, Directora del sector de Parasitología del Inst. "Carlos G. Malbrán" y su equipo, por su valiosísima ayuda y años de trabajo conjunto en el desarrollo del estudio inmunológico de la presente tesis.

A la Dra. Marta Minvielle y el Dr. Juan Basualdo Farjat, Facultad de Medicina, Universidad de La Plata, por su gentileza y colaboración.

A los estudiantes pasantes, concurrentes y ayudantes de la Cátedra de Veterinaria en Salud Pública de la UBA, por su valiosa participación en la realización del presente trabajo: Betina Daprato, Yanina Berra, Luciana Soprano, Catalina Gallo, Yanina Loiza, Florencia Sierra, Martín Kunic, Manté.

Al personal docente y no docente de la Cátedra de Veterinaria en Salud Pública de la UBA, por el compañerismo, la comprensión y cordialidad diaria.

A la Dra. Prof. Silvia Mundo y su equipo de la Cátedra de Inmunología Básica, por sus aportes y generosa colaboración.

A la Lic. Laura Marangunich, por el asesoramiento estadístico.

A todas aquellas personas que de alguna forma colaboraron y apoyaron la realización de esta investigación.

PRODUCCION CIENTÍFICA

TRABAJOS PRESENTADOS EN CONGRESOS Y JORNADAS

- Sommerfelt, I. E.; **Cardillo, N.**; Gallo, C.; López, C. Enteroparásitos en materia fecal de gatos obtenida en el ambiente. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. XVII Congreso Latinoamericano de Parasitología - IV Congreso Argentino de Parasitología - XXIX Jornadas Internacionales de Hidatidología. 23 al 26 de noviembre de 2005. Ciudad de Mar del Plata. Buenos Aires. Argentina.
 - **Cardillo, N.**; López, C.; Ribicich, M.; Sommerfelt, I. *Toxocara cati* infections in a mice model: migratory pattern and pathological responses. The 21st International Conference of the World Association for the Advancement of Vet. Parasitol. (WAAVP) 19 al 23 de agosto de 2007. Bélgica. Presentación: Poster.
 - **Cardillo, N.**; Rosa, A.; Sommerfelt, I. Preliminary result of the natural infection with *Toxocara cati* in cats. The 21st International Conference of the World Association for the Advancement of Vet. Parasitol. (WAAVP) 19 al 23 de agosto de 2007. Bélgica. Presentación: Poster.
 - **Cardillo, N.**; Brahamian, M.; Soprano, L.; Rosa, A.; López, C.; Ribicich, M.; Sommerfelt, I. Patrón migratorio de larvas de *Toxocara cati* en ratones infectados experimentalmente con huevos larvados. III Congreso Latinoamericano de Zoonosis. VI Congreso Argentino de Zoonosis. 18 al 20 de junio de 2008. Buenos Aires. Argentina. Presentación: Poster.
 - **Cardillo, N.** Epidemiología y patogénesis de *Toxocara cati* en la infección experimental murina. Jornada de becarios de investigación 2009. Subsecretaría de Ciencia y Técnica. FCV. UBA. Buenos Aires. Argentina. Res. (CD) N° 2046/09. 14 de mayo de 2009. Presentación oral
 - **Cardillo, N.** Estudios Inmunológicos sobre la infección experimental murina con *Toxocara cati*. Jornada de becarios de investigación 2010. Subsecretaría de Ciencia y Técnica. FCV. UBA. Buenos Aires. Argentina. Res. (CD) N° 173/10. 16 de junio de 2010. Presentación oral
 - **Cardillo, N.**; Brahamian, M.; Berra, Y.; Kunic, J.; Sommerfelt, I. Método de recuperación y concentración de huevos de *Toxocara cati* de materia fecal felina con fines
-

experimentales y diagnósticos. XXII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. 1 al 4 de septiembre de 2010, Lima, Perú. Presentación: Poster.

- **Cardillo, N.;** Santillán, G.; Céspedes, G.; Sosa, S.; Brahamian, M.; Sommerfelt, I. Respuesta serológica de ratones Balb/c infectados experimentalmente con huevos larvados de *Toxocara cati*. XXII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. 1 al 4 de septiembre de 2010, Lima, Perú. Presentación: Poster.
 - **Cardillo, N.** Desarrollo experimental con *Toxocara cati* en ratones. Resultados y aplicaciones. I Congreso Internacional de zoonosis y Enfermedades emergentes, VII Congreso Argentino de zoonosis. 8 al 10 de Junio de 2011. Disertante.
 - **Cardillo, N.;** Santillán, G.; Céspedes, G.; Sosa, S.; Daprato, B.; Sommerfelt, I. Respuesta de inmunoglobulinas G y M en ratones infectados experimentalmente con huevos larvados de *Toxocara cati*. I Congreso Internacional de zoonosis y Enfermedades emergentes, VII Congreso Argentino de zoonosis. 8 al 10 de Junio de 2011. Presentación: Poster.
 - **Cardillo, N.;** Duchene, A; Berra, Y.; Sommerfelt, I. Lesiones histopatológicas producidas por larvas de *Toxocara cati* durante la infección crónica en el modelo murino. I Congreso Internacional de zoonosis y Enfermedades emergentes, VII Congreso Argentino de zoonosis. 8 al 10 de Junio de 2011. Presentación: Poster.
 - Sommerfelt, I.; **Cardillo, N.;** Lòpez, C.; Daprato, B.; Berra, Y.; Franco, A. Patrón migratorio de *Toxocara cati* en la infección experimental porcina. I Congreso Internacional de zoonosis y Enfermedades emergentes, VII Congreso Argentino de zoonosis. 8 al 10 de Junio de 2011. Presentación: Poster.
 - **Cardillo, N.;** Brahamian, M.; Sommerfelt, I. Patrón migratorio en etapa crónica de larvas de *Toxocara cati* en el modelo murino infectado experimentalmente Jornada Investigadores Jóvenes. Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA. 16 y 17 de junio de 2011. Presentación: oral.
 - **Cardillo, N.;** Santillán, G.; Céspedes, G.; Sosa, S.; Daprato, B.; Sommerfelt, I. Diferenciación serológica de etapas aguda y crónica en la infección experimental murina con *Toxocara cati*. Congreso Argentino de Inmunología Veterinaria. 2 de diciembre de 2011. Presentación: Poster.
-

PUBLICACIONES

- Sommerfelt, I. E.; **Cardillo N.** López C, Ribicich M, Gallo C, Franco A. (2006) Prevalence of *Toxocara cati* and other parasites in cats' faeces collected from the open spaces of public institutions: Buenos Aires, Argentina. *Vet. Parasitol* 140 (3-4): 296-301.
 - **Cardillo, N.**; Rosa A.; Ribicich, M.; López, C.; Sommerfelt, I. (2009) Migratory pattern and pathological alterations produced by *Toxocara cati* in experimental infected mice. *Zoonosis and Public Health*. 56 (4):198 – 205.
 - **Cardillo, N.**; Rosa, A.; Sommerfelt, I. (2009) Estudio preliminar sobre los distintos estadios de *Toxocara cati* en Gatos. *Parasitología Latinoamericana*. 63: 72 – 75.
 - **Cardillo, N.** (2010) Familia Ascaridoidea. *Parasitología y Enfermedades Parasitarias en Veterinaria*. Rosa, A.; Ribicich, M. Ed. Hemisferio Sur. En prensa.
 - Daprato, B.; **Cardillo, N.**; Kunic, M.; Berra, Y.; Sommerfelt, I. (2011) Persistencia de la contaminación ambiental por huevos de *Toxocara cati* en un espacio público. Argentina Una Salud. *Revista Sapuvet de Salud Pública*. 2(1): 25-35.
 - **Cardillo, N.**; Santillán, G.; Céspedes, G.; Sosa, S.; Sommerfelt, I. Respuesta de inmunoglobulinas G y M en ratones infectados experimentalmente con huevos larvados de *Toxocara cati*. *Experimental Parasitology*. En prensa.
 - **Cardillo, N.**; Brahamian, M.; Berra, Y.; Kunic, J.; Sommerfelt, I. Método de recuperación y concentración de huevos de *Toxocara cati* de materia fecal felina con fines experimentales y diagnósticos. En redacción.
 - **Cardillo, N.**; Brahamian, M.; Daprato, B.; Berra, Y.; Sommerfelt, I. Comportamiento migratorio y aspectos inmunopatológicos de la infección aguda y crónica de *Toxocara cati* en el modelo murino. En redacción.
-

“Solamente cuando sabemos muy poco sobre un tema es cuando estamos seguros; es con el conocimiento que surgen y crecen las dudas.”

Wolfgang Goethe, 1829.

CONTENIDOS

▣ RESUMEN/ ABSTRACT	4
▣ ABREVIATURAS.....	8
▣ INTRODUCCIÓN GENERAL.....	9
<i>Toxocara cati</i>	10
EL AGENTE	10
EL AMBIENTE.....	13
EL HOSPEDADOR FELINO.....	17
CICLO BIOLÓGICO.....	17
LA ENFERMEDAD EN EL FELINO	20
HOSPEDADORES PARATÉNICOS	22
TOXOCARIOSIS HUMANA	25
EL RATÓN COMO MODELO EXPERIMENTAL	30
PATOGENIA DE <i>Toxocara spp.</i>	33
RESPUESTA INMUNOLÓGICA DE LA INFECCIÓN POR <i>Toxocara spp.</i>	35
▣ HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	38
HIPÓTESIS.....	38
OBJETIVO GENERAL	38
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	39
▣ MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES.....	40
❖ Obtención de huevos de <i>T. cati</i> y preparación del inóculo	40
❖ Diseño experimental de la infección aguda.....	40
❖ Evaluación clínica.....	41
❖ Análisis coproparasitológico.....	41
❖ Eutanasia y extracción de muestras.....	42
▣ ESTUDIO DEL PATRÓN MIGRATORIO DE <i>Toxocara cati</i>	43
INTRODUCCIÓN.....	44

MATERIALES Y MÉTODOS	45
❖ <i>Digestión artificial.....</i>	45
❖ <i>Análisis estadístico.....</i>	45
RESULTADOS	46
ETAPA AGUDA DE LA INFECCIÓN	46
❖ <i>Recuperación de larvas con inóculos de 100 huevos larvados de T. cati administrados por ratón.....</i>	47
❖ <i>Recuperación de larvas con inóculos de 500 huevos larvados de T. cati administrados por ratón.....</i>	48
❖ <i>Recuperación de larvas con inóculos de 1000 huevos larvados de T. cati administrados por ratón.....</i>	49
❖ <i>Recuperación de larvas en el hígado.....</i>	50
❖ <i>Recuperación de larvas en pulmón.....</i>	50
❖ <i>Recuperación de larvas en riñón</i>	51
❖ <i>Recuperación de larvas en cerebro.....</i>	51
❖ <i>Recuperación de larvas en la carcaza</i>	51
ETAPA CRÓNICA DE LA INFECCIÓN.....	52
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	54
■ ESTUDIO MACROSCÓPICO Y MICROSCÓPICO DE ÓRGANOS Y TEJIDOS.....	58
INTRODUCCIÓN.....	66
MATERIALES Y MÉTODOS	60
RESULTADOS	61
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	67
■ ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA	71
INTRODUCCIÓN.....	79
MATERIALES Y MÉTODOS	73
❖ <i>Recuperación y concentración del antígeno excretor secretor de larvas de T. cati</i>	73
❖ <i>Evaluación de la capacidad antigénica de los productos ES.....</i>	73
❖ <i>Determinación de la presencia de inmunoglobulinas M y G en el suero de los ratones infectados experimentalmente con T. cati.....</i>	74
❖ <i>Técnica de Western Blot.....</i>	75
❖ <i>Análisis estadístico.....</i>	75
RESULTADOS	77

❖ Elisa indirecto.....	77
❖ Western Blot.....	79
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....	81
■ CONCLUSIONES FINALES Y PROPUESTAS.....	86
■ BIBLIOGRAFÍA.....	90
BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	90
BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA.....	106
■ ANEXO.....	113
PARTICIPACIÓN EN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN.....	113
ACTIVIDADES COMPLEMENTARIAS.....	113

RESUMEN

La Toxocariosis es una de las enfermedades parasitarias de mayor prevalencia en caninos y felinos a nivel mundial.

Toxocara cati es un nematode que parasita el aparato digestivo de los felinos. Producen huevos que son eliminados con la materia fecal de sus hospedadores, contaminando el ambiente. El huevo larvado se desarrolla en el medio y es la forma infectante para otros felinos, hospedadores paraténicos y el hombre. Existe escasa evidencia sobre el comportamiento biológico e inmunológico de los hospedadores frente a la infección por *T. cati*, pero se sabe que las larvas tienen capacidad migratoria por los tejidos y en el ser humano producen, entre los más reconocidos: el Síndrome de Larva Migrans Visceral; Toxocariosis ocular y Toxocariosis Encubierta.

El ratón es un hospedador paraténico natural de *T. cati* y las larvas tisulares son infectantes para felinos cazadores. Como modelo de experimentación, el ratón presenta similitudes con el humano tanto en la ruta migratoria como en la patogénesis de la enfermedad.

Los antígenos de excreción-secreción (ES) liberados por las larvas parásitas durante el proceso migratorio juegan un papel relevante en el diagnóstico de la Toxocariosis humana, cuya utilización evidencia la presencia de Inmunoglobulinas específicas de la infección.

Se realizó un estudio experimental en ratones, con tres pruebas independientes y diferentes dosis de huevos larvados de *Toxocara cati*, obtenidos de materia fecal de felinos naturalmente infectados. Se estudió el patrón migratorio y las características de las lesiones producidas durante la etapa aguda y crónica de infección. La respuesta inmunológica se determinó por detección de inmunoglobulinas específicas M y G.

Las larvas migraron al hígado, pulmón y cerebro en la fase aguda y se concentraron en los músculos del ratón en la etapa crónica. Se observaron lesiones macroscópicas en la superficie del cerebro y en el pulmón, en la etapa aguda, y microscópicamente, lesiones inflamatorias en el hígado, pulmón cerebro y

músculo en ambas etapas. No se observó la formación de granulomas parasitarios o signos de encapsulamiento de larvas en ningún momento de la infección.

Se observaron diferencias significativas en el comportamiento de las curvas de Inmunoglobulinas M y G, entre el grupo infectado y el grupo control y entre las fechas p.i., pudiendo diferenciarse la infección aguda y crónica. La evidencia de bandas de bajo peso molecular (31 y 52 Kda.) en el Western Blot de los sueros positivos a la técnica de ELISA, son indicativas de una respuesta específica a *Toxocara spp.* y difirieron entre inmunoglobulinas entre las fases aguda y crónica. Las bandas de IgM se observaron con mayor intensidad que las IgG en la etapa aguda, estas últimas presentes en todos los días p.i.

Los resultados de este estudio demuestran la infectividad de los huevos de *T. cati* que son eliminados al ambiente con la materia fecal del gato. El comportamiento migratorio de las larvas de *T. cati* en el ratón y la tendencia a concentrarse en la musculatura esquelética, refuerzan la importancia del ratón como hospedador paraténico y reservorio en el ciclo del parásito en la naturaleza.

La presencia de lesiones inflamatorias en los tejidos, en ausencia de formación de granulomas parasitarios podría sugerir una menor virulencia de esta especie con igual patogenicidad que *T. canis*. Este aspecto podría traducirse en una menor restricción inmunológica de las larvas.

El comportamiento inmunológico del ratón frente a las larvas migrantes de *T. cati* mostró una tendencia explicativa de las etapas aguda y crónica de la migración e indicó una respuesta específica frente a esta especie en las bandas de bajo peso molecular observadas en el Western Blot de los sueros positivos.

Los resultados del presente estudio integral de la infección de *T. cati* en el modelo animal murino, aportan nuevos conocimientos sobre el comportamiento de las larvas durante el proceso migratorio y sobre la respuesta inmunopatológica del ratón frente a la infección; demuestran el potencial del antígeno obtenido de larvas de huevos presentes en materia fecal y posibles herramientas para el diagnóstico de Toxocariosis en el humano.

ABSTRACT

Toxocariasis is one of the most prevalent parasitic diseases in dogs and cats, worldwide. *Toxocara cati* is a nematode that affects the digestive tract of cats. Produce eggs that are eliminated to the environment with the feces of their hosts and developed inside an infective larvae for another cats, paratenic hosts and men.

The larvae can migrate through the hosts tissues and produce in man the Larva Migrans syndrome. There is little evidence of biological and immunological behavior of the host against infection by *T. cati*. Mice are natural paratenic hosts in the parasite's life cycle and larvae remained infective in their tissues for feline hunters. As experimental model, the mouse has similarities with humans both in the migratory route and in the pathogenesis of the disease.

The excretory-secretory antigens (ES) released by the parasitic larvae during the migration process play an important role in the diagnosis of human Toxocariasis, the use of immunoglobulins showed the presence of specific infection by ELISA and Western Blot.

An experimental study was conducted in mice, with three independent experiments and different doses of larvae of *T. cati* eggs. There were conducted the study of the migratory pattern and lesions made during the acute and chronic phase of the infection. The immune response was determined by detection of specific immunoglobulins M and G.

The larvae migrate to the liver, lung and brain in the acute phase and concentrated in the muscles of the mouse in the chronic stage. Gross lesions were observed on the surface of the brain and lungs, in the acute stage, and microscopically, inflammatory lesions were observed in the liver, lungs, brain and muscle in both stages. There was no granuloma formation or signs of parasitic larval encapsulation during the infection.

Significant differences in the behavior of the curves of immunoglobulin M and G, between the infected group and the control group and between p.i. dates

were observed, and could be differentiated between acute and chronic infection. Evidence of bands of low molecular weight (31 and 52 kDa) in Western blotting of positive sera by ELISA technique, are indicative of a specific response to *Toxocara spp.* Infection and differed between immunoglobulins between acute and chronic phases. IgM bands were observed with greater intensity than IgG in the acute stage, the latter were present in every p.i. date.

The results of this study demonstrate the infectivity of *T. cati* eggs eliminated in cats feces to the environment. The migratory behavior of *T. cati* larvae in the mouse and its concentration in muscle, reinforce the importance of mouse as paratenic host and reservoir of the parasite cycle in nature.

The presence of inflammatory lesions in tissues, in the absence of parasitic granulomas might suggest a lower virulence of this species with similar pathogenic like *T. canis*. This could lead to reduced immunological restriction of the larvae.

The behavior of the immunology of mouse against migration larvae of *T. cati* showed a tendency that could be explained in the acute and chronic stages of migration, indicating a specific response against this species in the low molecular weight bands observed in Western blot positive sera.

The results of this study provide new insights into the behavior of the larvae of *T. cati* during migration in the mouse and the immunopathologic response to infection, showing the potential of the antigen obtained from larvae of eggs presents in stool, and brings a new tool for the diagnosis of Toxocariasis in humans.

ABREVIATURAS

ABTS	2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
ANLIS	Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud
AVMA	Animal Veterinary Medical Association
CICUAL	Comité Institucional para el Cuidado y Uso de animales de Laboratorio
DAB	Diaminobencidina
DO	Densidad óptica
ELISA	Enzimoimmunoensayo
H/E	Hematoxilina eosina
HCL	Acido clorhídrico
hs.	Horas
I.C.	Intervalo de confianza
IgG 1, 2, 4	Idiotipos 1, 2 y 4 de Inmunoglobulinas G
IgG	Inmunoglobulina G
IgM	Inmunoglobulina M
Kd.	Kilodalton
L3	Tercer estadio larval de <i>Toxocara spp.</i>
LMV	Larva Migrans Visceral
ml.	mililitro
mm.	milímetros
nm.	nanómetro
p.i.	Post infección
p	Probabilidad estadística
PM	Peso molecular
SDS Page	Eelectroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio
spp.	Especie
<i>T. canis</i>	<i>Toxocara canis</i>
<i>T. cati</i>	<i>Toxocara cati</i>
TE	Toxocariosis encubierta
TES	Antígenos excretorios secretores
TO	Toxocariosis ocular
ug.	microgramo
um.	Micras
r²	Coefficiente de regresión cuadrática
X²	Parámetro estadístico
F	Parámetro estadístico

INTRODUCCIÓN GENERAL



Toxocara cati

EL AGENTE

Toxocara cati se encuentra dentro de los 50 géneros de nematodos pertenecientes a la familia Ascarididae, que parasitan el tubo digestivo de hospedadores vertebrados (Soulsby, 1987). Son parásitos cosmopolitas, de alta prevalencia en regiones de clima templado y muchas especies de esta familia son zoonóticas (Glickman & Schantz, 1981; Worley, *et. al.*, 1984; Oteifa, *et. al.*, 1997).

Toxocara cati (Schrank, 1788) afecta a felinos domésticos y silvestres. Presenta un ciclo parasitario monoxeno con estadíos de vida libre, donde las condiciones ambientales y la presencia de hospedadores paraténicos juegan un rol fundamental en la dispersión del parásito (Dubinsky, *et. al.*, 1995). La transmisión se favorece por condiciones de hacinamiento o de alta densidad de animales en ambientes contaminados con huevos larvados, y el hábito de caza de hospedadores paraténicos (Glickman & Schantz, 1981). Su alta prevalencia en el felino doméstico y el potencial zoonótico hacen que esta especie sea de particular interés en salud Pública (Fisher, 2003).

Morfológicamente, es un nematode robusto, de cutícula gruesa y coloración blanco amarillenta. En la extremidad anterior presenta tres labios prominentes rodeando la abertura bucal (uno dorsal y dos subventrales), y aletas cervicales anchas y estriadas, semejando una punta de flecha (Railliet & Henry, 1911; Soulsby, 1987). La extremidad posterior del macho finaliza en forma espiralada y posee un par de espículas iguales; careciendo de bolsa copulatriz. La extremidad posterior de la hembra es roma y la vulva se presenta en distal de la mitad anterior del cuerpo. Las hembras miden 4 a 10 cm. de longitud y los machos, 3 a 7 cm. **(Fig. 1)** Las larvas poseen una longitud de 400 um. por 12 – 16 um. de ancho (Railliet & Henry, 1911; Sprent, 1985; Bowman, *et. al.*, 2003). **(Fig. 2)**

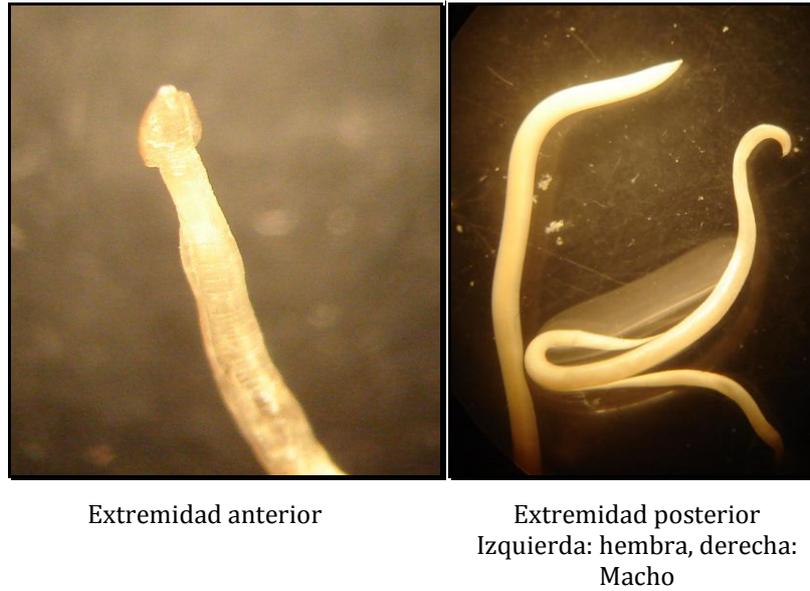


Fig. 1. *T. cati* adultos.



Fig. 2. Larva migrante de *T. cati*.

Los estadios adultos de *T. cati* producen huevos inmaduros que son eliminados con las heces de los hospedadores definitivos y desarrollan en el ambiente una larva infectante (Sprent, 1985). Debido al alto potencial biótico (19000 a 24000 huevos /día /hembra) provocan extensa contaminación del medio ambiente, otorgándole un rol sustancial en la transmisión de esta parasitosis (Dubey, 1967; Parsons, 1987). Los huevos de *T. cati* son no segmentados, esféricos o ligeramente ovals, de color pardo amarillento y miden alrededor de 65 a 75 μm . En el interior del huevo se encuentra un único blastómero rodeado de una cámara de aire. **(Fig. 3)** La gruesa membrana compuesta por una capa uterina mucopolisacárida, una capa vitelina lipoproteica y una capa quitino-proteica, le

otorgan propiedades de gran adherencia a las superficies, resistencia mecánica y química a factores adversos del medio ambiente y permeabilidad selectiva (Oshima, 1961; Brunaska, *et. al.*, 1995).



Fig. 3. Estadíos evolutivos del huevo de *T. cati*.

La porción externa de la membrana es rugosa debido a la presencia de múltiples protuberancias quitinosas que dejan surcos intermedios. Las características de estas prominencias y el número de surcos son propios de cada género y especie (Parsons, 1987). **(Fig. 4)**



Fig. 4. Ruptura de la membrana de un huevo larvado de *T. cati*, nótese las rugosidades externas refringentes de la membrana.

En el interior del huevo se desarrolla una larva infectante de tercer estadio (L3) que, al eclosionar, conserva la cutícula de la larva del estadio anterior (L2) (Araujo, 1972; Brunaska, *et. al.*, 1995).

EL AMBIENTE

La presencia de huevos larvados de *Toxocara spp.* en espacios públicos representa una fuente de infección para hospedadores definitivos, paraténicos y para la población humana (Glickman & Schantz, 1981; O'Lorcain, 1994; Sommerfelt, *et. al.*, 1994; Dubinsky, *et. al.*, 1995; Alonso, 2001; Sommerfelt, *et. al.*, 2006).

La resistencia de los huevos a factores climáticos y químicos, influye en su permanencia en el ambiente por períodos prolongados. El tipo de suelo, la oxigenación, la temperatura ambiente y la humedad (25 °C a 35 °C y 80 % de humedad) son los principales factores que determinan el tiempo de evolución de la larva de tercer estadio (L3), que en óptimas condiciones se produce entre 20 a 28 semanas (Sarles & Stoll, 1935). Los huevos de *T. cati* poseen gran resistencia a la congelación, comparados con los de *T. canis* (O'Lorcain, 1994).

La contaminación del suelo por *Toxocara spp.* es mucho mayor hacia fines de la primavera que hacia fines del verano (se duplica el número de muestras de suelo positivas, con un aumento cinco veces superior del número de huevos), probablemente relacionado con el período reproductivo del hospedador definitivo y con la destrucción física de los huevos en el ambiente debido a las altas temperaturas y la irradiación solar del verano (Mizgajska, 2001). Una vez desarrollada la larva, hay reportes que indican que la misma puede permanecer viable durante años en el interior del huevo (Sarles & Stoll, 1935; Snow, *et. al.*, 1987; Ludlam & Platt, 1989; Shimizu, 1993; Uga, *et. al.*, 1996; Overgaauw, 1997; Lescano, *et. al.*, 1998; Alonso, *et. al.*, 2001). Se señala que la mayoría pierde su viabilidad y capacidad infectiva durante los primeros 6 meses luego de ser depuestos por el hospedador definitivo (Dunsmore, *et. al.*, 1984; Lloyd, 1993).

Numerosos estudios se han publicado sobre la prevalencia de *Toxocara spp.* en muestras de suelo a nivel mundial y sobre heces caninas en espacios públicos, responsabilizando a *T. canis* de importantes porcentajes de contaminación del medio ambiente, especialmente en parques y lugares de recreación (Snow, *et. al.*, 1987; Moretti, *et. al.*, 1988; Abo-Shehada, 1989; Conde

García, *et. al.*, 1989; Ludlam & Platt, 1989; Uga, *et. al.*, 1989; Winkel, *et. al.*, 1990; Holland, *et. al.*, 1991; Sommerfelt, *et. al.*, 1992; Beugnet & Gadat, 1993; Jansen, *et. al.*, 1993; Minvielle, *et. al.*, 1993; Sommerfelt, *et. al.*, 1994; Alvares Santarem, *et. al.*, 1998; Fonrouge, *et. al.*, 2000; Castillo, *et. al.*, 2000; Ferre & Dorchies, 2000; Alonso, *et. al.*, 2001; Mizgajska, 2001; de Ybañez, *et. al.*, 2001; Habluetzel, *et. al.*, 2003; Capuano & Rocha, 2005; Aydenizöz-Özkayhan, 2006; Zibaei & Sadjjadi, 2010; Zibaei, *et. al.*, 2010a).

En estudios realizados en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina, por Sommerfelt, *et. al.*, (1992), se encontraron 13 plazas positivas de 14 paseos públicos estudiados. En el suelo de 11 de ellas (78.6 %), se encontraron huevos de *Toxocara spp.* y de las 11 plazas con areneros, cinco resultaron positivas al parásito (45.5 %) Al estudiar la viabilidad de los huevos presentes en muestras de materia fecal recogidas del ambiente, Sommerfelt, *et. al.*, (1996) observaron que el 74 % de las muestras que habían sido positivas luego de la incubación, desarrollaron huevos larvados de características infectantes.

Estudios comparativos de contaminación entre zonas rurales y urbanas revelaron una mayor prevalencia de *Toxocara spp.* en estas últimas y en patios de casas de centros urbanos (Grundlach, *et. al.*, 1996, Mizgajska, 2001; Dubna, *et. al.*, 2007).

Sommerfelt, *et. al.*, (2006), estudiaron la prevalencia de parasitosis entéricas en poblaciones felinas libres que habitaban espacios públicos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, encontrando el 100 % de estas instituciones positivas a *T. cati*, con una prevalencia del 35.7 %. **(Fig. 5)**



Fig. 5. Poblaciones felinas residentes en instituciones públicas de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

La mayoría de los estudios realizados hasta el presente responsabilizaron a *T. canis* como el principal agente causal de la enfermedad en el ser humano, aunque la diferenciación de especie no hubiera sido realizada. Es por ello que los trabajos sobre *T. cati* son menos numerosos, siendo esta especie históricamente subestimada al suponer menor contaminación ambiental por heces felinas (Headlee, 1936; Schantz, *et. al.*, 1980; Gillespie, 1988; Jansen, *et. al.*, 1993; Uga, *et. al.*, 1996; Martínez Barbosa, *et. al.*, 1997, Lescano, *et. al.*, 1998; Coatí, *et. al.*, 2004; Fisher, 2003).

Diferentes estudios comparativos demostraron que la infección por *Toxocara* es más frecuente en gatos que en perros (Vanparijs, *et. al.*, 1991; Epe, *et. al.*, 1994; Dubinsky, *et. al.*, 1995; Mizgajska, 1995; Torres, *et. al.*, 1995; Yamaguchi, *et. al.*, 1996; Overgaauw, 1997a; Luty & Mizgajska, 1999). En un estudio de Mizgajska & Rejmenciak, (1997), donde diferenciaron los huevos presentes en el suelo, el 53.4 % fueron clasificados pertenecientes a la especie *T. cati*, el 33.9 % a la especie *T. canis*, y el 10.7 % como indiferenciados. En el mismo estudio, la contaminación en áreas urbanas por *T. cati* fue dos veces mas alta que por *T. canis*, mientras que en áreas rurales no encontraron diferencias en la prevalencia de ambas especies.

Mizgajska, (1998) demostró que los huevos de *Toxocara spp.* penetran lentamente el perfil de un suelo arenoso suelto, permaneciendo en los 3 cm. superiores del suelo durante un año. Un 99.4 % de los huevos de *T. cati* permaneció a 1 cm. de la superficie, con un 67.1 % de viabilidad, mientras que *T. canis* mostró mayor penetración, permaneciendo un 93.8 % en superficie, con un 88.3 % de viabilidad.

Se señala que los areneros están particularmente contaminados con *T. cati* dado que representa, para los felinos, un sustrato predilecto para enterrar sus heces (Overgaauw, 1997a) y estos lugares se señalan como factores de riesgo de infección humana (Paludo, *et. al.*, 2007). Uga, *et. al.*, (1996), en un estudio sobre hábitos de defecación de gatos y perros, observó que el 1 % (11/972) de los animales que defecaban en areneros durante un período de 4 meses y medio, eran caninos, mientras que el resto fueron felinos sin propietario. En el mismo estudio,

la prevalencia de *T. cati* se correspondió con un 25 a 67 % de los diferentes areneros muestreados.

La presencia de felinos infectados con *T. cati* en espacios públicos, sus hábitos de defecación y el contacto directo de esta especie con el hombre, podría suponer al igual que con *T. canis*, un riesgo zoonótico aún no cuantificado (Dubinsky, *et. al.*, 1995; Uga, 1993; Sadjjadi, *et. al.*, 2001; Fisher, 2003; Zibaei, *et. al.*, 2007).

EL HOSPEDADOR FELINO

CICLO BIOLÓGICO

Las formas infectantes para los felinos son el huevo larvado (L3) presente en el ambiente y las larvas enquistadas en los tejidos de hospedadores paraténicos. **(Fig. 6)** La forma infectante adquirida determina diferencias en el ciclo y la duración del período prepatente en el hospedador definitivo (Sprent, 1956).

Cuando un hospedador felino ingiere un huevo larvado, este eclosiona en el estómago y duodeno, y las larvas atraviesan la pared del intestino delgado pudiendo seguir dos rutas migratorias, denominadas:

- *Migración traqueal:* Ocurre, principalmente, en los animales de corta edad debido al escaso desarrollo del sistema inmunológico. La mayoría de las larvas presentes en el intestino migran por el sistema porta hacia el hígado, llegan por la vena cava al corazón y de allí al pulmón, atraviesan capilares e ingresan en los alvéolos, ascienden por el árbol bronquial, son expectoradas y deglutidas. En la primera porción del duodeno se desarrollan los adultos a los 28 días p.i. (Sprent, 1956; Beaver, 1952; Dubey, 1978). El comienzo de la puesta de huevos comienza a los 56 días p.i.; por lo que el período prepatente a través de la ingesta de huevos larvados es de aproximadamente 2 meses (Overgaauw, 1997a).

- *Migración Somática:* La migración somática se produce en los animales adultos que han desarrollado inmunidad frente a *Toxocara*. Las larvas que eclosionan del huevo en el intestino, migran al pulmón de la misma manera que en la migración traqueal pero continúan por la circulación hacia el corazón izquierdo y se diseminan por el organismo a través de la circulación general. Diversos autores postularon que estas larvas permanecen en los tejidos en estado de hipobiosis (Sprent, 1956; Scothorn, *et. al.*, 1965; Swerczek, *et. al.*, 1971; Dubey, 1978; Nelson, 1988).

En el ciclo de *T. cati*, la migración traqueal se produce principalmente en los cachorros y en menor medida en los adultos (Overgaauw, 1997a). Diversos autores han sugerido una menor inmunogenicidad de *T. cati* debido a la presencia de altas cargas de parásitos sexualmente maduros en el intestino de felinos adultos (Greve, 1971; Schantz, *et. al.*, 1979; Glickman & Schantz, 1981; O’Lorcain, 1994; Fisher, 2003; Antolová, *et. al.*, 2004; Cardillo, *et. al.*, 2008).

Varios autores indicaron que la migración somática en el felino, constituiría una estrategia de transmisión, promoviendo la infección en la descendencia por transmisión vertical galactógena (Scothorn, *et. al.*, 1965; Swerczek, *et. al.*, 1971; Dubey, 1978; Nelson, 1988). Una proporción de las larvas enquistadas se movilizarían durante el último tercio de la gestación debido a factores hormonales e inmunológicos y se dirigirían a la glándula mamaria. Los estudios de Sprent, (1956), reportaron la ausencia de transmisión transplacentaria en felinos, y Swerczek, *et. al.*, (1971) la relevancia de la transmisión vertical galactógena, en función de la recuperación de larvas obtenidas a partir de los tejidos de cachorros de madres natural y experimentalmente infectadas con *T. cati*. Coatí, *et. al.*, (2004), demostraron la transmisión galactógena únicamente en felinos que adquirieron la infección durante el último tercio de la preñez, sugiriendo que el fenómeno de arresto larvario no implicaría una estrategia parasitaria de transmisión vertical en el ciclo de *T. cati*, sino que ocurriría a consecuencia de migraciones erráticas del parásito. En un estudio preliminar realizado por Cardillo, *et. al.*, (2008), en 12 felinos sin propietario y de distintas edades, no se evidenció la presencia de larvas migrantes de *T. cati* en los tejidos, pero sí presencia de huevos en materia fecal y parásitos adultos en el intestino.

T. cati es un nematode específico de especie, no obstante una extensa variedad de animales pueden actuar como hospedadores paraténicos cuando ingieren accidentalmente la forma infectante de este parásito. En estos ocurre una migración somática de larvas, las que pueden ser adquiridas por el felino cuando depreda al hospedador paraténico. **(Fig. 6)** Las larvas así adquiridas o por transmisión vertical, desarrollan a adultos en el intestino delgado del gato sin realizar migraciones, y el período prepatente se reduce a 21 días, aproximadamente (Sprent, 1956). Por este motivo, se postula que en algún

momento de la evolución de estos parásitos, los hoy hospedadores paraténicos, fueron alguna vez hospedadores intermediarios en el ciclo biológico (Nadler & Hudspeth, 2000).

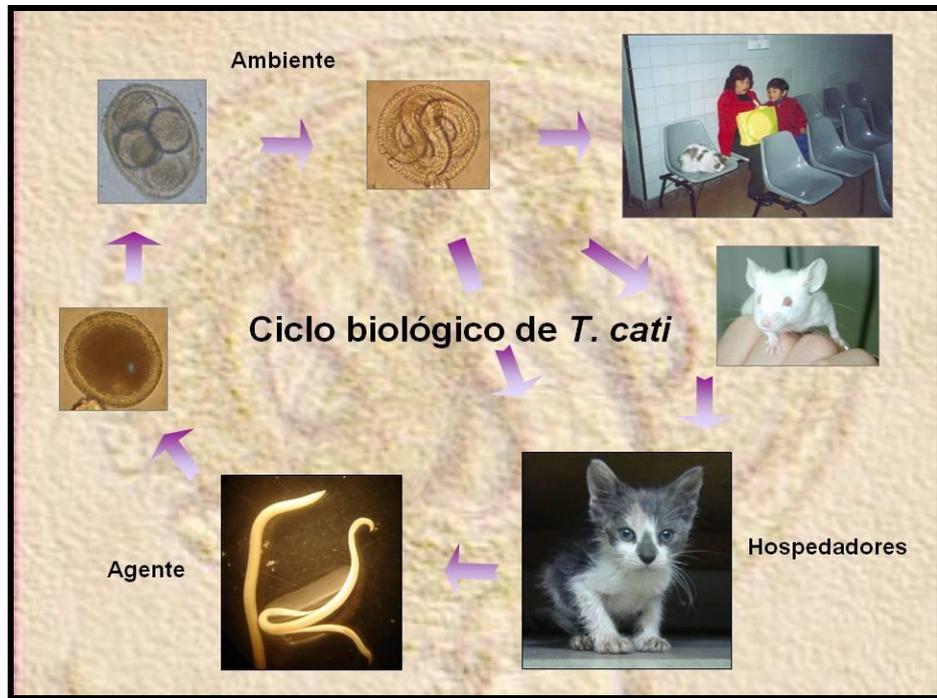


Fig. 6. Ciclo biológico de *Toxocara cati*.

La escasa evidencia sobre el comportamiento biológico de *T. cati* en hospedadores definitivos y paraténicos, plantea múltiples interrogantes sobre la relación hospedador- parásito, tiempos y características de la migración, tropismos tisulares, estrategias de supervivencia y transmisión en el ciclo (Fisher, 2003).

LA ENFERMEDAD EN EL FELINO

La enfermedad parasitaria producida por especies del género *Toxocara* se denomina Toxocariosis y es una de las parasitosis de mayor prevalencia en los caninos y felinos a nivel mundial (Barriga, 1988; Glickman, 1993, Magnaval, *et. al.*, 2001; Labarthe, *et. al.*, 2004; Logar, *et. al.*, 2004).

Los animales de corta edad son los más afectados clínicamente, mientras que en los adultos la enfermedad suele ser subclínica. (Magnaval, *et. al.*, 2001; Logar, *et. al.*, 2004). La carga parasitaria es uno de los factores principales que determinan la presentación e intensidad de la sintomatología (Parsons, 1987).

T. cati se nutre del contenido del tracto gastrointestinal del felino, encontrándose libre dentro del tubo digestivo, por lo que es frecuente la eliminación espontánea de ejemplares adultos en el vómito o en las heces.

A diferencia de *T. canis*, la infección se hace patente a mayor edad en el felino debido a la ausencia de transmisión transplacentaria (Overgaaauw, 1997a). Los signos se observan frecuentemente a partir de los 3 meses de edad y son similares a los observados en *T. canis* pero en menor intensidad (Parsons, 1987). Se observa abaloramamiento del abdomen en medianas y altas cargas de parásitos, debidas al tamaño de los ejemplares adultos presentes en los pequeños intestinos del animal. En estos casos, los parásitos pueden ocasionar obstrucciones del intestino e incluso ruptura de la pared (Hayden y Kruiningen, 1975). **(Fig. 8)**

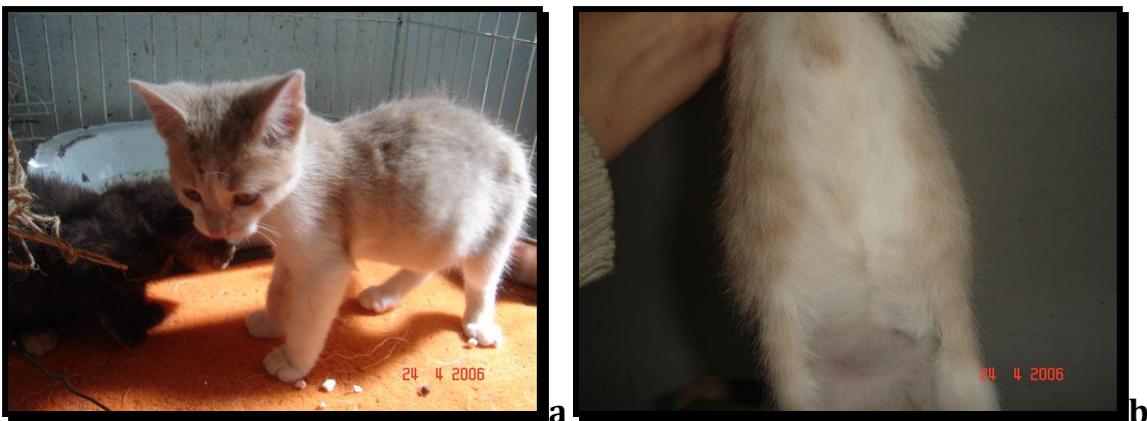


Fig. 8. a y b. Cachorro felino con abaloramamiento del abdomen por *T. cati*.

La vida media de los parásitos adultos es de 4 meses, aproximadamente, por lo que se ha observado que la expulsión completa de los mismos ocurre entre los 6 y 7 meses del animal (Sarles & Stoll, 1935). La competencia con el hospedador por los nutrientes y la interferencia en la absorción de metabolitos como el calcio, se manifiesta en retraso en el desarrollo y deterioro del pelaje (Parsons, 1978). Con frecuencia se observan eritema y pústulas en el abdomen, producto de la acción tóxica y alérgica de los parásitos. La sintomatología nerviosa de tipo epileptiforme observada en caninos, no se observa en felinos (Barriga, 1991; Parsons, 1987). Otros signos inespecíficos incluyen el deterioro del estado general, emaciación, deshidratación, inquietud, vómitos, puede alternarse diarrea y constipación, aliento butiroso, flatulencia y cólicos (Hayden y Kruiningen, 1975).

Las larvas, durante la migración por pulmón pueden ocasionar tos y descargas nasales; y en casos graves, neumonía secundaria aunque es rara en el felino (Niec, 1980; Foreyt, 2005). También se han reportado endoarteritis eosinofílica y periarteritis e hiperplasia de arterias y arteriolas pulmonares (Parsons, 1987); en gatitos, hallazgos de lesiones glomerulares sin la ocurrencia de manifestaciones clínicas (Hamilton, *et. a.*, 1982). El proceso migratorio provoca leucocitosis con marcada eosinofilia (>35 %) e incremento de las gamma-globulinas; en general no se observa anemia en el gato (Parsons, 1987).

Diagnóstico

El diagnóstico en animales se realiza en función de los datos de reseña y anamnesis que contemplan la edad del animal y la posible eliminación de adultos en las heces o en el vómito, seguidos de un correcto examen objetivo general y la evidencia de los signos previamente mencionados que inducen a la presunción clínica. El diagnóstico de certeza se confirma por análisis coproparasitológico, identificando huevos de *Toxocara spp.* presentes en la materia fecal (Hendrix, 1995). Se recomienda un muestreo seriado de una deposición diaria durante 4 días, aproximadamente, debido a la postura intermitente de huevos por parte de las hembras. Las técnicas utilizadas se basan en la capacidad de flotación de los huevos en soluciones hipertónicas concentradas o sobresaturadas que poseen una

densidad mínima de 1.180 y se puede complementar estos métodos con centrifugación (Dryden, 1996; Soulsby, 1987).

HOSPEDADORES PARATÉNICOS

Los hospedadores definitivos de *Toxocara spp.* eliminan al ambiente un gran número de huevos potencialmente infectantes; muchos de estos se desecarán y perderán la viabilidad, otros evolucionarán y serán ingeridos por otros hospedadores definitivos o por hospedadores paraténicos. Las funciones y consecuencias de la paraténesis fueron definidas por Bush, *et. al.*, (2001), como aquel hospedador en el cual no ocurre desarrollo pero puede servir como puente ecológico para unir una brecha trófica en el ciclo del parásito. Más aún, el hospedador paraténico colabora en la diseminación temporal y espacial del estadio infectante, protegiéndolo de la ausencia transitoria de un hospedador definitivo (Wisnivesky, 2003).

Los hospedadores paraténicos de *Toxocara spp.* pueden ser invertebrados (lombrices, insectos, *etc.*) o vertebrados (aves, pequeños y grandes mamíferos), y en estos últimos se produce una migración somática de las larvas del tercer estadio sin llegar a la madurez sexual del parásito en el intestino del hospedador (Sprent, 1952; Nagakura, *et. al.*, 1989; Sturchler, *et. al.*, 1990; Monzón, *et. al.*, 1991; Salem & Schantz, 1992; Mizgajska, 1997; Overgaauw, 1997a; Morimatsu, *et. al.*, 2006).

Sprent, (1956), recuperó larvas de *T. cati* por infección experimental de lombrices de tierra y cucarachas. Mizgajska, (1997), obtuvo un 87 % de lombrices positivas a huevos viables de *Toxocara spp.*; recolectadas en patios de la ciudad y en jardines de los suburbios. Greenberg, (1973), observó que las moscas domésticas pueden ingerir de 1–3 mg. de heces en 2–3 hs.; y así ingerir huevos de *Toxocara spp.* (Pegg, 1971). Umeche & Mandah, (1989) hallaron huevos de *Toxocara spp.* en un 2.4 y 2.1% de las moscas capturadas en Nigeria. Estas especies actuarían como vectores mecánicos, transportando, depositando huevos y siendo ingeridos por otros hospedadores.

Dubinsky, *et. al.*, (1995), documentó la relevancia de las lombrices de tierra y los roedores como reservorios naturales de larvas de *Toxocara spp.* Señaló que estos últimos actúan como indicadores de contaminación ambiental, especialmente en zonas urbanas (Dubinsky, *et. al.*, 1995) y representan una fuente de infección importante para gatos cazadores (Mossalam, *et. al.*, 1971).

Se requiere una evaluación crítica de los méritos relativos de los diferentes sistemas de modelos paraténicos, incluyendo su capacidad de permanecer como fuentes de infección en condiciones naturales. No hay información disponible sobre la migración larvaria de *T. cati* en otros hospedadores paraténicos silvestres, en términos de establecer qué hospedadores son importantes como reservorios de larvas bajo condiciones naturales. Sprent, (1956), reportó una rata positiva a *T. cati* de 22 ratas y 4 ratones capturados en un área urbana. Lescano, *et. al.*, (2004), demostraron alta concentración y persistencia de larvas de *T. canis* en *Rattus norvegicus* infectado experimentalmente. Recientemente, Santos, *et. al.*, (2009), a través de un estudio experimental, sugirió alto potencial de *Rattus norvegicus* como reservorio de *T. cati*, encontrando resultados similares a Lescano, *et. al.*, (2004). Recientemente en Italia, en un estudio comprendido entre 2008 y 2011, se han identificado (por PCR), larvas de *T. cati* en los músculos de 3 especies animales silvestres y en 1 cerdo doméstico, mientras que *T. canis* se identificó en un animal silvestre, mostrando una mayor circulación del primero. (Marucci, *et. al.*, 2011).

En contraste con la escasez de datos sobre hospedadores silvestres, un rango de animales han sido infectados con *Toxocara* (predominantemente *T. canis*) bajo condiciones de laboratorio, y se ha determinado la migración del parásito. Los animales utilizados incluyeron ratones, ratas, chanchitos de la india, hámsteres, gerbos, pollos, codornices, palomas, conejos, cerdos, monos y lombrices de tierra (Sprent, 1955; Galvin, 1964; Kunishige, 1964; Burren, 1972; Church, *et. al.*, 1975; Tomimura, *et. al.*, 1976; Glickman & Summers, 1983; Agnihotri, *et. al.*, 1987; Nakamura, *et. al.*, 1991; Tuzer, *et. al.*, 2002; Akao, *et. al.*, 2003; Taira, *et. al.*, 2003; Lescano, *et. al.*, 2004; Santos, *et. al.*, 2009; Takashi & Ohta, 2010).

Estos estudios han revelado variaciones en los protocolos experimentales, incluyendo dosis infectiva y su administración, duración de la

infección y tipo de tejido y órgano estudiado. Los resultados de las investigaciones indicaron que algunas de estas especies no son adecuadas para actuar como hospedadores paraténicos bajo condiciones naturales y más aún, el significado ecológico de su infección es cuestionable (Holland & Hamilton, 2006).

Corroborar las implicancias epidemiológicas del ratón como reservorio de *T. cati* en la naturaleza y su vinculación en la transmisión de esta zoonosis resultará beneficioso para el desarrollo de medidas de prevención para la población humana y animal, dado el riesgo que supone para la salud pública.

TOXOCARIOSIS HUMANA

El espectro clínico de la Toxocariosis en los seres humanos puede variar desde una infección asintomática, a la afección severa de algún órgano, y ello depende de la carga parasitaria, los sitios de migración de las larvas y de la respuesta inflamatoria del hospedador (Pawlowski, 2001).

La mayoría de las personas seropositivas detectadas en las encuestas seroepidemiológicas son asintomáticas o solo tienen lugar síntomas inespecíficos (Smith, *et. al.*, 2009). El enquistamiento de larvas en determinados tejidos originó dos entidades clínicas que se conocieron en el humano como Síndrome de Larva Migrans visceral (SLMV) y Síndrome de Larva Migrans ocular (SLMO) (Wilder, 1950; Beaver, *et. al.*, 1952). En vista de las diferencias encontradas entre el número de reportes sobre SLM y la alta seroprevalencia hallada tanto en adultos como en niños, llevó al reconocimiento de dos nuevas formas, basadas en un patrón clínico y diagnóstico, designadas como Toxocariosis común de los adultos (Glickman, *et. al.*, 1987) y Toxocariosis encubierta de los niños (Nichols, 1956; Biglan, *et. al.*, 1979; Bass, *et. al.*, 1983, 1987; Taylor, *et. al.*, 1987, 1988; Magnaval, *et. al.*, 1994). Ambas formas describían el mismo síndrome pero en franjas etarias diferentes (Smith, *et. al.*, 2009). Recientemente, se unificaron los criterios diagnósticos, estandarizando la denominación de la enfermedad bajo el nombre de Toxocariosis, con tres entidades clínicas reconocidas como Larva Migrans Visceral (LMV), Toxocariosis ocular (TO) y Toxocariosis encubierta (TE) (Smith, *et. al.*, 2009). Se reportaron otras formas de presentación asociadas con déficit neuropsicológico, epilepsia, asma y manifestaciones cutáneas (Woodruff, *et. al.*, 1966; Glickman, *et. al.*, 1979; Critchley, *et. al.*, 1982; Marmor, *et. al.*, 1987; Arpino, *et. al.*, 1990; Rosenblatt, *et. al.*, 1991; Glickman, *et. al.*, 1993; Nicoletti, *et. al.*, 2002, 2007, 2008; Akyol, *et. al.*, 2007; Finsterer & Auer, 2007; Bede, *et. al.*, 2008; Gavignet, *et. al.*, 2008; Quet, *et. al.*, 2008).

Debido a los altos porcentajes de contaminación del suelo con huevos de *Toxocara spp.* y a la seroprevalencia de Toxocariosis humana hallada en distintos países, se sugirió que el suelo es el indicador más directo del riesgo de infección humana (Schantz & Glickman, 1981; Barriga, 1988; Agudelo, *et. al.*, 1990;

Minvielle, *et. al.*, 1999; Mizgajska, 2001). En espacios públicos donde los animales tienen acceso y pueden eliminar al ambiente huevos de *Toxocara spp.* a través de las heces, existe un mayor riesgo de contacto con suelos contaminados (Schantz, *et. al.*, 1980; Glickman, *et. al.*, 1981; Worley, *et. al.*, 1984; Alonso, *et. al.*, 2000). Esto ha sido particularmente estudiado en zonas urbanas por diversos autores (Sommerfelt, *et. al.*, 1992; Minvielle, *et. al.*, 1993; Mizgajska, 2001; Capuano, *et. al.*, 2005; Paquet-Durand, *et. al.*, 2007).

También se ha demostrado que la tenencia de caninos como mascotas en los hogares, representa un factor de riesgo para la infección humana por *T. canis*, (Schanz, *et. al.*, 1979, 1980; Glickman, *et. al.*, 1981; Holland, *et. al.*, 1995; Fan, *et. al.*, 2004; Chiodo, *et. al.*, 2006; González-Quintella, *et. al.*, 2006) y se ha comprobado la presencia de huevos infectantes de *Toxocara spp.* en el pelaje de caninos y felinos (Hasslinger, *et. al.*, 1973; Wolfe & Wright, 2003; Regosz, 2007; Aydenizo Zkayhan, *et. al.*, 2008; Roddie, *et. al.*, 2008; Overgaauw, *et. al.*, 2009; Amaral, *et. al.*, 2010; El-Tras, *et. al.*, 2011). Son necesarios estudios que permitan estimar y cuantificar el riesgo que representa este posible modo de transmisión, dado que se postula que el hábito de autolamido y de “rolling” o rolamiento de los animales en el suelo, podría predisponer a la autoinfección en lugares altamente contaminados (Overgaauw, *et. al.*, 2009).

En estudios epidemiológicos recientes, Paludo, *et. al.*, (2007); Won, *et. al.*, (2008); Jarosz, *et. al.*, (2010) y Mircean, *et. al.*, (2010) demostraron la tenencia de felinos como factor de riesgo de adquirir parásitos y, especialmente, *T. cati*. Mircean, *et. al.*, (2010), además indicó la edad del gato menor o igual a un año, que habiten áreas rurales y que permanezcan en el exterior de la vivienda. Justificándose estos hallazgos con un menor control antihelmínticos, menor frecuencia de recolección de las heces y mayor exposición a hospedadores paraténicos (Mircean, *et. al.*, 2010). En contraposición, Rubinsky-Elefant, *et. al.*, (2008), determinaron que la tenencia de gatos en viviendas rurales representa un factor protector debido a que la presencia de los mismos desplaza a los caninos. Si bien podría reducir el riesgo de infección por *T. canis*, podría aumentar la exposición a *T. cati*.

El ser humano adquiere la infección como consecuencia de la ingesta accidental de huevos de *Toxocara spp.* en su estadio larval (L₃), (Glickman, *et. al.*, 1979; Schantz & Stehr-Green, 1988; Schantz, 1989; Overgaauw, 1997b), el parásito dentro del mismo no puede completar el ciclo evolutivo (Fenner, 1982; Nelson, 1988; Esch & Fernández, 1993; Overgaauw, 1997b) y al igual que ocurre en los hospedadores paraténicos, la larva sigue la vía somática de migración (Girdwood, 1986; Overgaauw, 1997b; Magnaval, *et. al.*, 2001).

Se ha observado, en estudios realizados en personas, que la prevalencia de serología positiva a *Toxocara spp.* varía en un rango amplio alrededor del mundo (entre el 2 al 93 %). Las mayores seroprevalencias han sido detectadas en niños residentes en áreas rurales de países tropicales y subtropicales (Nelson, *et. al.*, 1996; Nunes, *et. al.*, 2000; Chiodo, *et. al.*, 2006; Rubinsky-Elefant, *et. al.*, 2010). Estudios epidemiológicos realizados en estas zonas revelaron que la edad (entre 5 y 14 años) es un factor de riesgo (Rubinsky-Elefant, *et. al.*, 2008). Esto se debería a que los hábitos de higiene serían menores en esta franja etaria, y a comportamientos de pica y/o geofagia (ingestión de tierra, arena), (Despommier, 2003; Rubinsky-Elefant, *et. al.*, 2010).

Mizgajska, (1997) y Luzna- Lyskov, (2000) observaron en el centro de la Ciudad de Poznan, donde se concentraba la mayor prevalencia de huevos de *Toxocara spp.* en suelo (38 al 53 %), una seroprevalencia de Toxocariosis en niños tres veces más alta que en los niños (2.4 %) de la población general de Poznan. El bajo status socioeconómico, carencias sanitarias y bajo nivel educativo de los padres de la familia han sido reportados como indicadores o factores de riesgo de exposición a *Toxocara spp.* en determinadas comunidades (Herrmann, *et. al.*, 1985; Sadjjadi, *et. al.*, 2000, Baboolal & Rawlins, 2002; Campos Junior, *et. al.*, 2003; Fan, *et. al.*, 2004; González-Quintella, *et. al.*, 2006; Congdon & Lloyd, 2010). La enfermedad también afecta a personas adultas como fuera descrito por Magnaval, *et. al.*, (1983), y son relativamente frecuentes en el este de Asia, debido al hábito de consumo de vísceras y carne de hospedadores paraténicos, en forma cruda (Akao & Ohta, 2007).

Glickman y Schantz (1981) sugirieron en *T. canis* que la dosis crítica de infección en la cual es más probable la ocurrencia de LMV se encuentra entre las

100 y 200 larvas. La LMV ocurre generalmente en niños de 2 a 7 años y suele presentarse con fiebre, síntomas respiratorios menores (tos, disnea y broncoespasmo) asociados con la migración de las larvas, hepatomegalia, dolor abdominal y disminución del apetito. Los hallazgos de laboratorio incluyen hipergammaglobulinemia, incrementos de los títulos de isohemaglutininas A y B a antígenos de grupo sanguíneo, anemia, leucocitosis, marcada eosinofilia (Jacob, *et. al.*; 1994) y serología positiva a *Toxocara spp.* La tos crónica es a veces observada en los niños (Bede, *et. al.*, 2008); siendo común en la LMV la presencia de silibancias y manifestaciones asmáticas, aunque no está claro si la infección por *Toxocara spp.* predispone al asma (Desowitz, *et. al.*, 1981; Chan, *et. al.*, 1991; Buijs *et. al.*, 1994a, 1997; Minvielle, *et. al.*, 1999a; Sharghi, *et. al.*, 2001; González-Quintella, *et. al.*, 2006; Ferreira *et. al.*, 2007; Cooper, 2008; Fernando, *et. al.*, 2009).

El hígado es reconocido, en la infección por *T. canis*, como la víscera más comúnmente afectada, presentando granulomas típicos con células gigantes multinucleadas y células epiteloides rodeando restos necróticos, o material amorfo eosinofílico. Eosinófilos y células mononucleares rodean las capas externas de los granulomas (Musso, *et. al.*, 2007). En la tomografía computada hepática las lesiones suelen ser nódulos escasamente definidos (Lim, 2008) que pueden ser confundidos con metástasis cancerosas (Ohta, *et. al.*, 2009). Raramente se ha observado colecistitis eosinofílica (Yoshiji, *et. al.*, 2007), ascites (Cruz, *et. al.*, 2008) o grandes masas en el intestino (Georgiou, *et. al.*, 2007). Las manifestaciones cutáneas de la Toxocariosis humana, se han descrito con prurigo crónico, prurito, urticaria, eczema y vasculitis. Otros signos menos frecuentes incluyen miocarditis (Gavignet, *et. al.*, 2008; Prunier, *et. al.* 2001), síndrome nefrótico (Shetty & Avilés, 1999) y artritis (Rayes & Lambertucci, 2001). En el sistema nervioso central se ha reportado meningitis eosinofílica, encefalitis, mielitis, vasculitis cerebral y neuritis óptica, y en el sistema nervioso periférico, radiculitis y parálisis del nervio craneal (Finsterer & Auer, 2007). Las manifestaciones patológicas detectables por análisis de laboratorio se encuentran presentes en el síndrome de LMV, no así en la TO (Zinkham, 1978; Glickman, *et. al.*, 1987; Gillespie, *et. al.*, 1993). Hay autores que citan a *T. cati* como el principal responsable de TO (Niec, 1980).

La Toxocariosis ocular generalmente afecta a niños a partir de los 7,5 años (Taylor, 2001) y menores de 16 años, (Brown, 1970) pero también ha sido diagnosticada en adultos (Raistrick & Dean Hart, 1975; Dean-Hart & Raistrick, 1977). En la mayoría de los pacientes la lesión es unilateral (Taylor, 2001) y los síntomas más comunes son el estrabismo, disminución de la visión y leucoria. La presencia de un granuloma periférico en el polo posterior de la retina y endoftalmitis, queratitis y cataratas son las presentaciones habituales. Las lesiones en la retina pueden llevar a la atrofia óptica, estrechamiento de las arterias de la retina y degeneración epitelial pigmentaria difusa (Sabrosa & de Souza, 2001). El diagnóstico suele realizarse por la presencia de síntomas y se confirma por la detección de anticuerpos específicos. Estos anticuerpos suelen ser indetectables en el suero de los pacientes con TO (Sharkey & McKay, 1993), posiblemente debido a la baja carga de parásitos en estas infecciones (Schantz, 1989). Se consideran de valor diagnóstico los títulos en el suero, aunque no hay consenso acerca de los títulos de corte. Dado que pueden detectarse anticuerpos también en el humor acuoso (Felberg, *et. al.*, 1981), es conveniente la comparación de los valores en suero y humor acuoso en muestras obtenidas del paciente en forma simultánea (De Visser, *et. al.*, 2008). Las manifestaciones sistémicas y oculares de la Toxocariosis rara vez han sido reportadas conjuntamente en los mismos pacientes (Rubinsky-Elefant, *et. al.*, 2006; Da Silva, *et. al.*, 2008; Paul, *et. al.*, 2009).

La TE (Taylor, *et. al.*, 1987, 1988) se asoció, en niños, con fiebre, cefalea, cambios de comportamiento y trastornos del sueño, tos, anorexia, dolor abdominal, hepatomegalia, náuseas y vómitos, con o sin eosinofilia. En adultos, además puede observarse disnea crónica y debilidad, erupción cutánea y prurito. La presencia de eosinofilia es variable pero presentan aumento de los niveles de IgE y títulos moderados de anticuerpos específicos para *Toxocara* (ELISA \geq 1: 50) (Smith, *et. al.*, 2009; Rubinsky-Elefant, *et. al.*, 2010).

EL RATÓN COMO MODELO EXPERIMENTAL

La selección del modelo animal que represente la enfermedad en el hombre debe fundamentarse en similitudes de las características inmunológicas, fisiológicas, anatómicas y/o metabólicas. La elección depende de la hipótesis a contrastar, que implica la utilización de modelos simples, donde se estudia un aspecto de la enfermedad o modelos más complejos que buscan imitar las características de la infección natural en el hombre. En ambas circunstancias, deben proveer nuevo conocimiento acerca del sistema natural animal hospedador-parásito (Boes & Helwich, 2000). Muchos vertebrados son utilizados como modelos de laboratorio para el estudio de enfermedades humanas, proporcionando información relevante sobre la fisiopatología, la inmunología de la infección o el comportamiento clínico de la enfermedad.

Numerosos modelos experimentales se utilizaron para estudiar la patogénesis de *Toxocara spp.* (Sprent, *et. al.*, 1952; Done, *et. al.*, 1960; Ronéus, 1966; Zyngier, 1974; Olson, *et. al.*, 1966; Tomimura, *et. al.*, 1976; Kayes & Oaks, 1978; Pond & Houpt, 1979; Prokopic & Figallová, 1982; Glickman, *et. al.*, 1983; Abo-Shehada, *et. al.*, 1984; Nakamura, *et. al.*, 1991; Dubinsky, *et. al.*, 1995; Basualdo Farjat, *et. al.*, 1995; Wang Guang Xi, *et. al.*, 1998; Helwich, *et. al.*, 1999; Sommerfelt, *et. al.*, 1996, 2001, 2002, 2004, 2006).

Los ratones de laboratorio tienen su origen en la cría selectiva del ratón doméstico *Mus musculus*. La amplia variabilidad genética lograda con los sucesivos cruzamientos, el fácil manejo y bajo costo de mantenimiento comparado con otras especies de mayor tamaño, promovieron el auge mundial del uso del ratón como modelo animal en los laboratorios para pruebas de diagnóstico e investigación. Las características de la cepa endocriada BALB/c, con su pequeño tamaño, susceptibilidad a agentes químicos y biológicos, y vida útil relativamente corta, hacen de este animal un modelo apropiado para investigación en diversas disciplinas y excelentes para el uso en ensayos crónicos.

El ratón en la Toxocariosis cumple la función de hospedador paraténico natural en el ciclo de vida del parásito, como así también resulta un buen sistema para reproducir la forma sistémica de la enfermedad, permitiendo ampliar los

conocimientos sobre la patogenia y la inmunología (Schantz, 1989; Dubinsky, *et al.*, 1995; Boes & Helwich, 2000). Muchos estudios experimentales sobre la infección por *T. canis* han sido realizados en distintas cepas murinas, tales como BALB/c, C57BL/c, CBA/J y C57BL/6J (Dunsmore, *et al.*, 1983; Epe, *et al.*, 1994; Skerret & Holland, 1997; Pinelli, *et al.*, 2001; Fok, 2002). Guillén, *et al.*, (1990), indicaron que en la cepa BALB/c, la migración larvaria de *T. canis* es más rápida en relación a otras cepas. **(Fig. 10)**



Fig. 10. Ratón BALB/ c utilizado en la experimentación con *T. cati*.

Kayes y Oaks (1976) plantearon la existencia de un umbral dosis respuesta en infecciones experimentales con *T. canis*, con un efecto de saturación de órgano a dosis crecientes de larvas. Kayes, (1997), en *T. canis*, demostró que las larvas se distribuían en el organismo del ratón dentro de las 24–72 h, migrando al hígado y pulmón y luego al resto del organismo. Hrcckova, *et al.*, (2001), reportaron que las larvas de *T. cati* se distribuían en la cepa murina C57BL/6 dentro de las 12 a 72 hs., con equivalente distribución a la observada por Kayes, (1997).

Durante la última década se orientaron nuevas perspectivas de estudio sobre *T. cati*, a partir de su participación reconocida en la Toxocariosis ocular. (Petithory *et al.* 1993; Sakai, *et al.*, 1998; Akao, *et al.*, 2003; Fisher, 2003; Rubinsky- Elephant, *et al.*, 2010) Nuevos reportes sobre el patrón migratorio de *T. cati* fueron publicados por distintos autores en gerbos (Akao, *et al.*, 2003; Santos,

et. al., 2009) y en ratas (Santos, *et. al.*, 2009; Zibaei, *et. al.*, 2010c), con resultados en las ratas muy similares a los hallados en ratones en estudios previos (Sprent, 1956; Dubey, 1968; Okoshi & Usui, 1968; Mossalam, *et. al.*, 1971; Prokopic & Figallová, 1982; Schön & Stoye, 1986; Hrckova, *et. al.*, 2001).

La literatura científica presenta escasos trabajos sobre *T. cati*, careciendo de un estudio integral que abarque los distintos aspectos de la parasitosis (patrón migratorio, patogenia y respuesta inmune) en un mismo modelo animal. El conocimiento conjunto de estos aspectos y las relaciones entre ellos permitirán comprender el comportamiento de la enfermedad en especies animales y responder a muchos interrogantes sobre la Toxocariosis humana.

PATOGENIA DE *Toxocara spp.*

En la mayoría de las infecciones helmínticas, la defensa del organismo está mediada por una respuesta especial de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos del isotipo IgE, que se adhieren a la superficie de los helmintos, atrayendo eosinófilos. La activación de los eosinófilos promueve la degranulación y liberación de enzimas líticas contra el parásito. Estas células pueden combatir más eficazmente a los helmintos que otros leucocitos. La proteína básica principal de los gránulos de los eosinófilos resulta más tóxica para los vermes que las enzimas proteolíticas y derivados reactivos del oxígeno producidos por neutrófilos y macrófagos. (Abbas, et. al., 1995)

Durante la migración, las larvas de *Toxocara spp.* liberan antígenos solubles frente a los cuales mediadores tempranos de la respuesta inmune innata estimulan la migración de neutrófilos y a la subpoblación de linfocitos Th2 a secretar citocinas inductoras de la respuesta inmune humoral y el desarrollo y activación de eosinófilos (Del Prete, 1991; Resnick & Weller, 1993; Ying, et. al., 1997; Lukacs & Tekkanat, 2000).

Esta respuesta es la manifestación visual de la reacción granulomatosa observada frente a las larvas migrantes de *Toxocara spp.*, pero resulta ineficiente debido al desprendimiento periódico de la epicutícula y al cambio de los antígenos larvarios, otorgándole resistencia al ataque celular y por anticuerpos (Jones, et. al., 1994). El inconveniente para estudiar las características de la formación de la lesión granulomatosa en torno a las larvas de *Toxocara spp.* ha sido la dificultad de conocer la antigüedad de la lesión (Rockey, et. al., 1979). La larva tiene la capacidad de emigrar del encapsulamiento de un granuloma, por lo que no es posible asegurar que su formación se corresponda al tiempo ocurrido desde el inicio de la infección (Girdwood, 1986). Otros autores sugieren que la respuesta celular comienza rápidamente cuando la larva detiene su migración o muere (Takayanagi, et. al., 1999); aunque ha sido demostrado que la presencia de larvas o sus restos no necesariamente está presentes dentro del granuloma (Kayes & Oaks, 1978; Ghafoor, et. al., 1984; Watzke, et. al., 1984).

La composición del granuloma y la manifestación macroscópica de las lesiones difiere según el modelo animal utilizado (Fenoy, *et. al.*, 2001). Sprent, (1952), en el ratón, clasificó especies de la familia Ascarididae en no encapsuladas y encapsuladas, dentro de las cuales ubicó a especies del género *Toxocara*.

En la infección del ratón BALB/c con *T. canis*, Pinelli *et. al.*, (2007) refirieron inducción de la respuesta inmune de tipo Th2, con incrementos en los niveles de la IgE total y eosinofilia. En los tejidos, las lesiones microscópicas coincidieron con la presencia de infiltrados de linfocitos, neutrófilos y eosinófilos. Otros autores postularon la activación de ambas respuestas, Th1 y Th2 frente a *T. canis* en la misma cepa murina, con predominio de la última (Guillén, *et. al.*, 1990; Bardon, *et. al.*, 1994; Sugane, *et. al.*, 1996; Dent, *et. al.*, 1999).

Esta respuesta parece ser ineficiente en la eliminación de las larvas, las que pueden sobrevivir en los tejidos por largos períodos de tiempo y re-migrar (Parsons, *et. al.*, 1993). Kayes & Oaks, (1976), observaron que en la respuesta temprana a la migración larvaria en el ratón, la inducción de la respuesta TH2 comienza desde las 24 hs. P.i. Kayes, *et. al.*, (1985), refirieron que la intensidad de la respuesta inflamatoria e inmunológica murina frente a *Toxocara spp.* era dosis dependiente y que existía un umbral de infección, en el cual, a muy bajas dosis de huevos larvados, podía ser necesario un mayor tiempo para observar alguna respuesta.

El porqué la respuesta inflamatoria finaliza o se mantiene estable se debe a un aparente efecto inhibitor de la reacción inflamatoria o con actividad antiproliferativa de células efectoras de la respuesta inmune del hospedador ante la presencia del parásito (Owhashi, *et. al.*, 2000).

RESPUESTA INMUNOLÓGICA DE LA INFECCIÓN POR *Toxocara spp.*

Durante la migración, las larvas de *Toxocara spp.* producen un mosaico de moléculas altamente antigénicas derivadas de su metabolismo (Smith, *et. al.*, 1982). Estos antígenos, denominados excretorios secretorios (TES), han resultado de utilidad en el diagnóstico serológico de la enfermedad en humanos, dada la dificultad de la detección de las larvas en los tejidos, el comportamiento subclínico de la enfermedad y la inespecificidad de la sintomatología (Noordin, *et. al.*, 2005).

Algunos componentes de los TES son inespecíficos y puede observarse moderada reactividad cruzada con otros parásitos e incluso con determinantes proteicos comunes a otras enfermedades (Cypess, *et. al.*, 1977; Cypess & Glickman, 1978; Bach'Rizzatti, 1984; Maizels, *et. al.*, 1984, Speiser & Gottstein, 1984; Lynch, *et. al.*, 1988; Chieffi, *et. al.*, 1990; Jacquier, *et. al.*, 1991; Lescano, *et. al.*, 1998; Nunes, *et. al.*, 1997; Yamasaki, *et. al.*, 2000; Anaruma, *et. al.*, 2002; Campos Junior, *et. al.*, 2003).

De todos los antígenos constitutivos larvarios, son los que poseen mayor especificidad para fines diagnósticos (De Salvigny, *et. al.*, 1979; Glickman & Schantz, 1985; Magnaval, *et. al.*, 1991) y se han minimizado las reacciones cruzadas a través de la absorción previa de los sueros con extractos antigénicos de *Ascaris suum*, *A. lumbricoides* y de otros nematodos, cestodos y protozoarios (Lynch, *et. al.*, 1988; Camargo, *et. al.*, 1992; Chieffi, *et. al.*, 1995; Nunes, *et. al.*, 1999; Rubinsky-Elefant, *et. al.*, 2006; Roldán & Espinoza, 2009). Existen Kits comerciales a base de TES de *Toxocara spp.* para el diagnóstico en humanos, y en su mayoría consisten en test de ELISA (Jacquier, *et. al.*, 1991). El inconveniente de la aplicación universal de estos Kits reside en que la especificidad de los TES, evaluada en países nórdicos es mayor a la observada en los países del trópico, en áreas donde el poliparasitismo es endémico, aumentando la posibilidad de reacciones cruzadas y disminuyendo la validez diagnóstica de la prueba (Lynch, *et. al.*, 1988; Jacquier, *et. al.*, 1991; Rahmah, *et. al.*, 2005; Smith & Noordin, 2006; Watthanakulpanich, *et. al.*, 2008). En estos países los kits comerciales no son aplicables (Smith, *et. al.*, 2009).

Los modelos murinos han sido utilizados para estudiar la inmunopatología de la Toxocariosis, con fines diagnósticos. La cepa murina utilizada y la dosis infectiva de huevos embrionados administrados por ratón son criterios importantes para determinar la calidad y cantidad de respuesta inmunitaria frente a este helminto. (Glickman, *et. al.*, 1986; Kayes, *et. al.*, 1985; Van Knappen & Buijs, 1993; Cuéllar, *et. al.*, 2001)

Si bien los TES inducen una respuesta de tipo TH2, la muerte de larvas y liberación de antígenos somáticos inducen una respuesta de tipo TH1 (Minvielle, 1997). Cuéllar, *et. al.*, (2001), indicaron que la cepa BALB/c, inmunológicamente, presenta una respuesta de anticuerpos mucho mayor en relación a otras cepas (C57BL/10; C3H).

Havasiová-Reiterová, *et. al.*, (1995) estudiaron el comportamiento de la IgG frente a la infección con distintas dosis de huevos larvados de *T. cati* y *T. canis* en la cepa murina C57BL6/J, obteniendo una respuesta precoz y superior al punto de corte establecido a partir de los 1000 huevos larvados administrados. A igual dosis de inóculo, los autores sugirieron menor inmunogenicidad de *T. cati* en relación a *T. canis*.

En humanos, la IgE es una inmunoglobulina específica marcadora de la migración tisular de parásitos (Smith & Kennedy, 1993) y su incremento en IgE-TES-ELISA (Magnaval, *et. al.*, 1992; Smith, 1993, Smith & Kennedy, 1993) ha sido observado en pacientes con signos clínicos compatibles con Toxocariosis. También fue considerada para el seguimiento de la eficacia de los tratamientos (Genchi, *et. al.*, 1986; Golab & Dzinski, 1993; Magnaval, *et. al.*, 2002). Los reportes sobre cinética de anticuerpos IgG e IgM en respuesta a la infección por *T. canis* son escasos, y casi inexistentes referidos a *T. cati*. Este aspecto es relevante en cuanto al consenso sobre la puesta a punto de las técnicas de diagnóstico de Toxocariosis, que aún no están estandarizadas (Smith, *et. al.*, 2009).

La especificidad del ELISA se ha intentado mejorar, a nivel experimental, con el uso de antígenos recombinantes especie específicos en la detección de IgG (Yamasaki, *et. al.*, 2000; Coelho, *et. al.*, 2005; Wickramasinghe, *et. al.*, 2008; Mohamad, *et. al.*, 2009), y de subclases IgG2 (Watthanakulpanich, *et. al.*, 2008) e IgG4 (Noordin, *et. al.*, 2005; Rahmah *et. al.*, 2005). Recientemente, Zibaei,

et. al., (2010b), han desarrollado un anticuerpo monoclonal específico de *T. cati*, que no presentó reacciones cruzadas con otros helmintos y fue capaz de detectar muy bajas concentraciones de antígeno en suero, a través de un ELISA de captura.

A pesar de la existencia de estos estudios con metodologías más sofisticadas de biología molecular, las bases de un conocimiento integral sobre el comportamiento inmunológico de la infección por *Toxocara spp.* continúa siendo limitado en la literatura científica (Smith, *et. al.*, 1993). Comprender y diferenciar infecciones agudas y crónicas, y la implicancia real de las dosis de huevos ingeridos en la precocidad de una respuesta inmune detectable y en la persistencia de anticuerpos circulantes, optimizaría esfuerzos referidos al diagnóstico de la enfermedad humana.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis

- ❖ El proceso migratorio de *Toxocara cati* en hospederos paraténicos, observado a través de la recuperación de las larvas de los distintos órganos y tejidos se podrá observar mediante la inoculación experimental del modelo animal murino.
- ❖ La inoculación experimental en el modelo animal de laboratorio con diferentes dosis de huevos larvados de *Toxocara cati* permitirá establecer el umbral necesario para la respuesta a la infección en el hospedero paraténico.
- ❖ La respuesta del modelo animal a las dosis de inóculo administrado permitirá extrapolar a la contaminación ambiental y predecir el riesgo para el ser humano con la presencia del parásito en su forma infectiva.
- ❖ La inoculación experimental permitirá evaluar las lesiones histopatológicas que puede producir *T. cati* durante su migración somática.
- ❖ El estudio de la respuesta inmune con dosis elevadas de inóculo, permitirá evaluar el desarrollo del proceso inmunológico, a través de la producción de anticuerpos específicos en un menor tiempo de infección.
- ❖ La inoculación experimental en el modelo elegido aportará información sobre la relación hospedador-parásito pudiendo extrapolarse los resultados a lo que sucede en la infección en el hombre y comparar con lo que sucede con *Toxocara canis*.

Objetivo general

Estudiar en el hospedero paraténico murino la patogénesis de *Toxocara cati* y sus implicancias epidemiológicas.

Objetivos específicos

1. Desarrollar la infección experimental en ratones con huevos larvados de *Toxocara cati* utilizando diferentes dosis de inóculo.
2. Establecer el patrón migratorio de *Toxocara cati* en los diferentes órganos y tejidos, en la etapa aguda y crónica de la infección.
3. Analizar la respuesta obtenida de las diferentes dosis inoculadas y definir el umbral dosis- respuesta migratoria.
4. Estudiar la respuesta histopatológica en los órganos y tejidos involucrados en el proceso migratorio de la larva.
5. Comparar los resultados obtenidos en cuanto a patogenicidad con lo observado con el género *T. canis* y extrapolar al hombre.
6. Definir la respuesta inmunológica específica a *T. cati* en el hospedero paraténico infectado experimentalmente con dosis elevadas de inóculo.
7. Procesar la información por métodos estadístico-epidemiológicos.
8. Formular conclusiones y recomendaciones para la prevención de esta zoonosis parasitaria.

MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES

❖ *Obtención de huevos de *T. cati* y preparación del inóculo*

Se obtuvieron huevos de *T. cati* de materia fecal de gatos naturalmente infectados (Kayes & Oaks, 1978), y se incubaron siguiendo la técnica descrita por Sommerfelt, *et. al.*, (2002). Los huevos larvados fueron recuperados de la materia fecal por la técnica de flotación con solución azucarada concentrada de Benbrook (Dolcetti, 1947), y concentrados por la técnica que se desarrolló en esta tesis y que se publicó posteriormente como producción de la misma (Cardillo, *et. al.*, 2010). Se prepararon dosis de 100, 500 y 1000 huevos larvados de *T. cati* por dilución 1/5 del inóculo en solución fisiológica y se administró en un volumen final de 0.3 ml. por ratón.

❖ *Diseño experimental de la infección aguda*

Se utilizaron ratones blancos, hembra, cepa Balb/c, entre 20- 25 gr. de peso, suministrados por el Bioterio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires. Los animales fueron alojados de acuerdo a las normas éticas de manejo de animales de laboratorio (AVMA, 1993). El protocolo experimental fue aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL), Facultad de Cs. Veterinarias, Universidad de Buenos Aires.

Se realizaron tres pruebas independientes, en cada una de las cuales se utilizaron 27 ratones como grupo infectado y 3 ratones como grupo control. En cada prueba se probó una dosis de huevos larvados de *T. cati* de 100, 500 y 1000, respectivamente. Los ratones se mantuvieron en ayuno previo de 12 hs.; luego del cual se les administró una dosis única de inóculo. La administración se realizó por la vía buco gástrica, mediante el uso de una sonda rígida. (**Fig. 11**) La misma fue posteriormente lavada con 0.3 ml. de solución fisiológica con el fin de arrastrar los huevos remanentes presentes en el material de inoculación (Kayes & Oaks, 1978; Dimayuga, *et. al.*, 1991; Chieffi, *et. al.*, 1995; Cox & Holland, 1998; Del Valle Guardis, *et. al.*, 2002; Fan, *et. al.*, 2003). Los animales controles recibieron 0.6 ml. de

solución fisiológica. Los ratones del grupo infectado fueron sangrados y eutanasiados de a 3 animales por fecha en los días 1, 2, 3, 4, 5, 6, 14, 21 y 28 p.i. Los controles fueron eutanasiados al final de la prueba.



Fig. 11. Administración del inóculo de *T. cati* en un ratón.

❖ ***Diseño experimental de la infección crónica***

Se utilizaron 18 ratones como grupo infectado y 25 ratones como grupo control. Se utilizó una dosis de 1000 huevos larvados de *T. cati* y se procedió de igual manera que en la etapa aguda en lo referente al manejo de los animales y a la administración del inóculo. Tres ratones fueron sangrados y eutanasiados por fecha p.i. en los días 35, 42, 63, 84, 105 y 120 p.i. Los controles fueron eutanasiados al final de la prueba.

❖ ***Evaluación clínica***

Los ratones fueron evaluados clínicamente previo a la infección y posterior a la misma. Se observó en forma diaria el comportamiento normal de cada animal en relación a sus pares y al alimento, y la posible presentación de síntomas o signos de infección. También se consideró el peso alcanzado en el momento de la eutanasia.

❖ ***Análisis coproparasitológico***

Se tomaron muestras de materia fecal de los ratones a las 24 hs. post-administración del inóculo y se realizó un pool de cada jaula, el que fue analizado

por la técnica de flotación con solución azucarada saturada de Benbrook (Dolcetti, 1947).

❖ ***Eutanasia y extracción de muestras***

Los ratones fueron anestesiados con la combinación de xilacina y Ketamina (AVMA, 1993). Se realizó la extracción de sangre de cada ratón por punción intracardíaca para la obtención de suero y realización de frotis sanguíneo. A continuación, fueron eutanasiados por dislocación cervical, de acuerdo al protocolo aprobado por el CICUAL (FCV-UBA). Los ratones fueron pesados previamente a la necropsia. **(Fig. 12)** Se extrajeron los siguientes órganos y tejidos: ojo, pulmón, riñón, hígado, corazón, cerebro y carcaza (conformada por tejido óseo y muscular, sin órganos ni piel), se pesaron y se dividieron en mitades, destinándose una para digestión artificial y la otra para estudio histopatológico. En los órganos pares, uno se destinó para digestión artificial y el otro para histopatología. La carcaza fue digerida en forma completa y se extrajeron para histopatología porciones de los músculos cuádriceps femoral, tríceps y lengua.



Fig. 12. Necropsia de ratón.

ESTUDIO DEL PATRÓN MIGRATORIO DE *Toxocara cati*



"Migration"
(Don P. Northup)

INTRODUCCIÓN

El comportamiento migratorio de *Toxocara spp.* ha sido estudiado en el ratón y otras especies animales (Sprent, 1952; Mossalam, *et. al.*, 1971; Tominura, *et. al.*, 1976; Agnihotri, *et. al.*, 1987; Parsons, *et. al.*, 1989; Sommerfelt, *et. al.*, 2004; Taira, *et. al.*, 2004). El modelo murino ha sido utilizado con mayor frecuencia para estudiar diferentes aspectos de la Toxocariosis en el ser humano, muchas veces por facilidad de manejo y cuidado de los animales y por la posibilidad de obtener respuestas a corto plazo (Sprent, 1952). Distintos autores demostraron que la ruta migratoria y la patogénesis de *Toxocara spp.* observadas en este modelo son similares en el hombre (Piergili Fioretti, *et. al.*, 1989; Holland & Cox, 2001; Del Valle Guardis, *et. al.*, 2002).

Sprent (1952), destacó que el tamaño de los órganos del ratón permite la recuperación de la totalidad de las larvas de *Toxocara spp.* presentes en los mismos y una estimación más precisa del número total de larvas recuperadas por animal en función de la dosis administrada. Oshima, (1961), observó que más de la mitad de los huevos embrionados pasan por el tracto digestivo del ratón sin eclosionar. El factor más importante parece ser el tiempo de vaciado del tracto gastrointestinal. Cuanto mayor es el tiempo de permanencia de los huevos en el intestino, entre un 15 a un 20 % más de los huevos eclosionaran.

La migración larvaria y la respuesta inmunopatológica inducida depende del modelo animal y la cepa utilizada (Sugane and Oshima, 1983; Bardon Iglesias, 1992; Cuellar *et. al.*, 2001; Fan *et. al.*, 2003).

Hrckova, *et. al.*, (2001), demostraron que las larvas de *T. cati* se distribuían en el organismo del ratón migrando al hígado y pulmón. Luego de una semana, aumentaba la acumulación en el cerebro y principalmente en el músculo. Similares resultados fueron observados por Sprent, (1956), y Prokopic y Figallova, (1982), con diferentes dosis de inóculo.

MATERIALES Y MÉTODOS

❖ *Digestión artificial*

Las muestras tisulares de los tres ratones eutanasiados en cada fecha p.i. fueron procesadas en forma individual. La recuperación de larvas de *T. cati* se realizó por la técnica de digestión artificial rápida descrita por Gamble, *et. al.*, (2000). Se realizaron sucesivas sedimentaciones de las muestras con agua destilada, de 60 minutos cada una, hasta obtener un volumen de material concentrado en 0.3 ml. Se realizó un extendido del material en un portaobjetos y se observó en microscopio óptico (4x). Se contabilizó la totalidad de larvas presentes en el volumen indicado y se realizó un promedio de las larvas encontradas por tejido, de los tres ratones analizados.

❖ *Análisis estadístico*

La recuperación de larvas se informó como el valor promedio hallado en los tejidos y órganos de los ratones eutanasiados en cada fecha p.i. Para determinar si la distribución de los datos cumplía con los supuestos de normalidad y homogeneidad de variancias, se aplicaron las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilks y Box and Whisker plot, y el test de Bartlett, respectivamente. En los casos en que los datos no cumplieron dichos supuestos se realizó un análisis de variancias mediante herramientas de estadística no paramétrica, previa transformación rank de los datos (Kruskal-Wallis). Se realizó la partición posterior por la técnica de contrastes polinomiales cuando se demostró relación significativa entre las variables.

En los resultados de la carcaza, debido a la tendencia lineal de los datos, se aplicó el análisis de regresión cuadrática. Se estableció un nivel de significación estadística $p < 0,05$.

Para el análisis estadístico se utilizó el software Statistix 7 y el OriginPro 7.5, para la elaboración de gráficos.

RESULTADOS

Etapa aguda de la infección

De la observación clínica diaria de los animales se pudo advertir que no presentaron modificaciones en el comportamiento y en el orden jerárquico frente a sus pares, como tampoco signos clínicos durante el transcurso de la infección. El peso promedio de los ratones infectados no difirió del peso promedio del grupo control. En las heces se observaron huevos eclosionados de *T. cati*, con ausencia de larva en su interior.

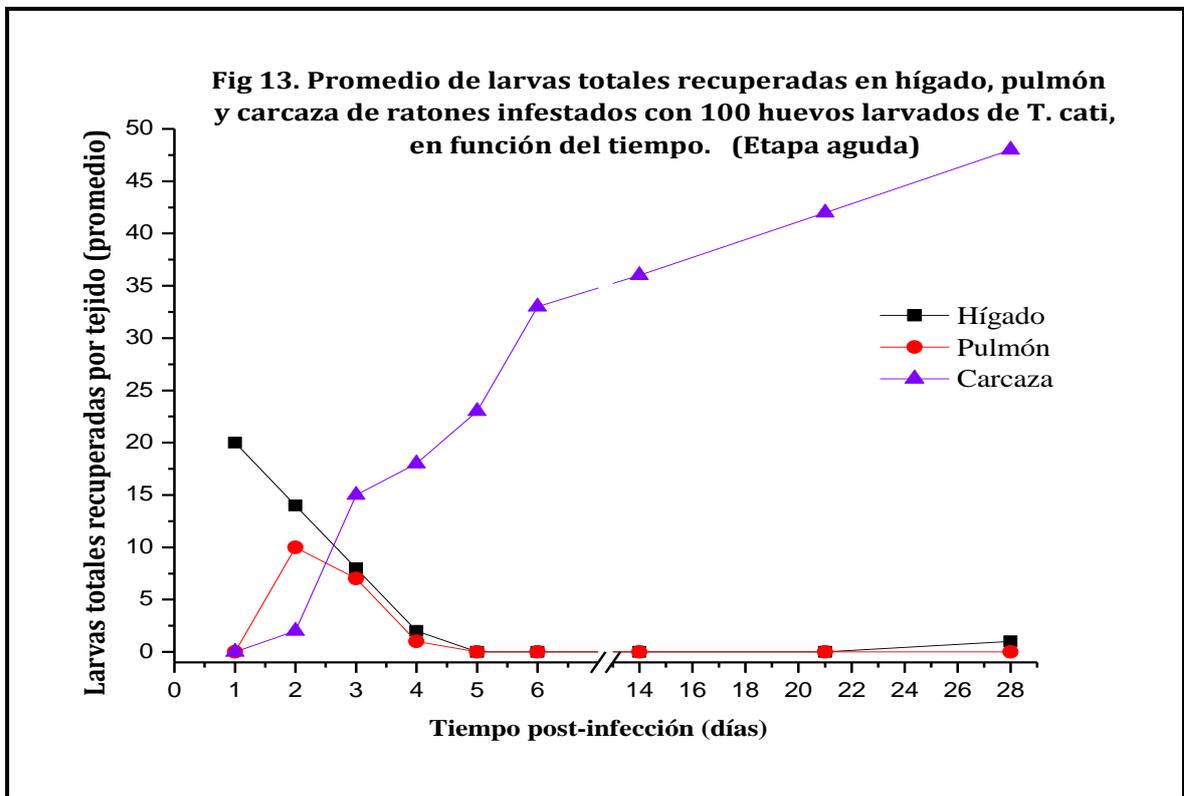


❖ **Recuperación de larvas con inóculos de 100 huevos larvados de *T. cati* administrados por ratón.**

Tabla 1. Promedio y rango de recuperación de larvas en tejidos y órganos de ratones infectados con 100 huevos larvados de *T. cati*, según fecha post-administración del inóculo.

Fecha p.i. (días)	Hígado	Pulmón	Carcaza
1	20 (16 - 23)*	-	0
2	14 (10 - 18)	10 (8 - 12)	2 (1 - 2)
3	8 (5 - 10)	7 (5 - 9)	15 (10 - 18)
4	2 (1 - 3)	1 (0 - 1)	18 (15 - 20)
5	-	-	23 (19 - 26)
6	-	-	33 (29 - 38)
14	-	-	36 (32 - 40)
21	-	-	42 (37 - 45)
28	1 (0 - 1)	-	48 (41 - 52)

*Rango de recuperación (-).

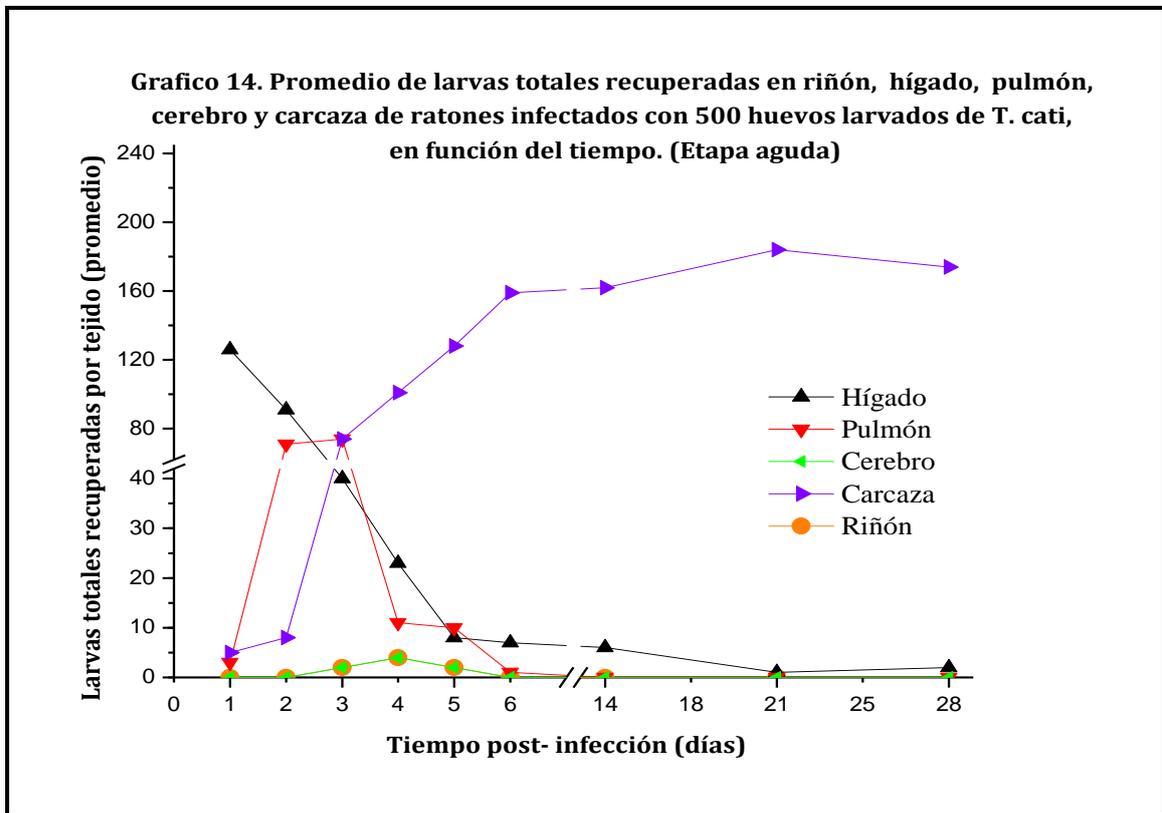


❖ **Recuperación de larvas con inóculos de 500 huevos larvados de *T. cati* administrados por ratón.**

Tabla 2. Promedio y rango de recuperación de larvas en tejidos y órganos de ratones infectados con 500 huevos larvados de *T. cati*, según fecha post-administración del inóculo.

Fecha p.i. (días)	Hígado	Pulmón	Cerebro	Riñón	Carcaza
1	126 (111 - 155)*	3 (0 - 6)	0	0	5 (4 - 5)
2	91 (85 - 101)	71 (36 - 98)	0	0	8 (5 - 10)
3	40 (33 - 48)	54 (40 - 64)	1 (0 - 3)	2 (0 - 2)	74 (61 - 96)
4	23 (17 - 30)	11 (8 - 15)	1 (0 - 2)	4 (0 - 8)	101 (95 - 109)
5	8 (6 - 11)	10 (0 - 18)	1 (0 - 2)	2 (0 - 4)	128 (124 - 135)
6	3 (0 - 6)	1 (0 - 2)	2 (0 - 4)	0	159 (150 - 165)
14	6 (3 - 8)	0	2 (0 - 4)	0	162 (153 - 173)
21	1 (0 - 2)	0	0	0	184 (175 - 192)
28	2 (0 - 6)	0	0	0	239 (215 - 263)

*Rango de recuperación (-).

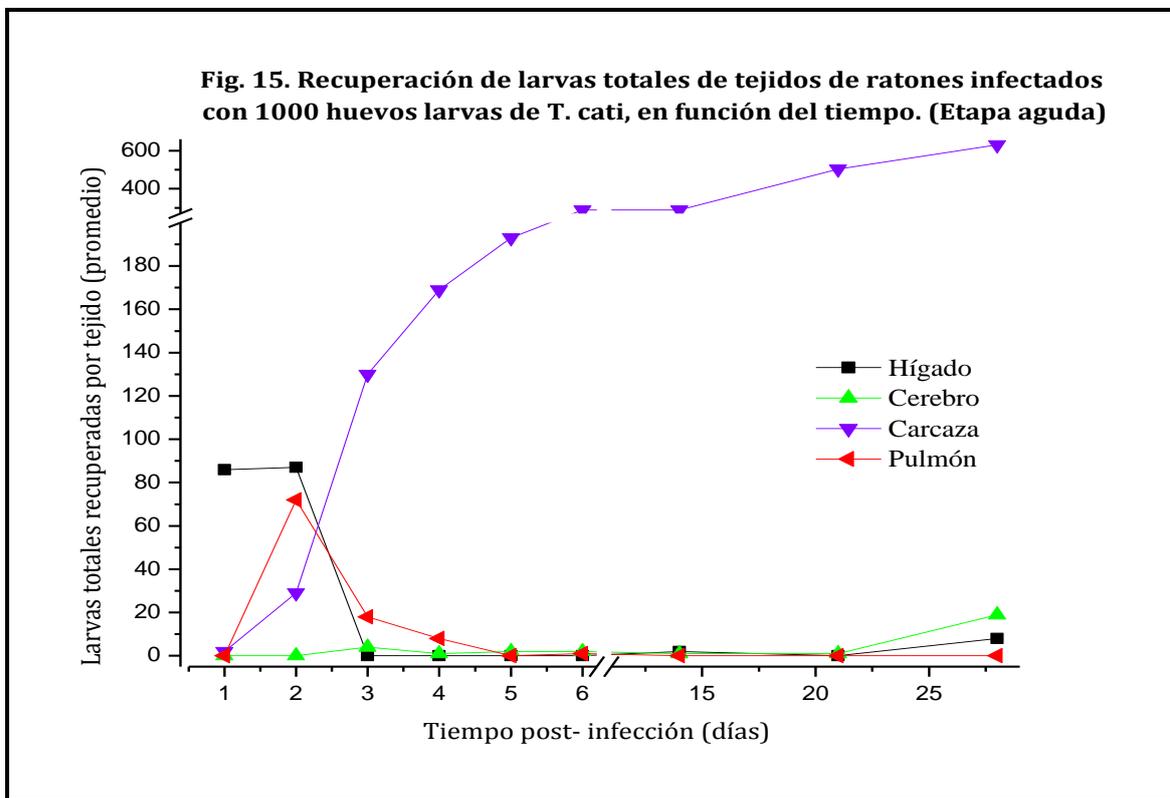


❖ **Recuperación de larvas con inóculos de 1000 huevos larvados de *T. cati* administrados por ratón.**

Tabla 3. Promedio y rangos de recuperación de larvas en tejidos y órganos de ratones infectados con 1000 huevos larvados de *T. cati*, según fecha post-administración del inóculo.

Fecha p.i. (días)	Hígado	Pulmón	Cerebro	Carcaza
1	86 (49-122)*	-	-	2 (0-3)
2	87 (81-94)	72 (56-88)	-	29 (0-57)
3	-	18 (0-36)	4 (0-8)	130 (66-193)
4	-	8 (6-10)	1 (0-2)	169 (122-216)
5	-	-	2 (0-6)	193 (50-336)
6	-	1	2 (0-4)	230 (213-247)
7	18 (15 - 21)	7 (5 - 8)	3 (2 - 4)	251 (204 - 298)
14	10 (8-12)	2 (0 - 3)	4 (4-4)	246 (229-263)
21	15 (4 - 26)	-	6 (6-6)	305 (276-333)
28	8 (6- 10)	-	6 (4- 8)	343 (361 - 425)

*Rango de recuperación (-)



❖ *Recuperación de larvas en el hígado*

En el hígado, se observaron diferencias altamente significativas en la recuperación de larvas entre las fechas post-inoculación, en cada una de las dosis de inoculación empleadas. **(Tabla 4)** El comportamiento de la curva se explicó por una tendencia significativa de tipo cuadrático que podría describir el inicio de la infección y cúbico hacia el final de la prueba. El descenso de la curva fue significativamente lineal en la dosis 100 y 500. Las máximas recuperaciones fueron en los días 1 y 2 p.i. en las tres dosis y se recuperó nuevamente en el día 28 en las dosis 100 y 1000.

Tabla 4. Análisis estadístico de la recuperación de larvas de *T. cati* en hígado de ratones infectados experimentalmente con tres dosis diferentes de huevos larvados.

Dosis	KW	Componente cuadrática	Componente lineal	Componente cúbica
100	$X^2= 24,81; p< 0,01$	$F=181.79, p< 0.01$	$F= 101.65, p< 0.01$	$F= 49.27, p< 0.01$
500	$X^2=24.22, p< 0.01$	$F= 39.98, p< 0.01$	$F= 155.11, p< 0.01$	$F= 19.58, p< 0.01$
1000	$X^2= 14.77, p< 0.01$	$F= 42.61, p< 0.01$	-----	$F= 12.18, p< 0.01$

❖ *Recuperación de larvas en pulmón*

La recuperación de larvas en función del tiempo fue altamente significativa en las tres dosis inoculadas, con una recuperación máxima de larvas en los días 2 y 3 p.i. **(tabla 5)**. La curva presentó un comportamiento cuadrático significativo al comienzo de la infección y posteriormente tendencia lineal en las dosis de 100 y 500. En la dosis 1000, se observó similar comportamiento de la curva, pero la componente cuadrática no resultó significativa.

Tabla 5. Análisis estadístico de la recuperación de larvas de *T. cati* en pulmón de ratones infectados experimentalmente con tres dosis diferentes de huevos larvados.

Dosis	KW	Componente cuadrática	Componente lineal
100	$X^2= 23,98, p<0,01$	$F=15.12, p< 0.01$	$F=50.16, p< 0.01$
500	$X^2= 23.98; p < 0.01$	$F= 8.96, p< 0.01$	$F= 52.04, p< 0.01$
1000	$X^2= 22.09, p=0.0048$	-----	$X^2= 12.81, p=0.017$

❖ *Recuperación de larvas en riñón*

Con dosis 100 y 1000 no se recuperaron larvas del riñón. Con dosis 500, no se evidenció tendencia significativa en la recuperación de larvas a lo largo del tiempo de infección ($X^2= 7.5251, p>0.05$).

❖ *Recuperación de larvas en cerebro y ojo*

Con dosis 100 no se recuperaron larvas del cerebro. No se observó tendencia significativa en la recuperación de larvas en cerebro en función del tiempo con la dosis 500 ($X^2= 6.13, p>0.05$) y 1000 ($X^2= 13.10, p>0.05$). El mayor número de larvas en este tejido, se registró en el día 28 p.i., en ambas dosis. No se observaron larvas en el ojo en ningún momento de la infección, para las tres dosis evaluadas.

❖ *Recuperación de larvas en la carcasa*

En la carcasa, un ANOVA paramétrico evidenció diferencia significativa en la recuperación de larvas entre las fechas post-inoculación para las tres dosis de inoculación, explicada por una tendencia lineal significativa. El ajuste a un modelo de regresión cuadrática estimado por la función que se detalla en la **Tabla 6**, mejoró el porcentaje de explicación de la curva, con un r^2 superior al obtenido con el modelo lineal. El modelo también evidencia la tendencia a estabilizarse hacia los 28 días p.i.; observado en la curva del gráfico.

Tabla 6. Análisis estadístico de la recuperación de larvas de *T. cati* en músculo de ratones infectados experimentalmente con tres dosis diferentes de huevos p.i.larvados.

Dosis	ANOVA	Función Cuadrática	r ²
100	F= 62,08; p< 0.01	Carcaza= 0.56 + 4,18 Ti - 0.09 Ti ²	86 %
500	F= 129.70; p<0.01	Carcaza= 18,8 + 16,9 * Ti - 0.35 Ti ²	80 %
1000	F= 13.06; p=0.004	Carcaza= 29.06 + 28.02 Ti - 0.25 Ti ²	80 %

Ti: tiempo p.i.

r²: Coeficiente de regresión cuadrática.

Etapa crónica de la infección

Tabla 7. Promedio y rango de recuperación de larvas en tejidos y órganos de ratones infectados con 1000 huevos larvados de *T. cati*, según fecha post-administración del inóculo.

Fecha p.i. (días)	Hígado	Pulmón	Cerebro	Carcaza	Larvas Totales
35	17 (6 - 10)*	1 (0 - 2)	6 (4 - 8)	358 (321 - 435)	382 (338 - 458)
42	9 (13 - 21)	2 (0 - 4)	7 (4 - 8)	295 (290 - 304)	313 (308 - 318)
63	32 (20 - 40)	1 (0 - 1)	5 (0 - 8)	416 (329 - 470)	454 (349 - 516)
84	11 (4 - 21)	1 (0 - 4)	4 (0 - 8)	255 (208 - 300)	271 (218 - 323)
105	9 (0 - 16)	2 (0 - 3)	2 (0 - 4)	360 (289 - 411)	373 (291 - 422)
120	12 (5 - 22)	1 (0 - 2)	6 (4 - 8)	360 (325 - 394)	379 (334 - 408)

*Rango de recuperación (-)

El valor máximo de larvas en el hígado y carcaza se obtuvo el día 63 p.i. En la etapa crónica, la recuperación de larvas en hígado, pulmón y cerebro no evidenció diferencias significativas entre las fechas p.i. En la carcaza la recuperación de larvas fue altamente significativa en función del tiempo (F=5.19, p=0.0011). La característica ondulante de esta curva se explicó por el grado de significación estadística en las componentes lineal, cuadrática y cúbica (F=11.19,

p=0.003; F=9.18, p= 0.007; F=17.77, p<0.001, respectivamente). En riñón no se recuperaron larvas.

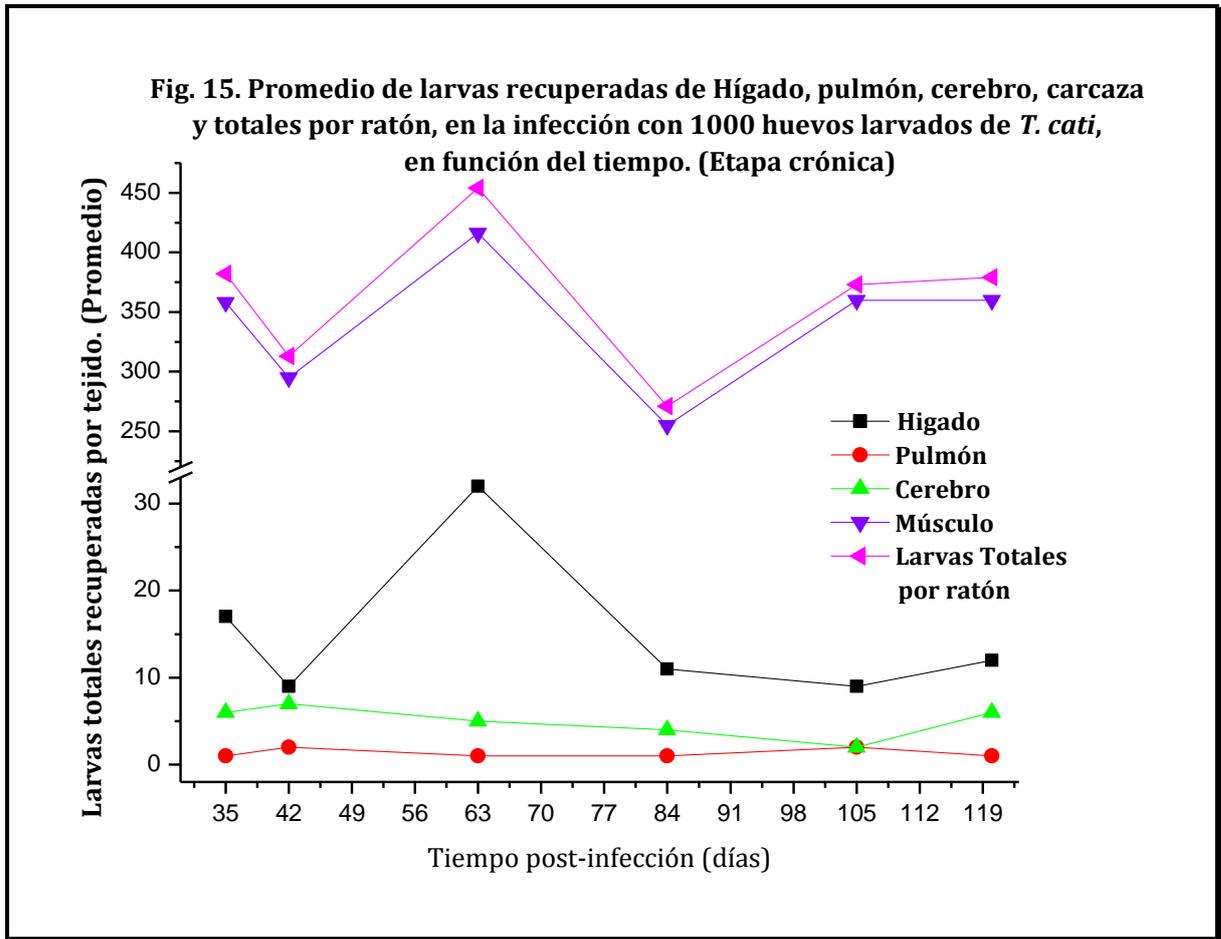


Tabla 8. Análisis estadístico de la recuperación total de larvas de *T. cati* por ratón infectado experimentalmente con 1000 huevos larvados. (Etapa crónica)

Dosis	Recuperación Promedio	Intervalo de Confianza	% de recuperación promedio
1000 crónico	344	95 % IC =315 - 373	34.40 %

La recuperación de larvas totales por animal mostró un comportamiento muy similar al observado en el músculo, presentando un comportamiento significativo en función del tiempo (F= 4.78; 0.0017). El porcentaje de recuperación promedio total, en relación a la dosis administrada fue del 34.40 % (min.= 195; Máx.= 516).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En la etapa aguda del presente estudio realizado en ratones BALB/c, la migración larvaria fue muy similar en las tres dosis de inóculo administradas. La máxima recuperación de larvas en el hígado fue observada en los días 1 y 2 p.i.; y en el pulmón en el día 2 p.i. Estos hallazgos coinciden con los observados por Sprent, (1956), quien utilizó una dosis infectiva de 5000 huevos larvados de *T. cati* y con los de Prokopic y Figallova, (1982), quienes utilizaron una dosis infectiva de 2500 huevos. Estos autores sugirieron que los huevos de *T. cati* eclosionan con mayor rapidez en el intestino del ratón en comparación con *T. canis*.

Dubey, (1968), usando una dosis de 2000 huevos, obtuvo la mayor concentración de larvas de *T. cati* en el hígado de ratones en el día 1 p.i. y en el pulmón en los días 2 y 3 p.i. Hrckova *et al.* (2001), utilizaron la cepa C57BL/6 y comenzaron el estudio a las 4 horas p.i.; con una dosis de 1000 huevos larvados y recuperaron larvas en el hígado a partir de las 12 horas p.i. El máximo recuento lo obtuvieron en el día 3 p.i., al igual que en los pulmones. Koizumi & Hayakawa, (1984) y Guillén, *et al.*, (1990), en infecciones con *T. canis*, obtuvieron una recuperación significativa de larvas en el hígado de la cepa BALB/c, en comparación con la C57BL/6. Las diferencias en cuanto a la cepa murina utilizada en el presente estudio y el trabajo de Hrckova *et al.* (2001), podrían explicar la diferencia en cuanto al pico de recuperación de larvas en el hígado y el pulmón.

La dosis óptima para la observación de la ruta migratoria fue observada con la dosis 500, aunque en la misma no se observó re-migración hacia el hígado. Sí fue observada con las dosis de 100 en el día 28 p.i.; y en los días 14 y 28 p.i. con la dosis 1000, similar a lo reportado en *T. canis* (Kayes & Oaks, 1976; Basualdo Farjat, *et al.*, 1995). Con la dosis de 1000 huevos larvados de *T. cati* se observó el efecto de saturación de órgano planteado por Kayes y Oaks (1976). Con la dosis 100, se observó una recuperación similar a la dosis 1000, pero en menor cuantía, y en órganos como el cerebro, no hubo recuperación de larvas. Estos resultados podrían justificar las similitudes encontradas en la recuperación de larvas en ratones en el presente estudio con dosis de 500 huevos y en ratas con dosis de 300 huevos (Santos, *et al.*, 2009), y las diferencias con respecto a los trabajos previos y lo

hallado por Zibaei, *et. al.*, (2010) en ratas con dosis de 2500. Otros autores han demostrado variaciones significativas en el número de larvas detectadas individualmente entre ratones, particularmente en ratones que recibían altas dosis infectivas (Skerrett & Holland, 1997; Cox & Holland, 2001a, b). Estos datos indican la probable contribución de la heterogeneidad genética individual del hospedador, implicada en la respuesta migratoria e inmunopatológica.

En el riñón, el hallazgo de un máximo de 4 larvas promedio a los 4 días p.i.; únicamente con la dosis 500, sugiere que este órgano es secundario en la ruta migratoria del parásito en el ratón. Idénticos resultados encontraron Hrcckova, *et. al.*, (2001) con una dosis de infección de 1000 huevos y difiere de lo reportado en ratas por Santos, *et. al.*, (2009), quienes encontraron un máximo de 12 larvas con un inóculo de 300 huevos de *T. cati*, durante los primeros 5 días p.i.

En el cerebro, con las dosis 500 y 1000, se recuperaron larvas desde el día 3 p.i. y en las fechas subsiguientes hasta el día 14 p.i. con la dosis 500 y hasta el final de la prueba (día 120 p.i.) con la dosis 1000. Prokopic y Figallova, (1982), obtuvieron una recuperación persistente de larvas entre los días 2 y 28 p.i. y Hrcckova *et al.* (2001) entre los días 2 y 84 p.i.; con un máximo valor en el día 5 p.i. Sprent, (1956) y Dubey, (1968), obtuvieron una recuperación intermitente de larvas en el tiempo, con un valor máximo en el día 2 p.i. Santos, *et. al.*, (2009), en ratas obtuvo una recuperación similar a la dosis 500 del presente estudio entre los días 5 y 30 p.i. Difiere en la recuperación de larvas en el ojo, ausente en el presente trabajo, y coincidente en que el modelo murino no sería óptimo para reproducir la enfermedad ocular (Akao, *et. al.*, 2003; Santos, *et. al.*, 2009). Otros estudios han reportado la presencia y acumulación de larvas de *T. canis* en el cerebro de ratones infectados (Sprent, 1955; Burren 1971; Dunsmore *et. al.*, 1983; Othman, *et. al.*, 2010). Epe, *et. al.*, (1994), infectaron cuatro cepas diferentes de ratones endo y exocriados con *T. canis*. Reportaron la presencia de un mayor número de larvas en el cerebro en la cepa BALB/c entre las 8 y 21 semanas p.i.; similar a lo hallado en *T. cati*, en menor cuantía, desde la 3^o semana y hasta el día 120 p.i. Othman, *et. al.*, (2010), en ratones infectados con 1000 huevos de *T. canis*, reportaron un pico de 96 larvas en el día 35 p.i. y una meseta posterior hasta el final de la prueba (día 56 p.i.) Los autores refirieron que la acumulación progresiva de larvas en este tejido

es responsable de cambios bioquímicos e inmunopatológicos que se manifiestan en forma más pronunciada en la etapa crónica de la infección.

La recuperación de larvas en el músculo fue permanente en las tres dosis y difirió significativamente entre las fechas post-inoculación. El comienzo de la recuperación desde el primer día p.i. coincide con lo observado por Sprent (1956), Dubey (1968), Prokopic & Figallova (1982), y difiere de lo observado por Hrcikova, *et. al.* (2001), (día 6 p.i.), coincidiendo en la persistencia y estabilización de los valores en las fechas subsiguientes (días 14–84 p.i.). Rim, 1963, administrando 500 huevos de *T. canis* en ratones refirió el día 3 p.i. como el inicio de la recuperación de larvas en la carcaza.

La tendencia de las larvas de *T. cati* a concentrarse en el tiempo, principalmente en los músculos y en menor grado en el cerebro, coincide con los trabajos de Sprent, (1956); Dubey, (1968); Prokopic & Figallova, (1982); Schön y Stoye, (1986); Havasiova-Reiterova, *et. al.*, (1995); y Hrcikova, *et. al.* (2001). En la infección experimental crónica (240 días) de *T. cati* en pollos, Oryan, *et. al.*, (2010), con una dosis de 1000 huevos larvados, recuperaron larvas en un 30 % de los animales, únicamente del cerebro. Rim, (1963), a partir del día 31 p.i. recuperó larvas de *T. canis* de la carcaza y cerebro únicamente. Kayes, (1997), en *T. canis*, demostró que luego de una semana, unas pocas larvas migraban al pulmón y aumentaba la acumulación en el cerebro.

En este estudio, en la etapa crónica, el porcentaje de recuperación de larvas totales, fue en promedio de 34.40 % (95 % IC: 31.5- 37.3), siendo similar al observado por Dubey, (1968), quien obtuvo un 42 % (95 % IC: 30.6 – 54.5) y también administró un inóculo de 1000 huevos recuperados de la materia fecal de gatos naturalmente infectados. Los valores de recuperación fueron superiores a lo obtenido en otros estudios en los cuales el inóculo provino de cultivo de huevos extraídos de hembras del parásito: Sprent, (1956), 17.9 % (95 % IC: 6.2 – 29.7); Havasiova-Reiterova, *et. al.*, (1995) con diferentes dosis de huevos larvados (7 y 500), 16.4 % (95 % IC: 8.7- 24.1 %) y 22.6 % (95 % IC: 18.1 – 27.2), respectivamente; Hrcikova, *et. al.*, (2001) 8.8 % (95 % IC: 3.2 – 14.5).

Los resultados del presente estudio refuerzan la importancia de la viabilidad e infectividad de los huevos de *T. cati* presentes en la material fecal de

felinos que al eliminarla al ambiente, lo convierten en una fuente de infección para humanos y pequeños mamíferos.

El modelo murino permitió estimar la recuperación total de larvas de *T. cati*, por ratón y por órgano, en función de la dosis administrada. El patrón migratorio de las larvas de *T. cati* en el ratón BALB/c no difirió sustancialmente entre las dosis de inóculo. En la etapa aguda, se observó que las larvas siguen la ruta de la circulación sanguínea, pudiéndose hallar en el hígado y pulmón en la primer semana p.i., a medida que se acumulan progresivamente en la musculatura esquelética en la etapa crónica. Esta tendencia enfatiza la importancia del ratón como hospedador paraténico y reservorio del parásito en la naturaleza.

La escasa cantidad de larvas recuperadas en el cerebro, en comparación con *T. canis* en otros estudios, demuestra que este órgano podría no tener la misma relevancia en la infección por *T. cati* en el ser humano.

ESTUDIO MACROSCÓPICO Y MICROSCÓPICO DE ÓRGANOS Y TEJIDOS



“Pathology”
(Janson Schaper)

INTRODUCCIÓN

En las lesiones histopatológicas producidas por *T. canis* en ratones, se ha descrito una reacción granulomatosa intensa encapsulando la larva migrante que comienza a los 12 días p.i. (Sprent, 1952; Beaver, *et. al.*, 1952). Kayes & Oaks, (1980), demostraron en la misma especie animal, que estas larvas inducían una respuesta a células T dependiente que promovía eosinofilia periférica y encapsulamiento granulomatoso de la larva. A los 14 días p.i. se observaron larvas rodeadas por eosinófilos, a los 28 días p.i. formación de capsulas rudimentarias de colágeno y a los 56 días p.i.; larvas circundadas por macrófagos, células epitelioides y una fuerte cápsula de colágeno. Se ha postulado que el factor de crecimiento B secretado por los eosinófilos, estimula la secreción de colágeno por los fibroblastos residentes en el tejido (Minshall, *et. al.*, 1997).

En la respuesta temprana a la migración larvaria en el ratón se sabe que la inducción de la respuesta TH2 comienza desde las 24 hs. p.i. Esta inflamación puede evolucionar hacia la curación del tejido, la cicatrización fibrótica o el encapsulamiento granulomatoso. (Kayes & Oaks, 1976).

Hrckova, *et. al.*, (2001), describieron lesiones microscópicas en ratones C57BL6 infectados experimentalmente con *T. cati* durante 28 días de estudio, donde los cambios histológicos mas notorios se observaron en hígado y pulmón con extensas hemorragias y fuerte reacción inflamatoria alrededor de las larvas y vasos sanguíneos, sin referir la formación de los granulomas eosinofílicos descritos en *T. canis*, en ninguno de los tejidos estudiados (Kayes, 1997).

A nivel pulmonar, en la infección por *T. canis* (Buijs, *et. al.*, 1994b; Kayes, 1997) y *T. cati* (Hrckova, *et. al.*, 2001) se ha observado inflamación desde las 48 h p.i. y su persistencia en el tiempo aún en ausencia de larvas. Pinelli, *et. al.*, (2007), observaron en ratones BALB/c infectados experimentalmente con *T. canis*, que independientemente de la dosis de inóculo administrada pero proporcional a ésta, se producía una inflamación pulmonar crónica (hasta 60 días p.i.) con infiltrado de eosinófilos e incrementos de IgE e IgG1. Bowman, *et. al.*, (1987), reportaron que ratones infectados con *T. canis* presentaban altos niveles de antígenos circulantes que permanecían hasta 8 meses p.i. Los autores sugirieron

que la persistencia de la acumulación de eosinófilos en el pulmón en ausencia de larvas coincidía con la presencia de estos antígenos circulantes (Bowman, *et. al.*, 1987).

En el cerebro las larvas de *T. canis* no se encapsulan ni rodean por reacción celular alguna (Sprenst, 1955; Burren, 1971; Dunsmore, *et. al.*, 1983) y lo mismo fue observado en este tejido en *T. cati* (Hrckova, *et. al.*, 2001). Se sugiere que esto resulta ventajoso para las larvas, permitiendo su acumulación progresiva en un sitio inmunológicamente privilegiado.

La modulación de la respuesta inflamatoria se debe al efecto inhibitorio o con actividad antiproliferativa inducida por un subclon de macrófagos activados ante la presencia de los vermes viables o los TES liberados por los mismos (Owhashi, *et. al.*, 2000). Citokinas homólogas de la larva, requeridas durante el proceso de ecdisis o de eclosión del huevo pueden estimular a las células del hospedador involucradas en la respuesta inmunoinflamatoria para reducir la inflamación, inhibiendo la proliferación celular por los linfocitos, aún en presencia de las citokinas estimulantes secretadas continuamente por los Th2. (Boroskova, *et. al.*, 1998)

MATERIALES Y MÉTODOS

En cada una de las fechas en las cuales se realizó la necropsia de los ratones, se observaron macroscópicamente los órganos y tejidos seleccionados (pulmón, riñón, hígado, corazón, cerebro y carcaza) y se registraron los cambios observados en todas las experiencias. El estudio microscópico fue implementado con porciones de órganos y tejidos de los ratones inoculados con dosis de 1000 huevos de *T. cati*, las cuales fueron identificadas y colocadas en formol al 10 %, durante 24 hs. El proceso de montaje y tinción de los preparados histológicos se realizó de acuerdo al protocolo descrito por Carson, 1926. Luego de la deshidratación, se embebieron en parafina y se realizaron cortes de 5 micras con micrótopo tipo Minot. Se montaron sobre un portaobjetos, fueron desparafinados y rehidratados. Se realizó la coloración con Hematoxilina y Eosina (H&E) y se observaron por microscopía óptica común, para su evaluación.

RESULTADOS

Lesiones macro y microscópicas

❖ *Frotis sanguíneo*

El recuento relativo de eosinófilos no arrojó resultados consistentes de eosinofilia periférica, en función del tiempo de infección.

❖ *Hígado*

No se encontraron lesiones macroscópicas. Microscópicamente se observó edema panlobulillar en todos los días post-infección. En los días 2, 3 y 4 p.i. se observaron acúmulos de linfocitos, neutrófilos y eosinófilos en distintas zonas del parénquima cerca de las venas centrales y en la región subcapsular. Inflamación focal, segmentaria periportal y medio zonal se observó en menor intensidad en los días 5, 6 y 7 p.i. (**Fig. 17**), con eosinofilia leve y ausencia de necrosis.

Desde el día 14 p.i. al 120 p.i. se observaron lesiones inflamatorias focales y segmentarias eosinofílicas periportales y medio zonales, con celularidad heterogénea representada por neutrófilos, linfocitos y eosinófilos en todas las fechas p.i. En el día 35, se observaron zonas de necrosis.

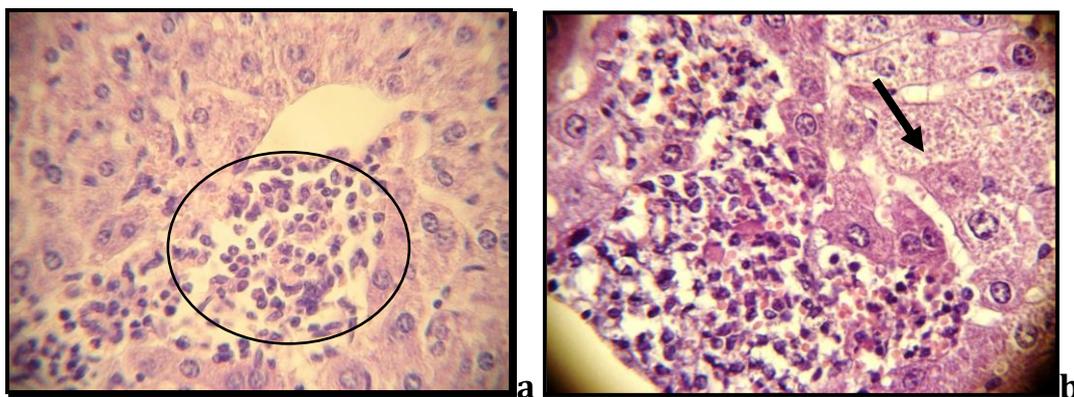


Fig.17. Infiltrado inflamatorio en el parénquima hepático; **a.** en proximidad a una vena central. Día 3 p.i.; **b.** Nótese el edema de los hepatocitos. (45X)

❖ **Pulmón**

Se observaron macroscópicamente al día 2 p.i.; áreas uniformemente distribuidas de hepatización roja. Del día 3 al 5 p.i. se presentaron sobre la superficie del órgano, áreas de amplia consolidación pulmonar, francamente hemorrágicas. **(Fig.18)**

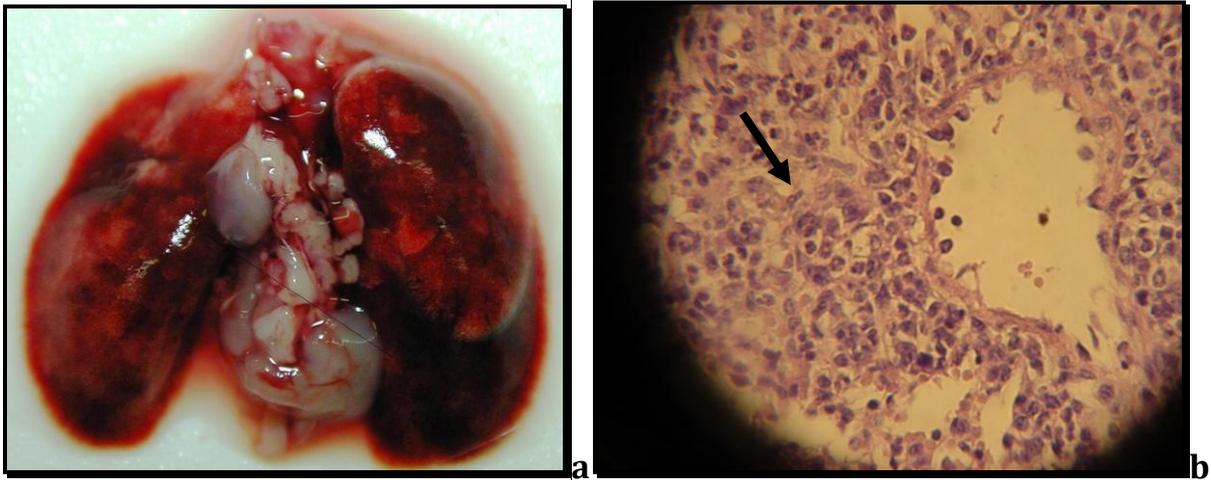


Fig. 18. a. Congestión pulmonar generalizada. **b.** Infiltrado inflamatorio en parénquima alveolar, alrededor de un bronquiolo. Día 3 p.i. (45x)

Microscópicamente, se observó en el día 2 p.i.; zonas de congestión y edema alveolar. En el día 5 p.i. se evidenciaron extensas zonas de infiltración de neutrófilos y algunos eosinófilos en el parénquima alveolar y bronquiólos. En el día 6 p.i. se distinguieron grandes focos de hemorragia y sangre en la luz de los bronquiólos; focos de infiltrado inflamatorio con presencia de eritrocitos, linfocitos, neumocitos, neutrófilos y eosinófilos, especialmente en el parénquima alveolar, cercanos a grandes vasos sanguíneos y bronquiólos. El infiltrado persistió los días 14, 21 y 28 p.i. Focos de neumonía segmentaria no supurativa con linfocitos, macrófagos y células plasmáticas se observaron durante toda la etapa crónica hasta los 120 días p.i. inclusive.

❖ **Corazón**

No se observaron lesiones macroscópicamente. Las lesiones microscópicas se presentaron desde el día 3 al 6 p.i. Se caracterizaron por la degeneración de fibras musculares, abundante infiltración de linfocitos y escasos neutrófilos y eosinófilos. **(Fig. 19)** Estas lesiones fueron observadas entre las fibras musculares en la profundidad del miocardio y pericardio de zonas cercanas al vértice y a la válvula cardíaca. Se observaron focos hemorrágicos en el miocardio. Pequeños acúmulos de células inflamatorias persistieron los días 14 y 21 p.i. y fueron más escasos el día 28 p.i.

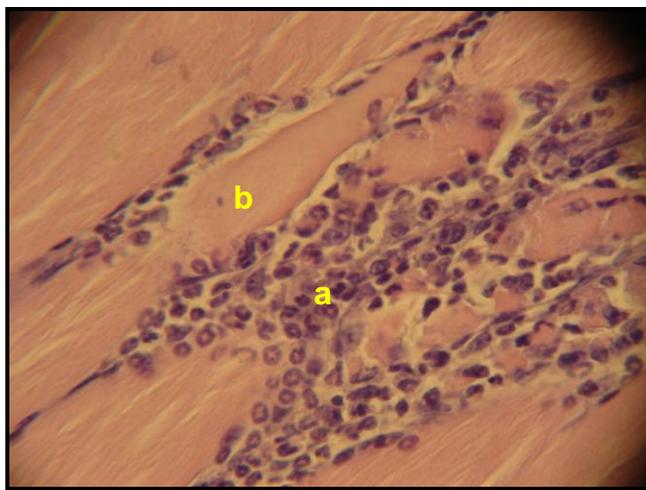


Fig.19. Infiltrado inflamatorio eosinofílico entre las fibras del músculo cardíaco y atrofia de fibras musculares. Día 6 p.i. (45x)

❖ **Cerebro, cerebelo y ojo**

Las lesiones macroscópicas se presentaron en los días 3, 4, 5 y 6 día p.i.; observándose sobre la superficie de la corteza y a nivel meníngeo, focos hemorrágicos puntiformes y de 1 a 3 Mm. aproximadamente. **(Fig.20)** El número de focos varió de 2 a 7 (promedio 5,5), y se ubicaron en forma aislada, no confluyente.

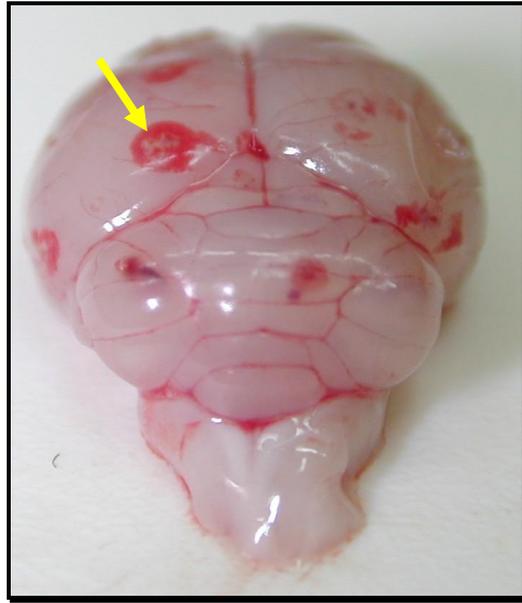


Fig. 20. Múltiples focos hemorrágicos sobre la superficie del cerebro y cerebelo. Día 6 p.i.

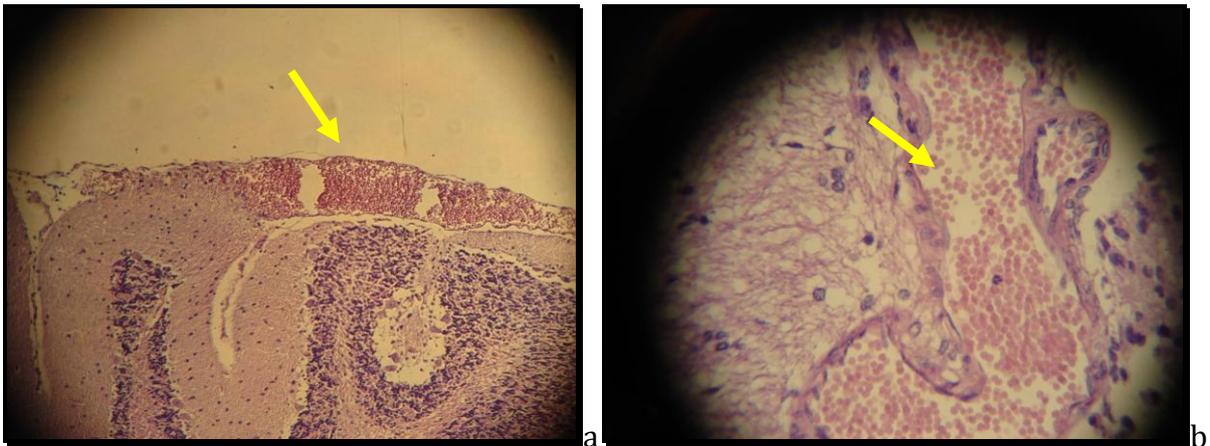


Fig. 21. Corte histológico de congestión meníngea en cerebro. Día 4 p.i.

a. (10x) b. (45x)

Microscópicamente se observaron áreas de congestión, hemorragia meníngea y presencia de necrosis neuronal sin reacción de las células de la microglia, en los días 3, 4, 5 y 6 p.i. (**Fig. 21 a y b**) En este último día las lesiones fueron más evidentes. No se observó la presencia de infiltrado de células inflamatorias. A partir del día 7 p.i. no se observaron particularidades. No se observaron lesiones oculares en ningún momento de la infección.

❖ **Músculo**

No se observaron lesiones macroscópicas. Microscópicamente se evidenciaron focos de infiltración de neutrófilos y eosinófilos entre las fibras musculares. En el día 7 p.i. se observó inflamación focal y segmentaria del músculo y presencia de larvas entre las fibras, sin cambios inflamatorios circundantes. En los días día 14, 21 y 28 p.i.; se intensificaron las zonas de inflamación focal y segmentaria, con severa eosinofilia. El mismo infiltrado se observó en torno a las larvas en el día 21 p.i. Se percibieron cambios degenerativos y necróticos en algunos casos. **(Fig. 22a)**

En la etapa crónica, luego del día 28 p.i.; se observaron áreas de miositis focal y segmentaria con celularidad heterogénea y marcado predominio de eosinófilos, necrosis focal y presencia de larvas entre las fibras musculares con escasa reacción inflamatoria circundante. Todos estos cambios se observaron en los músculos cuádriceps, bíceps y lengua. En ningún momento de la infección se observaron signos de encapsulamiento o formación de granulomas eosinofílicos en torno a larvas migrantes. **(Fig. 22b)**

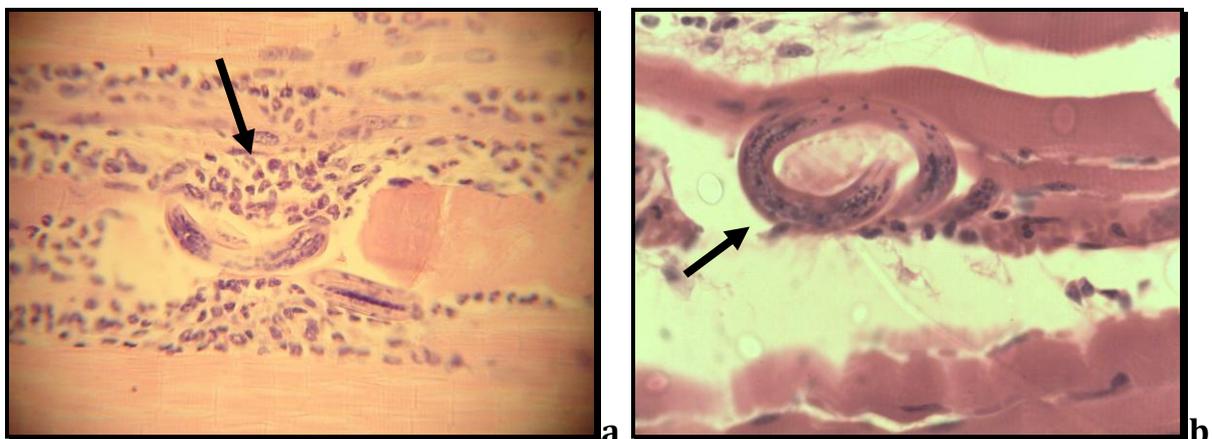


Fig. 22. Cortes longitudinales de larvas de *T. cati* presentes en tejido muscular esquelético. **a.** Rodeada de infiltrado inflamatorio. Día 21 p.i. (10X). **b.** Con escasa reacción circundante. Día 120 p.i. (45X)

❖ **Riñones**

No presentaron alteraciones macroscópicas. Microscópicamente se observó congestión parenquimatosa en los días 1, 2, 4, 5, 14, 21 y 28 p.i. y focos de

hemorragia en la cápsula renal, en los días 1 y 2 p.i. **(Fig. 23)** En el día 3 y 6 p.i. se observó infiltrado de linfocitos, neutrófilos y eosinófilos en la región capsular. Luego de esta fecha, no se observaron particularidades.

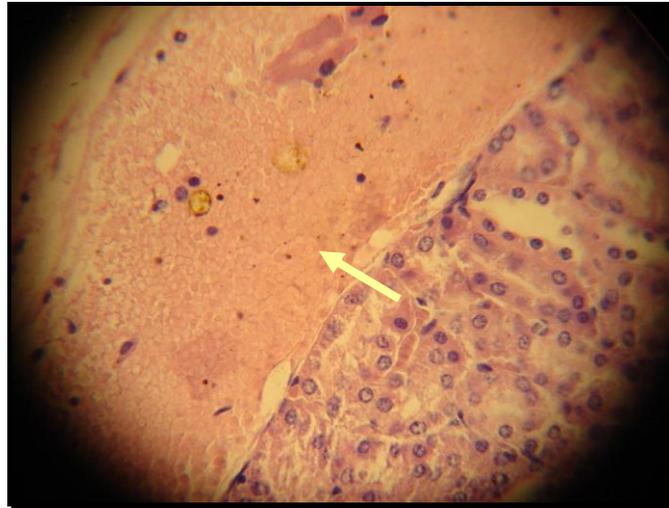


Fig. 23. Hemorragia subcapsular en riñón. Día 4 p.i.
(45x)

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La ausencia de lesiones macroscópicas en el hígado de los ratones es coincidente con los hallazgos de Dubey, (1968) y difiere de lo observado por Hrckova, *et. al.*, (2001), quien describió hemorragias superficiales entre los días 7 y 21 postinfección (p.i.). Las lesiones microscópicas, con infiltrados subcapsulares y periportales de linfocitos, neutrófilos y escasos eosinófilos son coincidentes con las observaciones realizadas por Hrckova, *et. al.*, (2001). Estos autores indicaron que la cepa C₅₇BL₆ utilizada despliega una respuesta Th1 con mayor activación de macrófagos en detrimento de los eosinófilos. Roneus, (1963), describió en cerdos infectados experimentalmente con *T. cati* la presencia de hemorragias superficiales e internas en el hígado, y manchas blanco grisáceas, las que consistieron, histológicamente, en histiocitos y escasos eosinófilos. Bisseru, (1969) describió en ratones infectados con *T. canis* signos de enquistamiento en aquellas larvas que no hubieran abandonado el hígado tras 72 hs. p.i.; macroscópicamente observados como manchas de leche sobre la superficie de un hígado agrandado y congestivo.

En los pulmones, las extensas hemorragias observadas entre los días 3 y 5 p.i. coincide con los reportes de Sprent, (1956), Dubey, (1968) y Hrckova, *et. al.*, (2001). A nivel histológico, la persistencia de infiltrados inflamatorios durante todo el tiempo de estudio y aún en ausencia de lesiones macroscópicas es coincidente con estudios previos en *T. canis* (Buijs, *et. al.*, 1994b; Kayes, 1997) y *T. cati* (HrcKova, *et. al.*, 2001), observando inflamación desde las 48 h p.i. y su persistencia en el tiempo aún en ausencia de larvas. Bowman, *et. al.*, (1987), reportaron que el ratón infectado con *T. canis* presenta altos niveles de antígenos circulantes que permanecen hasta 8 meses p.i. Los autores sugieren que la persistencia de la acumulación de eosinófilos en el pulmón en ausencia de larvas coincide con la presencia de estos antígenos circulantes (Bowman, *et. al.*, 1987).

En los riñones, se observaron lesiones microscópicas de hemorragia e inflamación en la corteza del órgano, coincidente con lo reportado por Hrckova, *et. al.*, (2001).

En el cerebro y cerebelo, el aumento del tamaño de los focos de hemorragia superficial, sin variación del número y presencia de escasa respuesta

inflamatoria de los tejidos a la presencia de la larva, también fue observado por Hrckova, *et. al.*, (2001). Coincide con lo reportado en *T. canis* por Bisseru, (1969), Piergili Fioretti, *et. al.*, (1989) y, recientemente, Othman, *et. al.*, (2010). Estos autores reportaron, como respuesta a la migración en cerebro, la presencia de congestión vascular adyacente a algunas larvas y resaltaron la ausencia de indicios de atrapamiento larvario por reacción inflamatoria. Indicaron, al igual que en el presente estudio, la distribución focal de larvas en el cerebro. Epe, *et. al.*, (1994) notaron ausencia obvia de formación de granulomas o formación de capsula inflamatoria en todas las áreas del cerebro de ratones BALB/c infectados con *T. canis* e indicaron que los cambios histológicos y patofisiológicos en todos los tejidos son menos intensos en esta cepa. Summers, *et. al.*, (1983), observaron lesiones en distintas partes del cerebro de ratones infectados con 1000 huevos larvados de *T. canis*, con presencia de células inflamatorias rodeando áreas de necrosis parenquimal, predominantemente linfocitos. Dolinsky, *et. al.*, (1985), notaron numerosos focos hemorrágicos sobre la superficie dorsal del cerebro y cerebelo en el día 51 p.i. en ratones infectados con *T. canis*, el cambio patológico mas severo se observo en el día 86 p.i.; donde hubo una marcada degeneración de los trayectos. Burren, (1971), estudió la localización de las larvas de *Toxocara canis* dentro del cerebro. El autor observó que a pesar de su menor peso, el cerebelo concentraba un mayor número de larvas por unidad de tejido, en comparación con otras regiones.

Estudios previos han reportado variaciones en el número de larvas de *T. canis* recuperadas del cerebro de ratones de distintas cepas (Epe, *et. al.*, 1994; Skerrett & Holland, 1997; Cox & Holland, 2001a, b), sugiriendo el rol de la inmunidad, y tal vez la genética del hospedador en el establecimiento de la infección cerebral. Epe, *et. al.*, (1994), reportaron que el comienzo de los síntomas cerebrales coincidía con el comienzo de la infección crónica, y que podían ser atribuidos al daño tisular causado por la migración de larvas. En el presente estudio, no se observaron signos clínicos de infección durante la etapa aguda y crónica, aunque la recuperación de larvas en el cerebro ha sido comparativamente menor en *T. cati* con respecto a los resportes sobre *T. canis*, a igual dosis de inoculación y cepa utilizada.

En humanos, la frecuencia y localización de larvas de *T. canis* y *T. cati* en el cerebro es desconocida. De los pocos casos reportados, las larvas fueron registradas en las leptomeninges (Dent, *et. al.*, 1956), en la sustancia gris y blanca del cerebro y cerebelo (Moore, 1962; Hill, *et. al.*, 1985), y en el tálamo (Beautyman, *et. al.*, 1966) y cuerda espinal (Dent, *et. al.*, 1956). En un trabajo reciente, Moreira-Silva, *et. al.*, (2004), recopilaron la literatura disponible sobre toxocariosis humana neurológica y sintetizaron las principales observaciones de cada caso. De nueve autopsias estudiadas, todas reportaron granulomas conteniendo larvas en varias regiones del sistema nerviosos central, incluyendo el cerebelo, medula, tálamo y puente. En otro caso, las lesiones fueron observadas en la sustancia blanca. En dos casos sospechosos de Toxocariosis neurológica, se reportaron lesiones. El significado clínico de la Toxocariosis cerebral en humanos permanece sin aclarar a partir de la existencia de otros factores normalmente involucrados en la presentación del paciente como la epilepsia, demencia y retardo mental (Glickman, *et. al.*, 1979; Magnaval, *et. al.*, 1997; Kaplan, *et. al.*, 2004). Los datos disponibles sobre los efectos de larvas de *T. canis* en el cerebro de hospedadores paraténicos (particularmente ratones) vislumbra la necesidad de mayores investigaciones en la significación de la infección cerebral con *T. canis* y *T. cati*.

En profundidad del miocardio y en el pericardio, la presencia de células inflamatorias y fibras musculares degeneradas demostraron la importancia de una migración activa de las larvas en el corazón, también observado por Piergili Fioretti, *et. al.* (1989) en infecciones por *T. canis*. Mossalam, *et. al.* (1971) describieron la presencia de granulomas encapsulados en infecciones por *T. cati* en el pollo, la rata y el chanchito de la India; y en ratones, infiltrados focales de eosinófilos y macrófagos, sin encapsulamiento. Similar a los reportado por Hrckova, *et. al.* (2001), no se observó la formación de granulomas ni signos de encapsulamiento o atrapamiento de larvas de *T. cati* en los tejidos de los ratones durante el periodo de estudio (120 días).

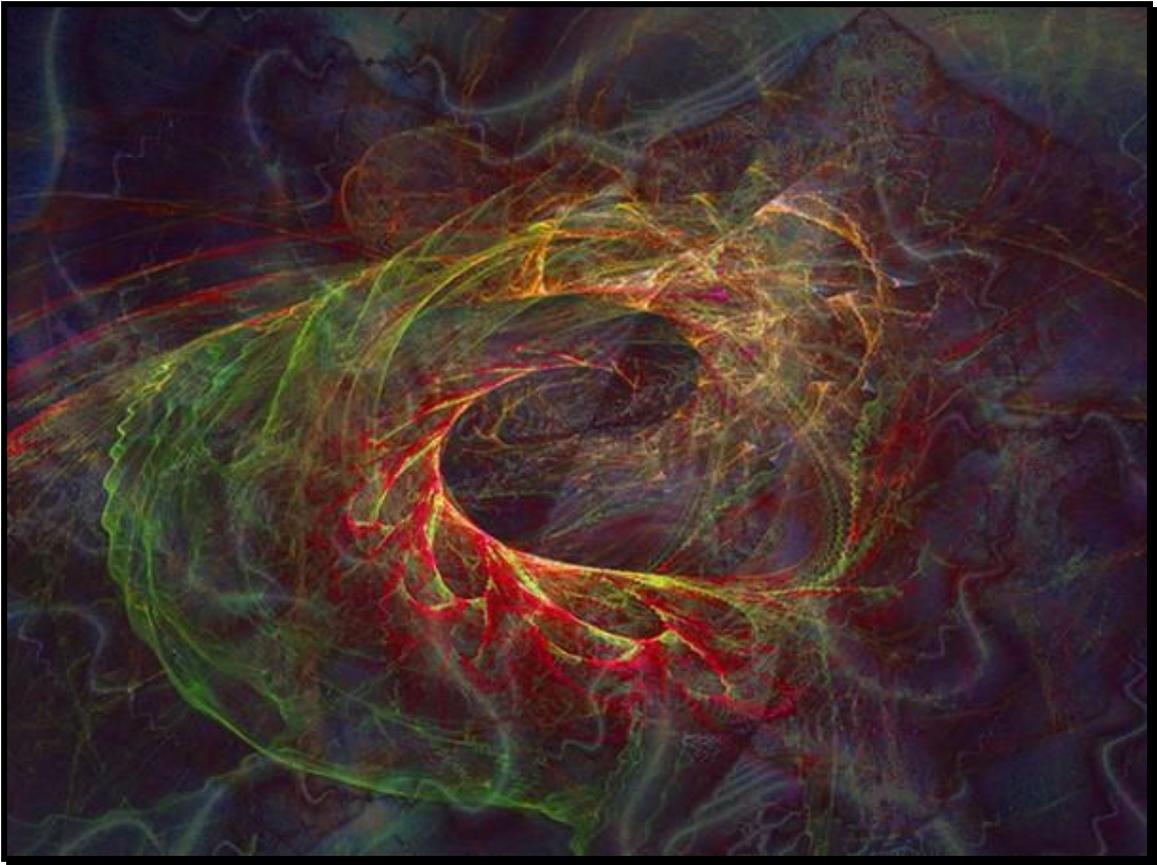
Roneus, (1963), infectó cerdos con *T. cati* y describió lesiones microscópicas desde el día 3 p.i.; con severa infiltración de células inflamatorias en el hígado y riñones y la formación de granulomas eosinofílicos. Estas lesiones coincidían macroscópicamente con pequeñas hemorragias y manchas blanco

grisáceas sobre la superficie de esos órganos. Otros autores describieron las mismas lesiones en respuesta a la migración por *T. canis* en el cerdo (Done, *et. al.*, 1960; Helwich, *et. al.* 1999; Sommerfelt, *et. al.*, 2004), en el gato (Parsons, *et. al.*, 1989) y en el ratón, entre otras especies (Bisseru, 1969; Kayes & Oaks, 1978; Piergili Fioretti, *et. al.*, 1989). Kayes, (1997), infectando ratones con *T. canis*, demostró que la formación de granulomas se producía dentro de la semana p.i. y pudo ser observada en los músculos, hígado, riñones, corazón y en algunos casos en el ojo. En la infección experimental crónica (240 días) de *T. cati* en pollos, desarrollada por Oryan, *et. al.*, (2010), con una dosis de 1000 huevos larvados observaron lesiones histopatológicas en pulmones, con hiperplasia de BALT y células globosas, infiltrados inflamatorios entre las fibras del miocardio y en cerebro, larvas rodeadas por infiltrado inflamatorio a nivel meníngeo. A excepción de las observaciones en el miocardio, estas lesiones presentan diferencias con el presente estudio en ratones hasta el día 120 p.i. En ratones C57BL6 infectados experimentalmente con *T. cati*, Hrcikova, *et. al.*, (2001), describieron lesiones microscópicas en hígado y pulmón, con extensas hemorragias y fuerte reacción inflamatoria alrededor de las larvas y vasos sanguíneos, sin referir la formación de los granulomas eosinofílicos descritos en *T. canis* (Kayes, 1997), en ninguno de los tejidos estudiados, durante 28 días de infección.

En el presente estudio en ratones BALB/c, no se pudo establecer una relación entre los niveles de eosinófilos y la migración larvaria de *T. cati*, como hubiera sido referida por Pinelli, *et. al.*, (2007) en *T. canis*. Esta observación podría coincidir con una menor virulencia de *T. cati*, referida por Havasiova-Reiterova, *et. al.*, 1995 y la inducción de una respuesta TH1 también sugerida en esta cepa (Guillén, *et. al.*, 1990; Bardon, *et. al.*, 1994; Sugane, *et. al.*, 1996; Dent, *et. al.*, 1999), dado que en las lesiones tisulares producidas por las larvas no se observó predominio de los mismos.

Aunque la formación de granulomas no ha sido observada en el presente estudio, las lesiones histopatológicas sugieren que *T. cati* probablemente induce una respuesta patológica similar a *T. canis* pero de menor intensidad lesional, lo cual podría permitir remigraciones ilimitadas de las larvas por el organismo del ratón.

ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA



“Worm Hole”

(Minnie Shuler)

INTRODUCCIÓN

Los antígenos excretorios secretorios se originan en glándulas esofágicas, secretorias y en la cutícula de las larvas parásitas (de Savigny, 1975; Kennedy, *et al.*, 1987). Cumplen funciones de modulación de la respuesta inmune del hospedador, induciendo la estimulación del clon de linfocitos Th2 y despliegan un sistema de señalización en la búsqueda del tejido blanco y en la adhesión celular (Bowman, *et al.*, 1987; Kay-Hooi, *et al.*, 1991). En la cepa murina BALB/c se ha sugerido la activación de ambas respuestas Th1 y Th2 frente a *T. canis*, con predominio de esta última (Guillén, *et al.*, 1990; Bardon, *et al.*, 1994; Sugane, *et al.*, 1996; Dent, *et al.*, 1999).

La técnica de ELISA indirecto con TES larvarios constituye una prueba estandarizada, mundialmente utilizada y de alta confiabilidad (De Salvigny, *et al.*, 1979; Havasiová-Reiterová, *et al.*, 1995; Nunes, *et al.*, 1999)

La evidencia serológica de anticuerpos en la población humana y animal es dosis dependiente y no es considerada indicativa de la prevalencia de infección clínica debido a que la IgG permanece elevada durante años (Glickman & Schantz, 1981; Ree, *et al.*, 1984; Kayes, *et al.*, 1985; Bowman, *et al.*, 1987; Fenoy, *et al.*, 1992; Alonso, *et al.*, 2000; Good, *et al.*, 2004).

Magnaval, *et al.*, (1992), consideraron la medición de la IgE como complemento de un IgG TES ELISA, especialmente en casos de Toxocariosis ocular humana, pero determinaron que la sensibilidad y especificidad del IgE-TES-ELISA es moderada e insuficiente para confirmar el diagnóstico.

Smith, (1993), demostró que la respuesta de IgM permanecía elevada en la Toxocariosis humana, pero existen escasos reportes que identifiquen su utilidad en el diagnóstico de Toxocariosis. Arango, (1998), coincidió en que no es una inmunoglobulina transitoria y observó descenso de los niveles de IgM con niveles elevados de IgG en el post tratamiento de Toxocariosis en pacientes humanos, también coincidente con Shetty & Aviles, (1999). Su descenso se ha propuesto como indicador en el seguimiento del tratamiento de la Toxocariosis al igual que la IgE (Smith, *et al.*, 2009). Matsumura, *et al.*, (1998), demostraron que la

absorción de los sueros con proteína A puede ser de utilidad en la detección de IgM por TES y en la diferenciación de infecciones agudas y crónicas, junto a la IgG.

La incorporación del TES IgG Western Blot como segunda técnica diagnóstica confirmatoria de alta especificidad es la metodología comúnmente utilizada como complemento del TES- IgG- ELISA indirecto, puesto que las bandas de bajo peso molecular (24 a 32 Kda.) se consideran específicas de *Toxocara spp.* (Magnaval, *et. al.*, 1991; Roldán & Espinosa, 2009). La diferenciación de especies de *Toxocara spp.* en el diagnóstico sería posible debido a que la reactividad cruzada entre *T. canis* y *T. cati* no es completa (Smith, *et. al.*, 2009).

MATERIALES Y MÉTODOS

❖ ***Recuperación y concentración del antígeno excretor secretor de larvas de T. cati***

Se utilizaron huevos de *T. cati* obtenidos e incubados siguiendo el mismo procedimiento empleado para la realización de los inóculos. Las larvas de *T. cati* se obtuvieron por ruptura mecánica de los huevos, de acuerdo al procedimiento descrito por Santillán, (2000), basado en el método de De Savigny, (1975) y fueron colocadas en frascos Falcon con medio de cultivo RPMI 1640 y el agregado de Penicilina- Estreptomina y Anfotericina B. Se incubaron en estufa a 37 °C y 5 % de CO₂. Se recolectó el sobrenadante de los cultivos en forma semanal y se conservó a - 20 ° C hasta alcanzar un volumen total de 100 ml. El medio de cultivo recolectado se filtró en un filter System de 500 ml (art. 431097- Corning) de 22 u. El antígeno se concentró mediante un filtro Millipore hasta obtener un volumen final de 13 ml.

❖ ***Evaluación de la capacidad antigénica de los productos ES.***

Se realizó la determinación de proteínas por la técnica de Bradford. Se utilizó la curva patrón de concentración de proteínas con Albúmina Sérica Bovina (concentración = 100 ug./ ml.) y se probó el antígeno de *T. cati* en diluciones de 10,

5 y 2 %. Como resultado se obtuvo una concentración de antígeno de *T. cati* de 506.6 ug/ml.

El patrón de bandas antigénicas se determinó por electroforesis en gel (SDS Page). Se realizaron dos geles al 10 % y concentraciones del antígeno de *T. cati* de 10 y 5 %. Se realizó por duplicado para el tratamiento con y sin B-Mercapto. Se utilizó un peso molecular preteñido RPN800E Rainbow markers full range (12 a 225 Kda) Amersham Biosciencias. **(Fig. 24)**

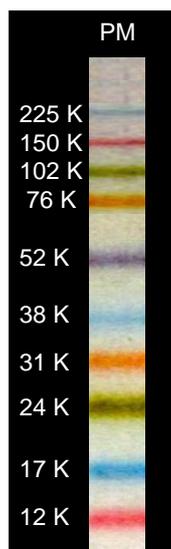


Fig. 24. Pesos moleculares del patrón de bandas comercial. (RPN800E Rainbow markers full range, Amersham Biosciencias)

Se realizó la corrida electroforética a 150 w y 20 MA, durante 1 hora, al final de la cual uno de los geles se destinó a la transferencia en membrana de nitrocelulosa y el otro se colocó en solución fijadora para tinción de plata.

La membrana de nitrocelulosa fue tratada con una dilución 1:100 de suero humano positivo a *T. canis* en PBS leche 1.5 % y una dilución del conjugado 1:6000 en igual solución diluyente. El revelado se realizó con DAB.

❖ ***Determinación de la presencia de inmunoglobulinas M y G en el suero de los ratones infectados experimentalmente con T. cati.***

Técnica de ELISA indirecto

Se realizó la técnica de ELISA indirecto de acuerdo al procedimiento descrito por Coltorti, *et. al.*, (1990), con modificaciones efectuadas para el diagnóstico de toxocariosis en el Departamento de Parasitología del Instituto Anlis Dr. C. Malbrán. Placas de ELISA (Greiner ®) de alto pegado y fondo plano fueron sensibilizadas con una concentración de 10 ug/ ml de antígeno ES de *T. cati* de elaboración propia. Se utilizó una dilución 1/50 de los sueros de los ratones infectados con la dosis 1000. Se utilizó una dilución 1/1200 de conjugado de IgG y 1/500 de conjugado IgM, ambos producidos en carnero con anti IgG y anti IgM de ratón marcado con peroxidasa de rábano picante (Santa Cruz 9417). El revelado de la placa se realizó con sustrato ABTS en tampón citrato y peróxido de hidrógeno. La lectura se realizó en un lector de ELISA (Dynatech mr 4000), a una absorbancia de 410 nm.

Técnica de Western Blot

Se realizó la corrida electroforética de 10 ug/ml de antígeno ES de *T. cati* y del peso molecular (BioRad catalog. 161-0318 Prestained SDS- Page Standards) usando un gel de corrida de 10 % y un gel de stacking de 4 %. La corrida se realizó en una cuba Mini Protean II (Biorad) a 150 w y 20 MA, durante 1 hora. Se realizó el Western Blot de acuerdo al protocolo descrito por Magnaval, *et. al.*, (1991). La membrana de nitrocelulosa fue tratada con una dilución 1/15 del suero de los ratones infectados experimentalmente y de los controles negativos, y posteriormente se incubó con una dilución 1/100 del conjugado de IgG y 1/400 de IgM. El revelado de la reacción se realizó con una solución de 3'-3'diaminobenzidina (DAB). Se utilizó el peso molecular RPN800E Rainbow markers full range (12 a 225 Kda) Amersham Biosciencias.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados por métodos de estadística paramétrica para homogeneidad de varianzas y comparación de medias para evaluar el comportamiento del título de anticuerpos en función del tiempo. Se estableció un porcentaje de significación estadística del 5 %. El punto de corte de la técnica de ELISA y la validez diagnóstica fue determinada utilizando el análisis de curvas ROC

(Metz, 1978; Zweig & Campbell, 1993; Greiner, *et. al.*, 1995) Se utilizaron los programas estadísticos Statistix, MedCalc versión 6.00.112 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium) y TG-ROC1.0 (Greiner, *et. al.*, 1995)

RESULTADOS

❖ *Elisa indirecto*

Los puntos de corte seleccionados para cada prueba de ELISA fueron IgM > 0.143, para un valor de sensibilidad del 100 % (IC: 94,3-100) y de especificidad del 83,3 % (IC: 36,1- 97,2) e IgG > 0.08 para un valor de sensibilidad del 100 % (IC: 94,3-100) y de especificidad del 83,3 % (IC: 36,1- 97,2)

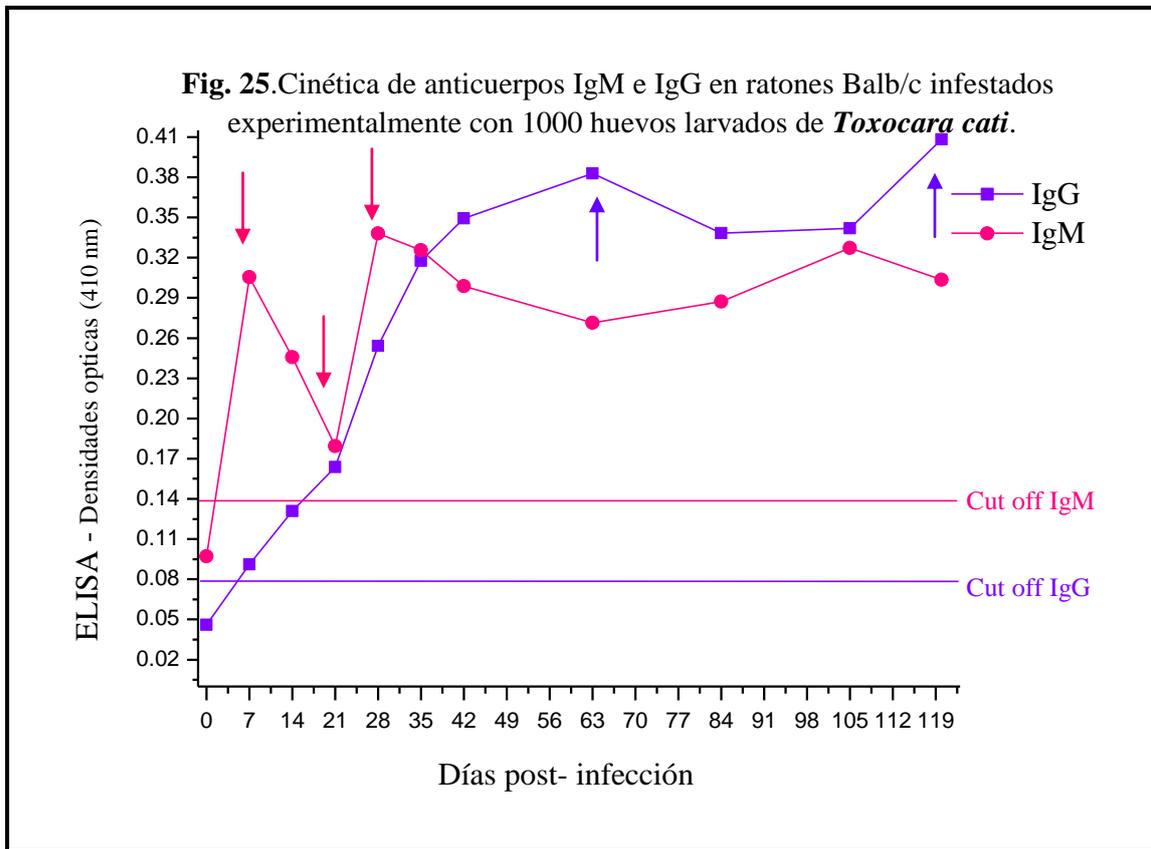
Se observaron diferencias significativas y altamente significativas en el comportamiento de las curvas de Inmunoglobulinas M y G, entre el grupo infectado y el grupo control (IgM: F=2.99, p< 0.01; IgG: F= 13.07, p< 0.01), y entre las fechas p.i. (IgM: F=2. 6, p= 0.031; IgG: F= 18.99, p< 0.01). (Tabla 8)

Tabla 9. Densidades ópticas de la técnica de ELISA para IgM e IgG, en ratones controles e infectados experimentalmente con *T. cati*, en función del tiempo p.i.

Días p.i.	IgM				IgG			
	Promedios	Mín.	Máx.	DS	Promedios	Mín.	Máx.	DS
Grupo control	0,097 (0,08 - 0,11)	0,045	0,171	0,038	0,046 (0,03 - 0,06)	0,005	0,152	0,033
7	0,306 (0 - 0,83)	0,264	0,347	0,059	0,091 (0,03 - 0,15)	0,061	0,177	0,049
14	0,246 (0,03 - 0,46)	0,194	0,345	0,086	0,131 (0,09 - 0,17)	0,082	0,212	0,043
21	0,179 (0,11 - 0,25)	0,148	0,199	0,027	0,164 (0,12 - 0,20)	0,134	0,216	0,033
28	0,338	0,338	0,338	-	0,254 (0,19 - 0,32)	0,206	0,331	0,050
35	0,326 (0,20 - 0,45)	0,211	0,381	0,078	0,318 (0,25 - 0,38)	0,229	0,439	0,070
42	0,299 (0,16 - 0,43)	0,260	0,361	0,055	0,349 (0,28 - 0,41)	0,245	0,497	0,084
63	0,271 (0,25 - 0,30)	0,260	0,278	0,010	0,383 (0,33 - 0,44)	0,302	0,482	0,069
84	0,287 (0,23 - 0,34)	0,240	0,318	0,033	0,338 (0,28 - 0,40)	0,283	0,462	0,063
105	0,327 (0,10 - 0,55)	0,227	0,400	0,090	0,342 (0,31 - 0,37)	0,304	0,389	0,032
120	0,304 (0,25 - 0,37)	0,271	0,393	0,051	0,408 (0,31 - 0,50)	0,333	0,494	0,078

Con los títulos de corte seleccionados, se evidenció infección a partir del día 7 p.i.; con aumentos de las IgM, y a partir del día 14 p.i. con incremento de las IgG.

La curva de anticuerpos IgM descendió el día 21, ascendió nuevamente hasta un valor máximo el día 28 p.i. y continuó con un leve descenso en meseta, hasta el final de la prueba. La IgG tuvo un aumento sostenido y evidente desde el día 14 p.i.; llegando a un pico en el día 63 p.i.; luego del cual descendió levemente y volvió a ascender con un segundo pico en el día 120 p.i. La totalidad de los sueros controles negativos presentaron valores de absorbancia a 410 nm inferiores a los puntos de corte para cada inmunoglobulina.



❖ **Western Blot**

Respuesta de las IgM del suero de *T. cati* al antígeno de *T. cati*

Las IgM de los sueros de *T. cati* reconocieron el antígeno de *T. cati* en la banda de alrededor de 31 Kda. Esta banda se observó con mayor intensidad que con las IgG de los mismos sueros. **(Fig. 26)**

Respuesta de las IgG del suero de *T. cati* al antígeno de *T. cati*

Las IgG de los sueros de *T. cati* reconocieron el antígeno de *T. cati* en las bandas de alrededor de 31 y 52 Kda.; en todos los días p.i. En el día 21 p.i.; se observó además, una banda intermedia entre los 38 y 52 Kda. y en el día 105, se observó una banda de entre 52 y 76 Kda. **(Fig. 27)**

Fig. 26. Esquema de la reacción antígeno TES-*T. cati* con IgM presentes en el suero de ratones infectados experimentalmente con 1000 huevos larvados de *T. cati*; comparación con un suero de ratones infectados con igual dosis de *T. canis*.

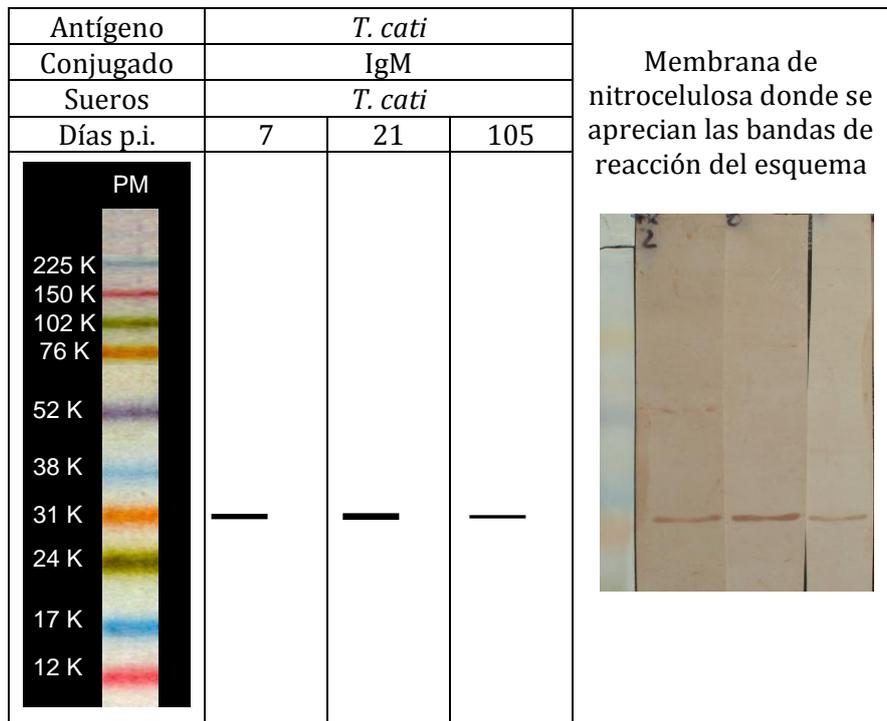
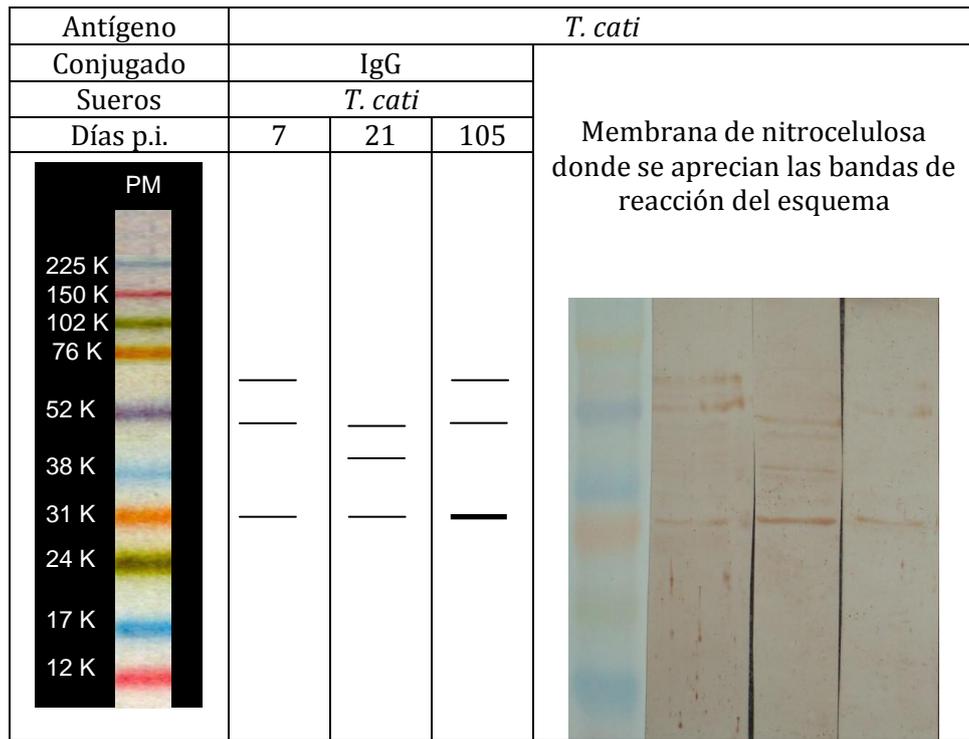


Fig. 27. Esquema de la reacción de antígeno TES-*T. cati* con IgG presentes en el suero de ratones infectados experimentalmente con 1000 huevos larvados de *T. cati*; comparación con un suero de ratones infectados con igual dosis de *T. canis*.



Por la técnica de Western Blot se obtuvo un 100 % de especificidad en los sueros positivos de los ratones infectados experimentalmente en cada fecha p.i.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La técnica de Elisa con antígenos excretorios secretorios (TES) ha sido desarrollada para el diagnóstico serológico de Toxocariosis en humanos debido a su alta sensibilidad, adecuada especificidad y repetibilidad (Jacquier, *et. al.*, 1991; Akao, *et. al.*, 1997).

En ratones infectados con *T. canis*, se observó que la magnitud de la respuesta de anticuerpos específicos es dosis dependiente del número de huevos administrados y de la cepa murina utilizada (Glickman & Schantz, 1981, Kayes, *et. al.*, 1985, Bowman, *et. al.*, 1987; Basualdo Farjat, *et. al.*, 1995; Cuéllar, *et. al.*, 2001). Los efectos de saturación de órganos por las larvas, observados por Kayes y Oaks, (1976), también se sugieren en referencia a la respuesta inmune, en la cual se produciría un efecto de inmunosupresión parcial a altas dosis de inóculo, por inhibición de la respuesta proliferativa de células B y T esplénicas frente a un exceso de antígenos y de activadores policlonales (Minvielle, *et. al.*, 1997; Boroskova, *et. al.*, 1998).

Kayes, *et. al.*, (1985), detectaron niveles significativos de eosinofilia y esplenomegalia desde el día 14 p.i.; en ratones infectados con 5 huevos larvados de *T. canis*, sin embargo, no detectaron anticuerpos antígeno específicos hasta el día 28 p.i. La máxima respuesta inmunológica en ratones la obtuvieron con dosis de 125 huevos, desde el día 14 p.i. Cuéllar, *et. al.*, (2001), infectando ratones BALB/c, con una dosis de 4000 huevos larvados de *T. canis*, obtuvieron respuesta de anticuerpos IgM e IgG entre los días 14 y 21 p.i.; con un pico en el día 210 p.i.

En el presente trabajo, el comportamiento serológico frente a la infección por *T. cati* demuestra una respuesta IgM detectable y sostenida en el tiempo de estudio. Con una dosis de 1000 huevos larvados, se observó aumento de las IgM desde el día 7 p.i. El descenso de IgM observado en el día 21 p.i. es coincidente con la curva en ascenso de la IgG por encima del punto de corte de la IgM, lo cual podría deberse a un efecto competitivo y de interferencia de las IgG por los sitios de reconocimiento de las IgM (Smith, 1993).

La persistencia de niveles altos de IgM podría responder a una estimulación continua de la larva debido al recambio antigénico periódico referido por Jones, *et. al.*, (1994), y sugerido por Matsumura, *et. al.*, (1983) en la respuesta

inmune de los caninos adultos a las larvas de *T. canis*. Estos últimos autores observaron que, contrario a lo que sucede con las IgG, el comportamiento de las IgM no está condicionado por la edad del animal, el número de parásitos y la fertilización de los huevos en *T. canis*. Smith, (1993), reportó que en la toxocariosis humana, los niveles de IgM persistían en el tiempo al igual que los de IgG, pero se observaban descensos del isotipo IgM en respuesta a los tratamientos de la enfermedad, siendo de utilidad en el monitoreo de la evolución de estos pacientes (Arango, 1998; Shetty & Aviles, 1999).

Los resultados obtenidos por la técnica de Elisa para IgG, con una dilución de suero de 1/50 y con un título de corte promedio de $DO > 0.059$, son similares a lo reportado por De Savigny, *et. al.*, (1979), en *T. canis*. Los autores, utilizaron suero humano en la misma dilución y postularon un título de DO mayor a 1.5 en individuos fuertemente positivos (con enfermedad reciente o activa), y un título de IgG entre 0.5 y 1.5 en individuos positivos leves o sospechosos, y refirieron que podría deberse a infecciones recientes o muy antiguas. Un ejemplo de una infección importante de baja respuesta serológica se observó en individuos con Toxocariosis ocular, donde los títulos fueron entre 0.7 y 2.25. Lewis & Maizels, (1993), sugirieron para la infección humana por *T. canis*, un título de IgG 1/50 para las infecciones agudas y de 1/10 en el caso de infecciones crónicas.

En el presente trabajo se evidenció un incremento acelerado de las IgG desde el comienzo del estudio al día 7 p.i.; coincidente con Bastin y Santillán, 2000 (Inédito), en infecciones con 400 y 2000 huevos larvados de *T. canis* en ratones BALB/c, hasta un pico en el día 63. Luego se observó un leve descenso que se mantuvo en meseta con valores altos hasta el día 120 p.i.; momento en el cual hubo un nuevo ascenso.

Havasiova- Reiterová, *et. al.*, (1995), en ratones C57BL6/J infectados con *T. canis* y *T. cati* observaron una respuesta dosis dependiente a muy baja dosis de huevos larvados (entre 5 y 25 huevos), y determinaron que un inóculo de 10 huevos era suficiente para una estimulación inmunológica detectable por la técnica de ELISA. En el estudio de Havasiova- Reiterová, *et. al.*, (1995) puede observarse que los valores de IgG pudieron diferenciarse del punto de corte recién a partir de la dosis 1000. Los autores coincidieron con Kayes, *et. al.*, (1985), en la relación de una mayor dosis infectiva con una mayor precocidad de la respuesta inmunológica.

Havasiova Reiterová, *et. al.*, (1995), también reportaron un último pico en la curva de anticuerpos IgG, en el día 56 en *T. canis* y en el día 84 en *T. cati*; luego de los mismos la curva descendió levemente pero persistió con valores altos durante el lapso de 5 meses de duración del estudio, coincidente con lo observado en este trabajo durante 4 meses. Chieffi, *et. al.*, (1995), demostraron en humanos, persistencia en el título de anticuerpos IgG (OD >1.20) hasta los 6 meses p.i. con una dosis de 200 huevos larvados de *T. canis*. Mientras que existe una correlación positiva del efecto dosis respuesta en cuanto a la intensidad y precocidad de la misma, Glickman & Schantz, (1981), sugirieron una correlación negativa entre el efecto dosis y persistencia del nivel de anticuerpos en el cuerpo. Los autores indicaron que a dosis menores de 100 larvas (dosis crítica para ocurrencia de Síndrome de Larva Migrans Visceral), la masa antigénica no sería suficiente para estimular una respuesta protectora capaz de eliminar o secuestrar larvas en granulomas, pudiendo estas migrar y producir TES en forma indefinida. Cuéllar, *et. al.*, (2001), con dosis infectiva de 1000 huevos larvados de *T. canis*, sugirieron en ratones BALB/c, que la persistencia de altos niveles de anticuerpos durante todo el tiempo de estudio, respondía a viabilidad de las larvas con producción permanente de TES.

Havasiová-Reiterova, *et. al.*, (1995), indicaron una menor inmunogenicidad de las larvas de *T. cati*, evidenciada en valores de Do inferiores a los obtenidos por los autores en *T. canis*, con las mismas dosis. En el presente estudio, los valores de DO fueron inferiores a los obtenidos por Havasiová-Reiterova, *et. al.*, (1995), pero también lo ha sido el punto de corte, que difirió significativamente del grupo infectado. Sería conveniente realizar un estudio comparativo con *T. canis* bajo idénticas condiciones de trabajo para evaluar si realmente presenta menor inmunogenicidad, o las diferencias podrían deberse a diferencias en la calidad del antígeno o en la técnica.

El valor de corte elegido para el ELISA a IgG se correspondió con una sensibilidad del 100 % y una especificidad del 83.3 %, coincidente con lo reportado por De Savigny, *et. al.*, (1979). Dado el uso de controles positivos y negativos seguros, los resultados presentados buscaron maximizar el valor de sensibilidad de la técnica de ELISA y mejorar la especificidad complementando el estudio con la técnica de Western Blot.

Los resultados observados dan cuenta de un comportamiento inmunológico de *T. cati* en el ratón similar al de *T. canis* observado en el humano y amplían el conocimiento sobre la respuesta de las IgM, con posibilidad de ser considerada en la evolución de los tratamientos y en la definición de la cronicidad de la infección. El potencial del antígeno obtenido de larvas de huevos presentes en materia fecal, aportan nuevos instrumentos para el diagnóstico de Toxocariosis humana en vista de la dificultad de obtención de hembras adultas del parásito.

Los resultados obtenidos por ELISA se correlacionaron con los obtenidos por Western Blot. La banda de alrededor de 31 Kda estuvo presente en la etapa aguda y crónica de la infección con ambas inmunoglobulinas, pero fue la única banda e intensamente detectada en la etapa aguda con IgM. Es probable que esta banda coincida con el antígeno previamente descrito de 33 Kda de *T. cati*, una lectina de localización epicuticular. Es la glicoproteína soluble más secretada por la larva y compite con las lectinas presentes en la superficie de los linfocitos del hospedador ligándose a los sitios de reconocimiento carbohidrato de la larva. Estos son los primeros pasos de la extravasación e infiltración tisular, por lo que se dificulta el proceso inflamatorio y promueve la supervivencia de la larva en el inicio de la infección. Es probable que lo expuesto explique la presencia de esta banda más notoria en los inicios de la infección y frente a una estimulación permanente de las larvas. La intensidad de la respuesta en *T. cati* también coincide en que las IgM son los anticuerpos involucrados en la respuesta frente a los glicanos metilados del antígeno, indicando que no hay respuesta celular involucrada en la reacción (Maizels, 1984). Mientras que la estructura trisacárida del antígeno de *T. canis* tiene un solo sitio de metilación en la fucosa, *T. cati* tiene la estructura trisacárida 100 % di metilada en galactosa (Kay Hooi, *et. al.*, 1991).

La ausencia de la banda de 52 Kda en la etapa aguda, podría deberse a la falta de reconocimiento antigénico por la inmunoglobulina M o a un efecto de competencia por los sitios de reconocimiento antigénico con las IgG presentes en el suero. La observación mencionada surge de la evidencia de reconocimiento de la banda de 52 Kda. observada en el western con IgG, además de la banda de 31 Kda.

Magnaval, *et. al.* (1991), en el diagnóstico de Toxocariosis humana, clasificaron 7 componentes antigénicos de *T. canis* en dos grupos, la fracción

molecular alta (132, 147 y 200 KDa) y la baja (24, 28, 30 and 35 KDa); sugiriendo que las fracciones de alto peso molecular pueden dar cuenta de reacciones cruzadas, mientras que las de bajo peso molecular parecen ser más específicas del genero *Toxocara*.

Hrckova, (2001), sugirió en *T. canis*, que las moléculas expresadas por las larvas difieren en la etapa aguda de infección con respecto a la crónica; observándose respuesta a IgG para los antígenos de 200 y 132 Kda desde el comienzo de su estudio (7 días p.i.) pero para los antígenos de 26, 28, 35 y 70 Kda, recién a partir de la semana 3 p.i. Akao, *et. al.*, (1983), en *T. canis*, reportó que las bandas de alto peso molecular aparecían desde las 2 semanas p.i.; pero las de bajo peso lo hacían luego de las 26 semanas p.i.

Los autores mencionados previamente hicieron referencia al hallazgo de bandas de bajo peso molecular en etapas de mayor cronicidad, detectadas con IgG, lo cual refuerza la hipótesis sobre la existencia de competencia entre ambas inmunoglobulinas.

En el presente estudio en etapa crónica, *T. cati* con IgG dio bandas de alrededor de 31, 52 y 76 Kda.; y se observó que esta última es característica de esta etapa. Las bandas observadas pertenecen a las fracciones de bajo peso molecular descritas por Magnaval, *et. al.*, (1991), para *T. canis*, por lo que serían necesarios estudios similares con esta especie para confirmar las diferencias en las respuestas entre ambas especies.

CONCLUSIONES FINALES Y PROPUESTAS

- La infección experimental del ratón con larvas de *T. cati*, mostró un patrón migratorio con presencia de las mismas en hígado, pulmón y cerebro, en la etapa aguda de desarrollo de la infección. Se destaca en *T. cati*, una migración menor de larvas al cerebro y ausencia de migración al ojo, como fuera observado en *T. canis*. En la etapa crónica, la concentración de larvas en músculo indica la importancia del ratón como hospedador paraténico. Como modelo experimental, la cepa murina BALB/c, se propone como un modelo conveniente para el estudio específico de la patogenia e inmunología de la enfermedad, puesto que aporta información predictiva sobre aspectos de la Toxocariosis humana.
- La ausencia de eosinofilia periférica, la ausencia de formación de granulomas parasitarios y los altos niveles de anticuerpos IgM e IgG obtenidos en los ratones infectados experimentalmente, podrían sugerir una menor virulencia de las larvas de *T. cati*. Esta respuesta se traduciría en larvas con posibilidad permanente de migración y estimulación constante del sistema inmunológico. La baja capacidad de restricción tisular y de eliminación de larvas por parte de células efectoras del sistema inmune, plantea la hipótesis sobre la relación de *T. cati* con la Toxocariosis ocular en el ser humano, donde la falta de restricción inmunológica suponga que una larva somática en el presente, pudiera ser una larva ocular en el futuro.
- La utilización de anticuerpos IgM específicos de *Toxocara* spp. para serodiagnóstico amerita mayores investigaciones, así como el estudio de las diferencias inmunológicas entre *T. canis* y *T. cati*, observadas en la presente tesis. La determinación de la sensibilidad y especificidad diagnóstica en sueros humanos, junto a estudios de avidéz de anticuerpos IgM e IgG, podrían colaborar en la diferenciación de infecciones agudas y crónicas. Estandarizar los métodos de diagnóstico, el antígeno utilizado y los títulos de corte, es una asignatura aún pendiente en la Toxocariosis.

- El antígeno de *Toxocara cati* obtenido de larvas de huevos presentes en materia fecal mostró poseer propiedades antigénicas. En la bibliografía, no existen reportes previos de obtención de antígeno de esta procedencia, puesto que se utilizan cultivos de huevos obtenidos de hembras adultas del parásito. Profundizar los estudios sobre este antígeno resultaría una alternativa óptima y práctica para la obtención de antígeno.
- Desde el punto de vista epidemiológico, la presencia de gatos parasitados con *T. cati* en los hogares y espacios públicos, junto al contacto cotidiano y directo de esta especie animal con el hombre, supondría al igual que con la especie *T. canis*, un riesgo de adquirir *Toxocariosis*, especialmente en los niños. Se requieren estudios que determinen dicho riesgo en Argentina, dada la alta prevalencia de la parasitosis en el país, así como otras posibles vías de transmisión relacionadas al contacto humano animal. Estos estudios podrían colaborar con la promoción de medidas de prevención de la enfermedad en los mismos, tendientes a preservar un vínculo sin riesgos.

CANTO A LOS ASCARIS

*Un ascaris nos llamó
Un día cual la sirena
Nos dijo miren soy yo
Vengo buscando la cena*

*Nos envolvió con su canto
Nos engaño con su estilo
Suave, liso y dulce un tanto
yo soy lo mejor del phylo*

*Sus labios besan la piel
De inmaculada mucosa
Quiere encontrar la miel
Que a su gusto sea sedosa*

*Delante del auditorio
Toda tu vida contamos
Te pusimos en el podio
Monoxeno te llamamos*

*Tus tres labios besucones
Tu celoma encantador
Poder tener estos dones
Te transforma en seductor*

*Amamos tu biología
Como macho querendón
Te sumergís en la orgía
Del sexo con gran pasión*

Son tus armas amorosas

*Espículas y telamón
Así conseguís esposas
Y una buena relación*

*Hermosas larvas trajiste
Mundo helminto se pobló
Con las drogas resististe
El Pirantel te atacó*

*Huevos, larvas revoltosas
Ambiente contaminó
Es como un jardín de rosas
Que el ascaris nos legó*

*Al fin les digo que hoy
A estos bichos yo admiro
Me acompañan donde voy
Los quiero como a un amigo*

*Ascaris nunca se pierdan
En lucha de subsistencia
Aguantarán cuanto quieran
¡Arriba la resistencia!*

*Prof. Adriana B. Rosa
Cátedra de Parasitología y
Enf. Parasitarias. FCVet. UBA.*

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía citada

1. Abbas, A.K.; Abbas, A.K.; Lichtman, A.H.; Pober J.S. (1995) Cellular and molecular immunology. 2° Edición. Madrid. Edit. Interamericana McGraw-Hill; p. 553.
2. Abo-Shehada, M.; Al-Zubaidy, B.; Herbert, I (1984). The migration of larval *Toxocara canis* in mice. Migration Through the intestine in primary infections. *Vet. Parasitol.* 17:65-73.
3. Abo-Shehada, M.N. (1989) Prevalence of *Toxocara canis* ova in soil on schools and public grounds in northern and central Jordan. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 83: 73-75.
4. Agnihotri, R.K.; Bhatia, B.B.; Kumar, D. (1987). Visceral larva migrans. 1. Migratory behavior of *Toxocara canis* larvae in golden hamster and chicken. *Indian J. Anim. Sci.* 57(8): 853-855.
5. Agudelo, C.; Villareal, E.; Caceres, E.; Lopez, C.; Eljach, J.; Ramirez, N.; Hernandez, C.; Corredor, (1990). Human and dogs *Toxocara canis* infection in a poor neighborhood in Bogotá. *Mem. Inst. O. Cruz.* 85: 75-78.
6. Akao, N.; Chu, A.E.; Tsukidate, S.; Fujita, K. (1997) A rapid and sensitive screening kit for the detection of anti-*Toxocara* larval ES antibodies. *Parasitol. Int.* 64: 189-195.
7. Akao, N.; Ohta, N. (2007) Toxocariasis in Japan. *Parasitol. Int.* 56: 87-93.
8. Akao, N.; Tomoda, M.; Hayashi, E.; Suzuki, R.; Shimizu-Suganuma, M.; Shichinohe, K.; Fujita, K. (2003) Cerebellar ataxia due to *Toxocara* infection in Mongolian gerbils, *Meriones unguiculatus*. *Vet. Parasitol.* 113: 229-237.
9. Akyol, A.; Bicerol, B.; Ertug, S.; Ertabaklar, H.; Kiylioglu, N. (2007) Epilepsy and Seropositivity rates of *Toxocara canis* and *Toxoplasma gondii*. *Seizure.* 16: 233-237.
10. Alonso, J.M.; Bojanich, M.V.L.; Chamorro, M.; Gorodner, J.O. (2000) *Toxocara* seroprevalence in children from a subtropical city in Argentina. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo.* 42: 235-237.
11. Alonso, J.M.; Stein, M.; Chamorro, M.C.; Bojanich, M.V. (2001) Contamination of soil with eggs of *Toxocara* in a subtropical city in Argentina. *J. Helminthol.* 75: 1-4.
12. Alvares Santarém, V.; Sartor, I.F.; Matsubara Bergamo, F.M. (1998) Contaminação, por ovos de *Toxocara* spp, de parques e praças públicas de Botucatu, São Paulo, Brasil. *Rev. Soc. Brazil. Med. Trop.* 31 (6):529-532.
13. Amaral, H.L.D.C.; Rassier, G.L.; Pepe, M.S.; Gallina, T.; Villela, M.M.; Nobre, M.D.O.; Scaini, C.J.; Berne, M.E.A. (2010) Presence of *Toxocara canis* eggs on the hair of dogs: A risk factor for Visceral Larva Migrans. *Vet. Parasitol.* 174 (1-2): 115-118.
14. American Veterinary Medical Association. (1993) Report of the AVMA Panel on Euthanasia. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 202(2): 229-249.
15. Anaruma, F.F.; Chieffi, P.P.; Correa, C.R.; Camargo, E.D.; Silveira, E.P.; Aranha, J.J.; Ribeiro, M.C. (2002) Human toxocariasis: a seroepidemiological survey in the municipality of Campinas (SP), Brazil. *Rev. Ins. Med. Trop. S. Paulo.* 44: 303-307.
16. Antolová, D.; Reiterová, K.; Miterpáková, M.; Stanko, M.U.P. (2004) Circulation of *Toxocara* spp. in suburban and rural ecosystems in the Slovak Republic. *Vet. Parasitol.* 126: 317-324.
17. Arango, C.A. (1998) Visceral larva migrans and the hypereosinophilia syndrome. *South. Med. J.* 91 (9): 882-883.
18. Araujo, P. (1972). Observaciones pertinentes as primeiras ecdises de larvas de *Ascaris lumbricoides*, *A. suum* e *Toxocara canis*. *Rev. Ins. Med. Trop. S. Paulo.* 14: 83-90.
19. Arpino, C.; Gattinara, G.C.; Piergili, D.; Curatolo, P. (1990) *Toxocara* infection and epilepsy in children: a case-control study. *Epilepsia.* 31: 33-36.
20. Aydenizöz-Özkayhan, M. (2006) Soil contamination with ascarid eggs in playgrounds in Kırıkkale, Turkey. *J. Helminthol.* 80: 15-18.
21. Aydenizöz-Özkayhan, M.; Yagci, B.B.; Erat, S. (2008). The investigation of *Toxocara canis* eggs in coats of different dog breeds as a potential transmission route in human toxocariasis. *Vet. Parasitol.* 152: 94-100.

22. Azizi, S.; Oryan, A.; Sadjjadi, S.M.; Zibaei, M. (2007) Histopathologic changes and larval recovery of *Toxocara cati* in experimentally infected chickens. *Parasitol. Res.* 102(1):47-52.
23. Baboolal, S.; Rawlins, S.C. (2002) Seroprevalence of toxocariasis in schoolchildren in Trinidad. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 96: 139-143.
24. Bach-Rizzatti, B.C. (1984) Desenvolvimento de Teste Imunoenzimático, ELISA, para o Diagnóstico da Toxocaríase Humana, MSc Thesis, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 105 pp.
25. Bardon Iglesias, M.R. (1992) Contribución a la Biología e Inmunología de *Toxocara canis*. Tesis de la Universidad Complutense de Madrid.
26. Bardon, R.; Cuellar, C.; Guillen, J.L. (1994) Larval distribution of *Toxocara canis* in BALB/c mice at nine weeks and one year post-inoculation. *J. Helminthol.* 68: 359-360.
27. Barriga, O.O. (1988) A critical look at the importance, prevalence and control of toxocariasis and the possibilities of immunological control. *Veterinary Parasitology* 29, 195-234.
28. Barriga, O.O. (1991) Rational control of canine toxocariasis by the veterinary practitioner. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 98: 216-221.
29. Bass, J.L., Mehta, K.A.; Glickman, L.T.; Eppes, B.M. (1983). Clinically inapparent *Toxocara* infection in children. *N. England J. Med.* 308: 723-724.
30. Bass, J.L.; Mehta, K.A.; Glickman, L.T.; Blocker, R.; Eppes, B.M. (1987) Asymptomatic toxocariasis in children. A prospective study and treatment trial. *Clin. Pediat.* 26: 441-446.
31. Basualdo Farjat, J.; Minvielle, M.C.; Pezzani, B.C.; Niedfeld, G. (1995) Relationship between parasitological inoculum and immunological parameters in experimental toxocariasis. *Zbt. Bakt.* 282: 465-473.
32. Beautyman, W.; Beaver, P.C.; Buckley, J.J.C.; Woolf, A.L. (1966) Review of a case previously reported as showing an ascarid larva in the brain. *J. Pathol. Bacteriol.* 91: 271-273.
33. Beaver, P.C.; Snyder, C.H.; Carrera, G.M.; Dent, J.H.; Lafferty, J.W. (1952) Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. *Pediat.* 9: 7-19.
34. Bede, O.; Szenasi, Z.; Danko, J.; Gyurkovits, K.; Nagy, D. (2008). Toxocariasis associated with chronic cough in childhood: a longitudinal study in Hungary. *J. Helminthol.* 82: 357-363.
35. Beugnet, F.; Gadat, R. (1993) Recherche d'œufs de *Toxocara spp.* et de larves d'*Ankylostoma spp.* dans le sol a Nouméa, Nouvelle-Calédonie. *Rev. Med. Vet.* 144: 523-5.
36. Biglan, A.W.; Glickman, L.T.; Lobes, L.A. (1979) Serum and vitreous *Toxocara* antibody in nematode endophthalmitis. *Am. J. Ophthalmol.* 88: 898-901.
37. Bissereu, B. (1969) Studies on the liver, lung, brain and blood of experimental animals infected with *Toxocara canis*. *J. Helminthol.* 43: 267-272.
38. Boes, J.; Helwig, A.B. (2000) Animal models of intestinal nematode infections of humans. *Parasitol.* 121: 597-5111.
39. Boroskova, Z.; Reiterova, K.; Dubinsky, P.; Tomasovicova, O.; Machnicka, B. (1998) Inhibition of lymphoproliferative response and its restoration with a glucan immunomodulator in mice with experimental larval toxocarosis. *Folia Microbiol.* 43: 475-476.
40. Bowman, D.D. (2003) Alternatives, a veterinary clinical update: total parasite management in dogs. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 25: 1-12.
41. Bowman, D.D.; Mika-Grieve, M.; Grieve, R.B. (1987) Circulating excretory-secretory antigen levels and specific antibody responses in mice infected with *Toxocara canis*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 36: 75-82.
42. Brown, D.H. (1970) Ocular *Toxocara canis*. Part II. Clinical Review. *J. Pediat. Ophthalmol.* 7: 182-191.
43. Brunaská, M.; Dubinský, P.; Reiterová, K. (1995) *Toxocara canis*: ultrastructural aspects of larval moulting in the maturing eggs. *Int. J. Parasitol.* 25: 683-690.
44. Buijs, J.; Borsboom, G.; Renting, M.; Hilgersom, W.J.; van Wieringen, J.C.; Jansen, G.; Neijens, J. (1997) Relationship between allergic manifestations and *Toxocara* seropositivity: a cross-sectional study among elementary school children. *European Resp. J.* 10: 1467-1475.

45. Buijs, J.; Borsboom, G.; van Gemund, J.J.; Hazebroek, A.; van Dongen, P.A.; van Knapen, F.; Neijens, H.J. (1994a) *Toxocara* seroprevalence in 5-year-old elementary schoolchildren: relation with allergic asthma. *Am. J. Epid.* 140: 839–847.
46. Buijs, J.; Lokhorst, W.H.; Robinson, J.; Nijkamp, F.P. (1994b) *Toxocara canis*-induced murine pulmonary inflammation analysis of cells and proteins in lung tissue and bronchoalveolar lavage fluid. *Par. Immunol.* 16: 1–9.
47. Burren, C.H. (1971) The distribution of *Toxocara canis* larvae in the central nervous system of the mouse. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 65: 450–453.
48. Burren, C.H. (1972) The distribution of *Toxocara canis* in the central nervous system of rodents. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 66: 937–942.
49. Bush, A.O.; Fernandez, J.C.; Seed, J.; Esch, G.W. (2001) *Parasitism: the Diversity and Ecology of Animal Parasites*. Cambridge University Press, Cambridge, Massachusetts.
50. Camargo, E.; Nakamura, P.; Vaz, A.; Silva, M.; Chieffi, P.; Melo, E. (1992) Standardization of Dot-ELISA for the serological diagnosis of Toxocariasis and comparison of the assay with ELISA. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* 34 (1): 55-60.
51. Campos-Junior, D.; Elefant, G.R.; de Melo e Silva, E.O.; Gandolfi, L.; Jacob, C.M.A.; Tofeti, A.; Pratesi, R. (2003). Frequency of seropositivity to *Toxocara canis* in children of different socioeconomic strata. *Rev. Soc. Braz. Med. Trop.* 36: 509–513.
52. Capuano, D.M.; Rocha G.M. (2005) Environmental contamination by *Toxocara sp.* eggs in Ribeirão Preto, São Paulo State, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* 47: 223–226.
53. Cardillo, N.; Brahamian, M.; Berra, Y.; Kunic, J.; Sommerfelt, I. (2010) Método de recuperación y concentración de huevos de *Toxocara cati* de materia fecal felina con fines experimentales y diagnósticos. XXII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Lima, Perú.
54. Cardillo, N.; Rosa, A.; Sommerfelt, I. (2008) Estudio preliminar sobre los distintos estadios de *Toxocara cati* en gatos. *Parasitol. Latinoam.* 63 (1-4): 72-75.
55. Carson, F.L. (1926) *Histotechnology. A self instructional text*. ASCP Press.
56. Castillo, D.; Paredes, C.; Zañartu, C.; Castillo, G.; Mercado, R.; Muñoz, V.; Schenone, H. (2000) Contaminación ambiental por huevos de *Toxocara sp.* en algunas plazas y parques públicos de Santiago de Chile, 1999. *Bol. Chil. Parasitol.* 55(3-4): 86–91.
57. Chieffi, P.P.; Peres, B.A.; de Mello, E.O.; Kanamura, H.; Bräo, M.M. (1995) Persistence of specific antibody response in different experimental infections of mice with *Toxocara canis* larvae. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* 37(3):187-190.
58. Chieffi, P.P.; Ueda, M.; Camargo, E.D.; de Souza, M.; Guedes, M.L.; Gerbi, L.J.; Spir, M.; Moreira, A.S. (1990) Visceral larva migrans: a seroepidemiological survey in five municipalities of Sao Paulo state, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* 32: 204–210.
59. Chiodo, P.; Basualdo, J.; Ciarmela, L.; Pezzani, B.; Apezteguía, M.; Minvielle, M. (2006) Related factors to human toxocariasis in a rural community of Argentina. *Mem. Inst. O. Cruz.* 101: 397–400.
60. Church, E.M.; Wyand, D.S.; Lein, D.H. (1975) Experimentally induced cerebrospinal nematodiasis in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Am. J. Vet. Res.* 36: 331–335.
61. Coati, N.; Schnieder, T.; Epe, C. (2004) Vertical transmission of *Toxocara cati* Schrank 1788 (Anisakidae) in the cat. *Parasitol. Res.* 92:142- 146.
62. Coelho, R.A.L.; Carvalho J.L.B.; Perez, E.P.; Araki, K.; Takeuchi, T.; Ito, A.; Aoki, T.; Yamasaki, H. (2005). Prevalence of toxocariasis in northeastern Brazil based on serology using recombinant *Toxocara canis* antigen. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 72: 103–107.
63. Conde Garcia, L.; Muro Alvarez, A.; Martin, F. (1989) Epidemiological studies on toxocariasis in a zone of western Spain. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 83: 615–620.
64. Congdon, P.; Lloyd, P. (2010) *Toxocara* infection in the United States: the relevance of poverty, geography and demography as risk factors, and implications for estimating county prevalence. *Int. J. Pub. Health.* 56: 15- 24.
65. Cooper, P.J. (2008). *Toxocara canis* infection: an important and neglected environmental risk factor for asthma? *Clin. Exp. Allergy.* 38: 551– 553.
66. Cooper, P.J. (2009) Interactions between helminth parasites and allergy. *Current Op. Allergy Clin. Immunol.* 9: 29–37.

67. Cox, D.M.; Holland, C.V. (1998) The relationship between numbers of larvae recovered from the brain of *Toxocara canis* infected mice and social behaviour and anxiety in the host. *Parasitol.* 116 (6): 579- 594.
68. Cox, D.M.; Holland, C.V. (2001a) Influence of mouse strain, infective dose and larval burden in the brain on activity in *Toxocara*-infected mice. *J. Helminthol.* 75, 23–32.
69. Cox, D.M.; Holland, C.V. (2001b) Relationship between three intensity levels of *Toxocara canis* larvae in the brain and effects on exploration, anxiety, learning and memory in the murine host. *J. Helminthol.* 75: 33–41.
70. Critchley, E.M.; Vakil, S.D.; Hutchinson, D.N.; Taylor, P. (1982) *Toxoplasma*, *Toxocara* and epilepsy. *Epilepsia.* 23: 315–323.
71. Cruz, A.T.; Franklin, G.Y.; Kaplan, S.L. (2008) Toxocariasis causing eosinophilic ascites. *Pediatric Inf. Dis. J.* 27: 563–564.
72. Cuellar, C.; Fenoy, S.; Del Aguila, C.; Guillen, J.L. (2001) Isotype responses in murine experimental toxocariasis. *Mem. Inst. O. Cruz.* 96: 549–553.
73. Cypess, R.H.; Glickman, L.T. (1978) Serological tests for *Toxocara*. *Lancet.* 312 (8089): 579.
74. Cypess, R.H.; Karol, M.H.; Zidian, J.L.; Glickman, L.T.; Gitlin, D. (1977) Larva-specific antibodies in patients with visceral larva migrans. *J. Inf. Dis.* 135: 633–640.
75. Da Silva, F.T.; Yamamoto, J.H.; Hirata, C.E.; Nakashima, Y.; Chieffi, P.P.; Olivalves, E. (2008) Optical coherence tomography of a subretinal granuloma in simultaneous visceral and ocular larva migrans. *Retinal Cases Brief Rep.* 2: 316.
76. de Savigny, D.H. (1975) In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of *Toxocara* ES antigen for use in serodiagnostic tests for visceral larva migrans. *J. Parasitol.* 61: 781–782.
77. de Savigny, D.H.; Voller, A.; Woodruff, W. (1979) Toxocariasis: serological diagnosis by enzyme immunoassay. *J. Clin. Pathol.* 32: 284-8.
78. De Visser, L.; Rothova, A.; de Boer, J.H., van Loon, M.; Kerkhoff, F.T.; Canninga-van Dijk, M.R.; Weersink, A.Y. ; de Groot-Mijnes, J.D. (2008) Diagnosis of ocular toxocariasis by establishing intraocular antibody production. *Am. J. Ophthalmol.* 145: 369–374.
79. de Ybanez, M.R.R.; Garijo, M.M.; Alonso, F.D. (2001) Prevalence and viability of eggs of *Toxocara spp.* and *Toxascaris leonina* in public parks in eastern Spain. *J. Helminthol.* 75, 169–173.
80. Dean-Hart, J.C.; Raistrick, E.R. (1977) Adult toxocariasis. Unilateral retinal lesions in the 20- to 50-year age group. *Trans. Ophthalmol.* 97: 164–167.
81. Del Prete, G.F.; de Carli, C.M.; Mastromauro, C.; Biagiotti, R.; Macchia, D.; Falagiani, P.; Ricci, M.; Romagnani, S. (1991). Purified protein derivative of *Mycobacterium tuberculosis* and excretory–secretory antigen(s) of *Toxocara canis* expand human T cells with stable and opposite (type 1 T helper or type 2 T helper) profile of cytokine production. *J. Clin. Inv.* 88: 346–350.
82. Del Valle Guardis, M.; Radman, N.E.; Burgos, L.; Fonrouge, R.; Archelli, S.M. (2002) *Toxocara canis*: migración larval y eosinofilia en el hospedador paraténico. *Parasitol. Latinoam.* 57 (1-2): 46- 49.
83. Dent, J.H.; Nichols, R.L.; Beaver, P.C.; Carrera, G.M.; Staggers, R.J. (1956) Visceral larva migrans; with a case report. *Am. J. Pathol.* 32: 777–803.
84. Dent, L.A.; Daly, C.M.; Mayrhofer, G.; Zimmerman, T.; Hallett, A.; Bignold, L.P.; Creaney, J.; Parsons, J.C. (1999) Interleukin-5 transgenic mice show enhanced resistance to primary infections with *Nippostrongylus brasiliensis* but not primary infections with *Toxocara canis*. *Infection and Immunity* 67, 989–993.
85. Desowitz, R.S.; Rudoy, R.; Barnwell, J.W. (1981). Antibodies to canine helminth parasites in asthmatic and nonasthmatic children. *Int. Arch. Allergy App. Immunol.* 65: 361–366.
86. Despommier, D. (2003). Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. *Clin. Microbiol. Rev.* 16: 265–272.
87. Dimayuga, E.; Stober, M.; Kayes, S.G. (1991) Eosinophil peroxidase levels in hearts and lungs of mice infected with *Toxocara canis*. *J. Parasitol.* 7(3):461-466.

88. Dolcetti, M. (1947) Modificación al método de Benbrook mediante la centrifugación doble con solución de azúcar para el examen microscópico de las materias fecales de los animales domésticos. *Rev. C. E. Med.* 16(24): 29–35.
89. Dolinsky, Z.S.; Hardy, C.A.; Burright, R.G.; Donovick, P.J. (1985) The progression of behavioural and pathological effects of the parasite *Toxocara canis* in the mouse. *Phy. Behav.* 35: 33–42.
90. Done, J.T.; Richardson, M.D.; Gibson, T.E. (1960) Experimental visceral larva migrans in the pig. *Res. Vet. Sci.* 1: 133–151.
91. Dryden, M. (1996) Diagnosis and control of gastrointestinal parasites in dogs and cats. *Vet. Quart.* 18: 42–43.
92. Dubey, J.P. (1966) *Toxocara cati* and other intestinal parasites of cats. *Vet Rec.* 79: 506–8.
93. Dubey, J.P. (1967) Egg production in *Toxocara cati*. *Vet. Rec.* 81: 671–672.
94. Dubey, J.P. (1968) Migration of *Toxocara cati* larvae in mice. *Trop. Geograph. Med.* 20: 172–176.
95. Dubey, J.P. (1978) Patente *Toxocara canis* infection in ascarid-naive dogs. *J. Parasit.* 82: 383–387.
96. Dubinsky, P.; Havasiova-Reiterova, K.; Petko, B.; Hovorka, I.; Tomasovicova, O. (1995) Role of small mammals in the epidemiology of toxocaríasis. *Parasitol.* 110: 187–193.
97. Dubná, S.; Langrová, I.; Jankosvká, I.; Vadlejch, J.; Pekár, S.; Nápravník, J.; Fetchner, J. (2007) Contamination of soil with *Toxocara* eggs in urban (Prague) and rural areas in the Czech Republic. *Vet. Parasitol.* 144: 81–86.
98. Dunsmore, J.D.; Thompson, R.C.; Bates, I.A. (1984) Prevalence and survival of *Toxocara canis* eggs in urban environment of Perth, Australia. *Vet. Parasitol.* 16(3-4):303–311.
99. Dunsmore, J.D.; Thompson, R.C.A.; Bates, I.A. (1983) The accumulation of *Toxocara canis* larvae in the brains of mice. *Int. J. Parasitol.* 13: 517–521.
100. El-Tras, W.F.; Holt, H.R.; Tayel, A.A. (2011) Risk of *Toxocara canis* eggs in stray and domestic dog hair in Egypt. *Vet. Parasitol.* 178(3-4): 319–323.
101. Epe, C.; Sabel, T.; Schneider, T.; Stoye, M. (1994) The behaviour and pathogenicity of *Toxocara canis* larvae in mice of different strains. *Parasitol. Res.* 80: 691–695.
102. Esch, G.W.; Fernández, J.C. (1993) A functional biology of parasitism. Ecological and evolutionary implications. Primera edición. Chapman and Hall. Great Britain. pp. 29–30.
103. Fan, C.K.; Lan, H.S.; Hung, C.C.; Chung, W.C.; Liao, C.W.; Du, W.Y.; Su, K.E. (2004) Seroepidemiology of *Toxocara canis* infection among mountain aboriginal adults in Taiwan. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 71: 216–221.
104. Fan, C.K.; Liao, C.W.; Kao, T.C.; Li, M.H.; Du, W.Y.; Su, K.E. (2005) Seroepidemiology of *Toxocara canis* infection among aboriginal schoolchildren in the mountainous areas of north-eastern Taiwan. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 99: 593–600.
105. Fan, C.K.; Lin, Y.H.; Du, W.Y.; Su, K.E. (2003) Infectivity and pathogenicity of 14-month-cultured embryonated eggs of *Toxocara canis* in mice. *Vet. Parasitol.* 113: 145–155.
106. Felberg, N.T.; Shields, J.A.; Federman, J.L. (1981). Antibody to *Toxocara canis* in aqueous humor. *Arch. Ophthalmol.* 99: 1563–1564.
107. Fenner, F. (1982) Transmission cycles and broad patterns of observed epidemiological behavior in human and other animal population. In: R.M. Anderson and R.M. May, Editors, *Population Biology Of Infectious Diseases*, Springer-Verlag, New York pp. 103–120.
108. Fenoy, S.; Cuellar, C.; Aguila, C.; Guillén, J.L. (1992) Persistence of immune response in human toxocaríasis as measured by ELISA. *Int. J. Parasitol.* 22: 1037–38.
109. Fenoy, S.; Ollero, M.D.; Guillen, J.F.; del Aguila, C. (2001) Animal models in ocular toxocaríasis. *J. Helminthol.* 75: 119–124.
110. Fernando, S.D.; Wickramasinghe, P.; Kapilana, G.; Dewasurendra, R.L.; Amarasooriya, M.; Dayaratne, A. (2009) *Toxocara* seropositivity in Sri Lankan children with asthma. *Pediat. Int.* 51: 241–245.
111. Ferré, P.; Dorchies, P. (2000) Prevalence of *Toxocara spp.* eggs in sandpits of eight public parks in Toulouse (SW France). *Rev. Med. Vet.* 151: 501–506.

112. Ferreira, M.U.; Rubinsky-Elefant, G.; Castro, T.G.; Hoffmann, E.H.E.; da Silva-Nunes, M.; Cardoso, M.A.; Muniz, P.T. (2007). Bottle feeding and exposure to *Toxocara* as risk factors for wheezing illness among under-five Amazonian children: a population-based cross-sectional survey. *J. Trop. Pediat.* 53: 119–124.
113. Finsterer, J.; Auer, H. (2007) Neurotoxocarosis. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* 49: 279–287.
114. Fisher, M. (2003) *Toxocara cati*: an underestimated zoonotic agent. *Trends in Parasitol.* 19: 167–170.
115. Fitzsimmons, C.M.; Dunne, D.W. (2009). Survival of the fittest: allergology or parasitology? *Trends Parasitol.* 25: 447–451.
116. Fok, E. (2002) Pathogenesis, pathomechanism, chemotherapy and prevention of larval Toxocarosis. Thesis for Ph. D degree. Department of parasitology and Zoology. Fac. Vet. Med. Budapest.
117. Fonrouge, R.; del Valle Guardis, M.; Radman, N.E.; Archelli, S.M. (2000) Contaminación de suelos con huevos de *Toxocara sp.* en plazas y parques públicos de la ciudad de La Plata. Buenos Aires, Argentina. *Bol. Chil. Parasitol.* 55: 83-85.
118. Foreyt, W.J. (2005) Parasitas de cães. In: *Parasitologia Veterinária.* São Paulo Roca. 13-47.
119. Galvin, T.J. (1964) Experimental *Toxocara canis* infections in chickens and pigeons. *J. Parasitol.* 50: 124–127.
120. Gamble, H.R.; Bessonov, A.S.; Cuperlovic, K.; Gajadhar, A.A.; van Knapen, F.; Noeckler, F.; Schenone, H.; Zhu, X. (2000) International Commission on Trichinellosis: Recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic ; wild animals intended for human consumption. *Vet. Parasitol.* 93(3- 4): 393-408.
121. Gavignet, B.; Piarroux, R.; Aubin, F.; Millon, L.; Humbert, P. (2008). Cutaneous manifestations of human toxocariasis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 59: 1031–1042.
122. Georgiou, C.; Efstathiades, Y.; Dimitriou, N.; Theophanous, M.; Voros, D. (2007). An unusual case of *Toxocara canis* of the ascending colon. *European J. Gastroenterol. Hepatol.* 19: 1149–1153.
123. Ghafoor, S.Y.; Smith, H.V.; Lee, W.R.; Quinn, R.; Girdwood, R.W. (1984) Experimental ocular toxocariasis: a mouse model. *British J. Ophthalmol.* 68: 89–96.
124. Gillespie, S.H. (1988) The epidemiology of *Toxocara canis*. *Parasitol. Today.* 4:180-182.
125. Gillespie, S.H.; Bidwell, D.; Voller, A.; Robertson, B.D.; Maizels, R.M. (1993) Diagnosis of human toxocariasis by antigen capture enzyme linked immunosorbent assay. *J. Clin. Pathol.* 46: 551–554.
126. Girwood, R.W.A. (1986) Human Toxocariasis. *J. S. A. Prac.* 27: 649- 654.
127. Glickman, L.; Schantz, P. (1981) Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. *Epidemiol. Rev.* 3: 230-250.
128. Glickman, L.T. (1993) The epidemiology of human toxocariasis. In: Lewis, J.W.; Maizels, R.M (eds) *Toxocara and Toxocariasis.* Institute of Biology and British Society for Parasitology, London, pp. 3–10.
129. Glickman, L.T.; and Magnaval, J.F. (1993) Zoonotic roundworm infections. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* 7, 717–732.
130. Glickman, L.T.; Chaudry, I.U.; Constantino, J.; Clack, F.B.; Cypess, R.H.; Winslow, L. (1981) Pica patterns, toxocariasis and elevated blood lead in children. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 28: 77-80.
131. Glickman, L.T.; Cypess, R.; Crumrine, P.K.; Gitlin, D.A. (1979) *Toxocara* infection and epilepsy in children. *J. Paediatrics.* 94: 75–78.
132. Glickman, L.T.; Magnaval J.-F.; Domanski, L.M.; Shofer, F.S.; Lauria S.S.; Gottstein, B.; Brochier, B. (1987) Visceral larva migrans in French adults. A new disease syndrome? *Am. J. Epidemiol.* 125: 1019–1033.
133. Glickman, L.T.; Schantz, P.M. (1981) Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. *Epidemiol. Rev.* 3: 230–250.
134. Glickman, L.T.; Schantz, P.M. (1985) Do *Toxocara canis* larval antigens used in enzyme-linked immunosorbent assay for visceral larval migrans cross-react with AB iso-haemagglutinins and give false positive results? *Zeitschrift fur Parasitenkunde.* 71: 395–400.

135. Glickman, L.T.; Schantz, P.M.; Grieve, R.B. (1986) Toxocariasis. In Immunodiagnosis of Parasitic Diseases. Volume 1: Helminthic Diseases, eds Walls, K. W.; Schantz, P. M. pp. 201–231. London: Academic Press.
136. Glickman, L.T.; Summers, B.A. (1983) Experimental *Toxocara canis* infection in cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). *Am. J. Vet. Res.* 44: 2347–2354.
137. Golab, E.; Dzbenski, T.H. (1993) Utilization of ELISA IgE method in diagnosis of toxocariasis in humans. *Med. Doswiad. Mikrobiol.* 45, 511–515.
138. González-Quintella, A.; Gude, F.; Campos, J.; Garea, M.T.; Romero, P.A.; Rey, J.; Meijide, L.M.; Fernández-Merino, M.C.; Vidal, C. (2006) *Toxocara* infection seroprevalence and its relationship with atopic features in a general adult population. *Int. Arch. Allergy. Immunol.* 139: 317–324.
139. Good, B.; Holl, C.V.; Taylor, M.R.H.; Larragy, J.; Moriarty, P. ; O' Regan, M. (2004) Ocular toxocariasis in schoolchildren. *Clin. Infect. Dis.* 39: 173–178.
140. Greenberg, B. (1973) Flies and Disease. Vol. II. Biology and Disease Transmission. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
141. Greiner, M.; Sohr, D.; Göbel, P.; Lorenz, R.J. (1995) A modified ROC analysis for the selection of cut-off values and the definition of intermediate results of serodiagnostic tests. *J. Immunol. Methods.* 185: 123–132.
142. Greve, J.H (1971) Age resistance to *Toxocara canis* in ascarid-free dogs. *Am. J. Vet. Res.* 32: 1185–1192.
143. Guillen, J.; Bardon, R.; Dominguez, P.; Del Hoyo, C. (1990) Migración larvaria de *Toxocara canis* y respuesta eosinofílica en las cepas murinas BALB/c y C57BL/10. *Rev. Iber. Parasit.* 50: 289-299.
144. Gundlach, J.L.; Sadzikowski, A.B.; Tomczuk, K. (1996) Contamination by *Toxocara spp.* eggs of selected urban and rural environments. *Med. Wet.* 52: 395–396.
145. Habluetzel, A.; Traldi, G.; Ruggieri, S.; Attili, A.; Scuppa, P.; Machetti, R.; Menghini, G.; Esposito, F. (2003) An estimation of *Toxocara canis* prevalence in dogs, environmental egg contamination and risk of human infection in the Marche region of Italy. *Vet Parasitol.* 113: 243-52.
146. Hamilton, J.M.; Naylor, J.; Weatherley, A. (1982) Glomerular lesions associated with infestation with *Toxocara cati*. *Vet. Rec.* 111: 583- 4584.
147. Hasslinger, M.A.; Jonas, D.; Berger, W. (1973) Zur Stellung der Hauskatze in der Epidemiologie menschlicher Wurminfektionen unter besondere Beru cksichtigung von *Toxocara mystax*. *Tierarztl. Umsch.* 28, 26–33.
148. Havasiová-Reiterova, K.; Tomasovicová, O.; Dubinský, P. (1995) Effect of various doses of infective *Toxocara canis* and *Toxocara cati* eggs on the humoral response and distribution of larvae in mice. *Parasitol. Res.* 81, 13–17.
149. Hayden, D.W.; Kruiningen, H.J. (1975) Experimentally induced canine toxocariasis: laboratory examinations and pathologic changes, with emphasis on the gastrointestinal tract. *Am. J. Vet. Res.* 36: 1605-1614.
150. Headlee, W.H. (1936) The epidemiology of human ascariasis in the metropolitan area of New Orleans, Louisiana. *Am. J. Hyg.* 24: 479-521.
151. Helwigh, A.B.; Lind, P.; Nansen, P. (1999) Visceral larva migrans: migratory pattern of *Toxocara canis* in pigs. *Int. J. Parasitol.* 29: 559–565.
152. Hendrix, C.M. (1995) Helminthic infections of the feline small and large intestines: diagnosis and treatment. *Vet. Med.* 456- 472.
153. Herrmann, N.; Glickman, L.T.; Schantz, P.M.; Weston, M.G.; Domanski, L.M. (1985) Seroprevalence of zoonotic toxocariasis in the United States: 1971–1973. *Am. J. Epidemiol.* 122: 890–896.
154. Hill, I.R.; Denham, D.A.; Scholtz, C.L. (1985) *Toxocara canis* larvae in the brain of a British child. *Trans. Royal Soc. Trop. Med Hyg.* 79: 351–354.
155. Holland, C. V.; O'Connor, P.; Taylor, M.; Hughes, G.; Girdwood, R.; Smith, H. (1991). Families, parks, gardens, and toxocariasis. *Scandinavian J. Inf. Dis.* 23: 225–231.

156. Holland, C.V.; Cox, D.M. (2001) *Toxocara* in the mouse: a model for parasite-altered host behaviour? *J. Helminthol.* 75: 125–135.
157. Holland, C.V.; Hamilton, C. (2006) The significance of cerebral toxocariasis. In: Holl; CV, Smith HV (eds) *Toxocara* the enigmatic parasite. CAB International, Wallingford, pp 58–73.
158. Holland, C.V.; O’Lorcain, P.; Taylor, M.R.; Kelly, A. (1995) Seroepidemiology of toxocariasis in school children. *Parasitol.* 110: 535–545.
159. Hrckova, G.; Velebný, S.; Tomasovicová, O.; Medvedová, M.; Pajerský, A. (2001) Pathomorphological changes in mice infected with *Toxocara cati* following administration of febendazole and glucan. *Acta Parasitol.* 46(4): 313–320.
160. Jacob, C.M.; Pastorino, A.C.; Peres, B.A.; Mello, E.O.; Okay, Y.; Oselka, G.W. (1994) Clinical and laboratorial features of visceral toxocariasis in infancy. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paul.* 36: 19–26.
161. Jacquier, P.; Gottstein, B.; Sringelin, Y.; Eckert, J. (1991) Immunodiagnosis of toxocarosis in humans: evaluation of a new enzyme-linked immunosorbent assay kit. *J. Clin. Microbiol.* 29: 1831–1835.
162. Jansen, J.; van Knapen, F.; Schereus, M.; van Wijngaarden, T. (1993) *Toxocara* eieren in parken en zandbakken in de stad utrecht. *Tijdschr Diergeneeskd* 118: 4.
163. Jarosz, W.; Mizgajska-Wiktor, H.; Kirwan, P.; Konarski, J.; Rychlicki, W.; Wawrzyniak, G. (2010) Developmental age, physical fitness and *Toxocara* seroprevalence amongst lower-secondary students living in rural areas contaminated with *Toxocara* eggs. *Parasitol.* 137: 53–63.
164. Jones, R.E.; Finkelman, F.D.; Hester, R.B.; Kayes, S.G. (1994) *Toxocara canis*: failure to find IgE receptors (FceR) on eosinophils from infected mice suggests that murine eosinophils do not kill helminth larvae by an IgE-dependent mechanism. *Exp. Parasitol.* 78, 64–75.
165. Kaplan, M.; Kalkan, A.; Hosoglu, S.; Kuk, S.; Ozden, M.; Demirdag, K.; Ozdarendeli, A. (2004) The frequency of *Toxocara* infection in mental retarded children. *Mem. Inst. O. Cruz.* 99: 121–125.
166. Kayes, S.G. (1997) Human toxocariasis and the visceral larva migrans syndrome: correlative immunopathology. *Chem. Immunol.* 66: 99–124.
167. Kayes, S.G.; Oaks, J. A. (1980) *Toxocara canis*: role of the T lymphocyte in murine visceral larva migrans and its relationship to onset of eosinophilia. *Exp. Parasitol.* 79: 47–55.
168. Kayes, S.G.; Oaks, J.A. (1976) Effect of inoculum size and length of infection on the distribution of *Toxocara canis* larvae in the mouse. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 25: 573–580.
169. Kayes, S.G.; Oaks, J.A. (1978) Development of the granulomatous response in murine toxocariasis. I. Initial Events. *Am. J. Pathol.* 93: 277–294.
170. Kayes, S.G.; Omholt, P.E.; Grieve, R.B. (1985) Immune responses of CBA/J mice to graded infections with *Toxocara canis*. *Inf. Immunol.* 48, 697–703.
171. Kay-Hooi, K.; Maizels, R.M.; Page, A.P.; Taylor, G.W.; Rendell, N.B.; Dell, A. (1991) Characterization of nematode glycoproteins: the major O-glycans of *Toxocara* excretory-secretory antigens are O-methylated trisaccharides. *Glycobiol.* 1(2): 163–171.
172. Kennedy, M.W.; Maizels, R.M.; Meghji, M.; Young, L.; Qureshi, F.; Smith, H.V. (1987). Species-specific and common epitopes on the secreted and surface antigens of *Toxocara canis* and *Toxocara cati* infective larvae. *Parasite Immunol.* 9: 407–420.
173. Koizumi, T.; Hayakawa, J. (1984) Mouse strain differences in visceral larva migrans of *Toxocara canis*. *Jikken Dobutsu (Experimental Animals)* 66: 99–124.
174. Kunishige, A. (1964) Histologic and histochemical studies on experimental ‘visceral larva migrans’ in rabbits and mice. *Skikoku Acta Med.* 21: 546–567.
175. Labarthe, N.; Serrão, M.L.; Ferreira, A.M.R.; Almeida, N.K.O.; Guerrero, J. (2004) A survey of gastrointestinal helminths in cats of the metropolitan region of Rio de Janeiro, Brazil. *Vet. Parasitol.* 123, 133–139.
176. Lescano, S.Z.; Chieffi, P.P.; Peres, B.A.; Mello, E.O.; Velarde, C.N.; Salinas, A.A.; Rojas, C.E. (1998) Soil contamination and human infection by *Toxocara sp.* in the urban area of Lima, Peru. *Mem. Inst. O. Cruz.* 93: 733–734.

177. Lescano, S.Z.; Queiroz, M.L.; Chieffi, P.P. (2004) Larval recovery of *Toxocara canis* in organs ; tissues of experimentally infected *Rattus norvegicus*. Mem. Inst. O. Cruz. 99: 627-628.
178. Lim, J.H. (2008) Toxocariasis of the liver: visceral larva migrans. Abdominal Imag. 33: 151-156.
179. Lloyd, S. (1993) *Toxocara canis*: the dog. In: J.W. Lewis ; R.M. Maizels, Editors, *Toxocara* and Toxocariasis, British Society for Parasitology, Institute of Biology, London, pp. 11-24.
180. Logar, J.; Soba, B.; Kraut, A.; Stirn-Kranjc, B. (2004) Seroprevalence of *Toxocara* antibodies among patients suspected of ocular toxocariasis in Slovenia. Korean J. Parasitol. 42(3):137-40
181. Ludlam, K.E.; Platt, T.R. (1989) The relationship of park maintenance and accessibility to dogs to the presence of *Toxocara spp.* ova in the soil. Am. J. Public Health. 79: 633-634.
182. Lukacs, N.W.; Tekkanat, K.K. (2000) Role of chemokines in asthmatic airway inflammation. Immunol. Rev. 177: 21-30.
183. Luzna-Lyskov, A. (2000) Toxocarosis in children living in a highly contaminated area. An epidemiological and clinical study. Acta Parasitol. 45: 40-42.
184. Lynch, N.R.; Eddy, K.; Hodgen, A.N.; Lopez, R.I.; Turner, K.J. (1988) Seroprevalence of *Toxocara canis* infection in tropical Venezuela. Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg. 82: 275-281.
185. Magnaval, J.F.; Fabre, R.; Maurieres, P.; Charlet, J.P. ; de Larrard, B. (1991) Application of the western blotting procedure for the immunodiagnosis of human toxocariasis. Parasitol. Res. 77: 697- 702.
186. Magnaval, J.F.; Fabre, R.; Maurieres, P.; Charlet, J.P. ; de Larrard, B. (1992) Evaluation of an immunoenzymatic assay detecting specific anti-*Toxocara* immunoglobulin E for diagnosis and posttreatment follow-up of human toxocariasis. J. Clin. Microbiol. 30: 2269-2274.
187. Magnaval, J.F.; Galindo, V.; Glickman, L.T.; Clanet, M. (1997) Human *Toxocara* infection of the central nervous system; neurological disorders: a case-control study. Parasitol. 115: 537-543.
188. Magnaval, J.F.; Glickman, L.T.; Dorchies, P. (1994) Toxocarosis, a major helminthic zoonosis. Rev. Med. Vet. 145: 611-627.
189. Magnaval, J.F.; Glickman, L.T.; Dorchies, P.; Morassin, B. (2001) Highlights of human toxocariasis. Korean J. Parasitol. 39: 1-11.
190. Magnaval, J.F.; Malard, L.; Morassin, B.; Fabre, R. (2002) Immunodiagnosis of ocular toxocariasis using Western-blot for the detection of specific anti-*Toxocara* IgG and CAP for the measurement of specific anti-*Toxocara* IgE. J. Helminthol. 76: 335-339.
191. Maizels, R.M.; de Savigny, D.; Ogilvie, B.M. (1984) Characterization of surface and excretory-secretory antigens of *Toxocara canis* infective larvae. Parasite Immunol. 6: 23-37.
192. Marmor, M.; Glickman, L.; Shofer, F.; Faich, L.A.; Rosenberg, C.; Cornblatt, B. and Friedman, S. (1987) *Toxocara canis* infection of children: epidemiologic and neuropsychologic findings. Am. J. Public Health. 77: 554-559.
193. Martínez Barbosa, I.; Gutiérrez Quiroz, M.; Fernández Presas, A.M.; Vázquez Tsuji, Ó.; Pérez León, M.J.; García Yáñez, Y. (1997) Reactividad serológica a un antígeno de *Toxocara canis* en una población escolar. Rev. Mex. Patol. Clin. 44(2): 85-89.
194. Marucci, G.; Interisano, M.; La Rosa, G.; Pozio, E. (2011) Molecular identification of nematode larvae different from those of the *Trichinella* genus detected by muscle digestion. In: Abstracts of the Proceedings of the 13th International Conference on Trichinellosis, Changchun, China, 1-6 August, p. 77.
195. Matsumura, K.; Kazuta, Y.; Endo, R.; Tanaka, K. (1983) Detection of specific IgM antibodies to *Toxocaral* ES antigen: effect of absorption of sera with protein A sepharose. Zentralbl. Bakteriolog. Mikrobiol. Hyg. 255(4):549-53.
196. Matsumura, K.; Kazuta, Y.; Endo, R.; Tanaka, K. (1998) Detection of specific IgM antibodies to *Toxocaral* ES antigen: effect of absorption of sera with protein A sepharose. Zentralbl. Bakteriolog. Mikrobiol. Hyg. 225: 549-553.
197. Metz, C.E. (1978) Basic principles of ROC analysis. Sem. Nuclear Med. 8:283-298.
198. Minshall, E.M.; Leung, D.Y.; Martin, R.J.; Song, Y.L.; Cameron, L.; Ernst, P.; Hamid, Q. (1997) Eosinophil-associated TGF- β 1 mRNA expression and airways fibrosis in bronchial asthma. Am. J. Resp. Cell Mol. Biol. 17: 326-333.

199. Minvielle, M.C.; Niedfeld, G.; Ciarmela, M.L.; Basualdo, J.A.; (1999a). Toxocariosis causada por *Toxocara canis*: aspectos clínico epidemiológicos. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 17: 300-306.
200. Minvielle, M.C.; Niedfeld, G.; Ciarmela, M.L.; De Falco, A.; Ghiani, H.; Basualdo, J.A. (1999b) Asma y toxocariasis encubierta. *Medicina.* 59: 243-8.
201. Minvielle, M.C.; Pezzani, B.C.; Basualdo, J.A. (1993) Frequency of finding helminths eggs in canine stool samples collected in public places from La Plata city, Argentina. *Bol. Chil. Parasitol.* 48: 63-65.
202. Minvielle, M.C.; Pezzani, B.C.; Basualdo, J.A.; Niedfeld, G. (1997) Effect of fasting in experimental toxocarosis. *Neotrop.* 43: 21-25.
203. Mircean, V.; Titilincu, A.; Vasile, C. (2010) Prevalence of endoparasites in household cat (*Felis catus*) populations from Transylvania (Romania) and association with risk factors. *Vet. Parasitol.* 171:163-166.
204. Mizgajska H. (2001). Eggs of *Toxocara spp.* in the environment and their public health implications. *J. Helminthol.* 75: 147-51.
205. Mizgajska, H. (1995) *Toxocara spp.* Eggs in the soil of public and private places in the Poznan area of Poland. *Acta Parasitol.* 40: 211–213.
206. Mizgajska, H. (1997) The role of some environmental factors in the contamination of soil with *Toxocara spp.* and other geohelminth eggs. *Parasitol. Int.* 46: 67–72.
207. Mizgajska, H. (1998) The role of environmental factors in biology of genus of *Toxocara* nematodes. *Monografia AWF Poznan.* 334: 1–94.
208. Mizgajska, H. and Rejmenciak, A. (1997) Differentiation of eggs of *Toxocara canis* and *Toxocara cati* parasites of dog and cat. *Wiadomości Parazytologiczne.* 43: 435–439.
209. Mohamad, S.; Azmi, N.C.; Noordin, R. (2009) Development and evaluation of a sensitive and specific assay for diagnosis of human toxocariasis by use of three recombinant antigens (TES-26, TES- 30USM, ; TES-120). *J. Clin. Microbiol.* 47: 1712–1717.
210. Monzon, R.B.; Sanchez, A.R.; Tadiaman, B.M.; Najos, O.A.;Valencia, E.G.; de Rueda, R.R. (1991) A comparison of the role of *Musca domestica* (Linnaeus) ; *Chrysomya megacephala* (Fabricius) as mechanical vectors of helminthic parasites in a typical slum area of metropolitan manila. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health.* 22: 222-228.
211. Moore, M.T. (1962) Human *Toxocara canis* encephalitis with lead encephalopathy. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 21: 201–218.
212. Moreira-Silva, S.F.; Rodrigues, M.G.; Pimenta, J.L.; Gomes, C.P.; Freire, L.; Pereira, E.L. (2004) Toxocariasis of the central nervous system: with report of two cases. *Rev. Soc. Brasileira Med. Trop.* 37: 169–174.
213. Moretti, A.; Piergili Fioretti, A. (1988) Environmental and seroepidemiological study of the distribution of *Toxocara spp.* In the city of Perugia, Italy. *Rev. Iberica Parasitol.* 48: 365-371.
214. Morimatsu, Y.; Akao, N.; Akiyoshi, H.; Kawazu, T.; Okabe, Y.; Aizawa, H. (2006). A familial case of visceral larva migrans after ingestion of raw chicken livers: appearance of specific antibody in bronchoalveolar lavage fluid of the patients. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 75: 303–306.
215. Mossalam, I.; Hosney, Z.; Atallah, O.A. (1971). Larva migrans of *Toxocara cati* in visceral organs of experimental animals. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.* 21(4): 405-412.
216. Musso, C.; Castelo, J.S.; Tsanaclis, A.M.; Pereira, F.E. (2007) Prevalence of *Toxocara*-induced liver granulomas, detected by immunohistochemistry, in a series of autopsies at a Children's Reference Hospital in Vitoria, ES, Brazil. *Virchows Arch.* 450: 411–447.
217. Nadler, S.A.; Hudspeth, D.S.S. (2000) Phylogeny of the Ascaridoidea (Nematoda Ascaridida) based on three genes and morphology: hypotheses of structural and sequence evolution. *J. Parasitol.* 86(2): 380–393.
218. Nagakura, K.; Tachibana, H.; Kaneda, Y.; Kato, Y. (1989) Toxocariasis possibly caused by ingesting raw chicken. *J. Inf. Dis.* 160: 735–736.

219. Nakamura, S.; Sotoyama, T.; Hayasaka, S.; Kameyama, Y.; Maruyama, S.; Katsube, Y. (1991) Parasitism of *Toxocara canis* larvae in Japanese quails by inoculation of the ascarid eggs. *J. Vet. Med. Sci.* 53: 865–872.
220. Nelson, G.S. (1988) Parasitic zoonoses. In: *The biology of parasitism* Alan R. Liss Inc. p:13-41
221. Nelson, S.; Greene, T.; Ernhart, C.B. (1996) *Toxocara canis* infection in preschool age children: risk factors and the cognitive development of preschool children. *Neurotoxicol. Teratol.* 18: 167–174.
222. Nichols, R.L. (1956) The etiology of visceral larva migrans. *J. Parasitol.* 42: 349–399.
223. Nicoletti, A.; Bartoloni, A.; Reggio, A.; Bartalesi, F.; Roselli, M.; Sofia, V.; Rosado Chavez, J.; Gamboa Barahona, H.; Paradisi, F.; Cancrini, G.; Tsang, V.C.; Hall, A.J. (2002) Epilepsy, cysticercosis, and toxocariasis: a population-based case-control study in rural Bolivia. *Neurol.* 58: 1256–1261.
224. Nicoletti, A.; Bartoloni, A.; Sofia, V.; Mantella, A.; Nsengiyumva, G.; Frescaline, G.; Preux, P.M. (2007) Epilepsy and toxocariasis: a case-control study in Burundi. *Epilepsia*, 48: 894–899.
225. Nicoletti, A.; Sofia, V.; Mantella, A.; Vitale, G.; Contrafatto, D.; Sorbello, V.; Biondi, R.; Preux, P.M.; Garcia, H.H.; Zappia, M.; Bartoloni, A. (2008) Epilepsy and toxocariasis: a case-control study in Italy. *Epilepsia*. 49: 594–599.
226. Niec, R. (1980) Toxocariasis animal y humana: reseña del ciclo evolutivo y de la enfermedad. *Rev. Med. Vet.* 61(6): 494-498.
227. Noordin, R.; Smith, H.V.; Mohamad, S.; Maizels, R.M.; Fong, M.Y. (2005) Comparison of IgG-ELISA and IgG4-ELISA for *Toxocara* serodiagnosis. *Acta Trop.* 93(1):57-62.
228. Nunes, C.; Tundisi, R.; Heinemann, M.; Richtzenhan, L. (1999) Toxocariasis: serological diagnosis by indirect antibody competition ELISA. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* 41(2): 95–100.
229. Nunes, C.M.; Pena, F.C.; Negrelli, G.B.; Anjo, C.G.S.; Nakano, M.M.; Stobbe, N.S. (2000) Ocorrência de larva migrans na areia de áreas de lazer das escolas municipais de ensino infantil, Araçatuba, SP, Brasil. *Rev. Saúde Pùb.* 34, 656–658.
230. Nunes, C.M.; Tundisi, R.N.; Garcia, J.F.; Heinemann, M.B.; Ogassawara, S. Richtzenhain, L.J. (1997) Cross-reactions between *Toxocara canis* and *Ascaris suum* in the diagnosis of visceral larval migrans by western blotting technique. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* 39: 253–256.
231. O’Lorcain, P. (1994). Epidemiology of *Toxocara spp.* In stray dogs and cats in Dublin, Ireland. *J. Helminthol.* 68: 331–336.
232. Okoshi, S.; Usui, M. (1968) Experimental studies on *Toxascaris leonina*: VI. Experimental infection of mice, chickens and earthworms with *Toxascaris leonina*, *Toxocara canis* and *Toxocara cati*. *Japanese J. Vet. Sci.* 30: 151–166.
233. Olson, L.J.; Rose, J.E. (1966) Effect of *Toxocara canis* infection on the ability of white rats to solve maze problems. *Exp. Parasitol.* 19: 77–84.
234. Oryan, A.; Sadjjadi, S.M.; Azizi, S. (2010) Longevity of *Toxocara cati* larvae and pathology in tissues of experimentally infected chickens. *Korean J. Parasitol.* 48: 79-80.
235. Oshima, T. (1961) Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations on the normal migration routes of the larvae. *J. Parasitol.* 652-656.
236. Oteifa, N.M.; Moustafa, M.A. (1997) The potential risk of contracting toxocariasis in Heliopolis district, Cairo, Egypt. *J. Egyptian Soc. Parasitol.* 27: 197–203.
237. Othman, A.A.; Abdel-Aleem, G.A.; Saied, E.M.; Mayah, W.W.; Elatrash, A.M. (2010) Biochemical and immunopathological changes in experimental neurotoxocariasis. *Mol. Biochem. Parasitol.* 172(1):1-8.
238. Overgaauw, P.A.M. (1997a) Aspects of *Toxocara* epidemiology: Toxocarosis in dogs and cats. *Cri. Rev. Microbiol.* 23, 233–251.
239. Overgaauw, P.A.M. (1997b) Aspects of *Toxocara* epidemiology: human toxocarosis. *Critical Rev. Microbiol.* 23: 215–331.
240. Overgaauw, P.A.M.; van Zutphen, L.; Hoek, D.; Yaya, F.O.; Roelfsema, J.; Pinelli, E.; van Knapen, F.; Kortbeek, L.M. (2009) Zoonotic parasites in fecal samples and fur from dogs and cats in The Netherlands. *Vet. Parasitol.* 163: 115–122.

241. Owhashi, M.; Arita, H.; Hayai, N. (2000) Identification of a novel eosinophil chemotactic cytokine (ECF/L) as a chitinase family protein. *J. Biol. Chem.* 275: 1279–1286.
242. Paludo, M.L.; Falavigna, D.L.; Elefant, G.R.; Gomes, M.L.; Baggio, M.L.; Amadei, L.B.; Falavigna-Guilherme, A.L. (2007) Frequency of *Toxocara* infection in children attended by the health public service of Maringa, south Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* 49: 343– 348.
243. Paquet-Durand, I.; Hernández, J.; Dolz, G.; Zuñiga, J.J.R.; Schneider, T.; Epe, C. (2007) Prevalence of *Toxocara spp.*; *Toxacaris leonine* and *ancylostomidae* in public parks and beaches in different climate zones of Costa Rica. *Acta Trop.* 104: 30–37.
244. Parsons, J.C. (1987) Ascarid infections of Cats and Dogs. *Vet. Clin. North America: Sm. Animal Practice.* 17 (6): 1307-1339.
245. Parsons, J.C.; Bowman, D.D.; Grieve, R.B. (1989) Pathological and haematological responses of cats experimentally infected with *Toxocara canis* larvae. *Int. J. Parasitol.* 19, 479–488.
246. Parsons, J.C.; Coffman, R.L.; Grieve, R.B. (1993) Antibody to interleukin 5 prevents blood and tissue eosinophilia but not liver trapping in murine larval toxocariasis. *Parasite Immunol.* 15: 501–508.
247. Paul, M.; Stefaniak, J.; Twardosz-Pawlik, H.; Pecold, K. (2009) The co-occurrence of *Toxocara* ocular and visceral larva migrans syndrome: a case series. *Cases J.* 2: 6881.
248. Pawlowski, Z. (2001) Toxocariasis in humans: clinical expression and treatment dilemma. *J. Helminthol.* 75: 299–305.
249. Pegg, E.L. (1971) Infection of dogs with *Toxocara canis* carried by flies. *Parasitol.* 62: 409–414.
250. Petithory, J.C.; Chaumeil, C.; Liotet, S.; Rosseau, M.; Bisognani, C. (1993) Immunological studies on ocular larva migrans. In: Lewis, J.W. and Maizels, R.M. (eds) *Toxocara* and Toxocariasis: Clinical, Epidemiological and Molecular Perspectives. *Inst. Biol. London.* 81–89.
251. Piergili Fioretti, D.; Moretti, A.; Mughetti, L.; Bruschi, F. (1989) Eosinophilia, granuloma formation, migratory behaviour of second stage larvae in murine *Toxocara canis* infection. Effect of the inoculum size. *Parasitol.* 31, 153–166.
252. Pinelli, E.; Brandes, S. Dormans, J. Fonville, M. Hamilton, C.M.; Van der Giessen, J. (2007) *Toxocara canis*: Effect of inoculum size on pulmonary pathology and cytokine expresión in BALB/c mice. *Exp. Par.* 115: 76–82.
253. Pinelli, E.; Brandes, S.; Dormans, J.; Gremmer, E.; van Loveren, H. (2008). Infection with the roundworm *Toxocara canis* leads to exacerbation of experimental allergic airway inflammation. *Clin. Exp. Allergy.* 38: 649–658.
254. Pinelli, E.; Dormans, J.; Fonville, M.; van der Giessen, G.J. (2001) A comparative study of toxocariasis and allergic asthma in murine models. *J. Helminthol.* 75: 137–140.
255. Prokopic, J.; Figallová, V. (1982) Migration of some roundworm species in experimentally infected white mice. *Folia Parasitol. (PRAHA)* 29: 309- 313.
256. Prunier, F.; Delpine, S.; Victor, J. (2001). Leoffler’s fibroblastic endocarditis. A report of a case complicating toxocariasis. *Arch. Mal. Coeur Vaiss.* 94: 226–230.
257. Quet, F.; Preux, P.M.; Nicoletti, A. (2008) Comment on Epilepsy and seropositivity rates of *Toxocara canis* and *Toxoplasma gondii*. *Seizure.* 17: 296.
258. Radman, N.E.; Archelli, S.M.; Fonrouge, R.D.; Guardis, M.V.; Linzitto, O.R. (2000) Human toxocarosis. Its seroprevalence in the city of La Plata. *Mem. Inst. O. Cruz.* 9: 281–285.
259. Rahmah, N.; Smith, H.V.; Mohamad, S.; Maizels, R.M.; Fong, M.Y. (2005) Comparison of IgG-ELISA and IgG4-ELISA for *Toxocara* serodiagnosis. *Acta Trop.* 93: 57–62.
260. Raistrick, E.R.; Dean-Hart, J.C. (1975) Adult *Toxocaral* infection with focal retinal lesion. *British Med. J.* 3: 416.
261. Rayes, A.A.; Lambertucci, J.R. (2001). Human toxocariasis as a possible cause of eosinophilic arthritis. *Rheumatol.* 49: 109–110.
262. Ree, G.H.; Voller, A.; Rowland, H.A.K. (1984) Toxocariasis in the British Isles, 1982–83. *British Med. J.* 288: 628–629.
263. Regosz, J. (2007) The importance of domestic carnivore’s fur contamination in the spreading of helminth’s eggs. Thesis, Veterinary Faculty, Dept. of Parasitology and Zoology, Budapest, Hungary.

264. Resnick, M.B.; Weller, P.F. (1993) Mechanisms of eosinophil recruitment. *Am. J. Resp. Cell Mol. Biol.* 8: 349–355.
265. Rim, H.J. (1963) Distribution of the larvae of *Toxocara canis* and *Ascaris lumbricoides* in the tissues of mice. *Korean J. Parasitol.* 1(1):37-45.
266. Rockey, J.H.; Donnelly, J.J.; Stromberg, B.E.; Soulsby, E.J. (1979) Immunopathology of *Toxocara canis* and *Ascaris suum* infections of the eye: the role of the eosinophil. *Inv. Ophthal. Visual Sci.* 18: 1172- 1184.
267. Roddie, G.; Stafford, P.; Holl, C.; Wolfe, A. (2008). Contamination of dog hair with eggs of *Toxocara canis*. *Vet. Parasitol.* 152: 85–93.
268. Roldán, W.; Espinoza, Y.A. (2009) Evaluation of an enzyme-linked immunoelectrotransfer blot test for the confirmatory serodiagnosis of human toxocariasis. *Mem. Inst. O. Cruz.* 104(3): 411-418.
269. Roneus, O. (1963) Parasitic liver lesions in swine, experimentally produced by visceral larva migrans of *Toxocara cati*. *Acta Vet. Scand.* 4: 170–196.
270. Rosenblatt, J.S.; Porter, J.; Marcus, S. (1991). Eosinophilia, lead poisoning and *Toxocaris canis* infection in children. *Vet. Hum. Toxicol.* 33: 495–497.
271. Rubinsky Elefant, G.R.; Shimizu, S.H.; Sanchez, M.C.A.; Jacob, C.M.A. ; Ferreira, A.W. (2006) A serological follow-up of toxocariasis patients after chemotherapy based on the detection of IgG, IgA and IgE antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Lab. Analysis.* 20: 164–172.
272. Rubinsky Elenfant, G.; Hirata, C.E.; Yamamoto, J.H.; Ferreira, M.U. (2010) Human Toxocariasis: diagnosis, worldwide seroprevalences and clinical expression of the systemic and ocular forms. *An. Trop. Med. Parasitol.* 104(1): 3–23.
273. Rubinsky-Elefant, G.; da Silva-Nunes, M.; Malafronte, R.S.; Muniz, P.T.; Ferreira, M.U. (2008) Human toxocariasis in rural Brazilian Amazonia: seroprevalence, risk factors, and spatial distribution. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 7(1): 93–98.
274. Sabrosa, N.A.; de Souza, E.C. (2001) Nematode infections of the eye: toxocariasis and diffuse unilateral subacute neuroretinitis. *Current Opinion Ophthalmol.* 12: 450–454.
275. Sadjjadi, S.M.; Khosravi, M.; Mehrabani, D.; Orya, A. (2000) Seroprevalence of *Toxocara* infection in school children in Shiraz, southern Iran. *J. Trop. Pediat.* 46: 327–330.
276. Sadjjadi, S.M.; Oryan, A.; Reza Jalai, A.; Mehrabani, D. (2001) Prevalence and intensity of infestation with *Toxocara cati* in stray cats in Shiraz, Iran. *Veterinarski. Arhiv.* 71: 149–157.
277. Sakai, R.; Kawashima, H.; Shibui, H.; Kamata, K.; Kambara, C.; Matsuoka, H. (1998) *Toxocara cati* induced ocular toxocariasis. *Arch. Ophthalmol.* 116: 1686- 1687.
278. Salem, G.; Schantz, P. (1992) *Toxocaral* visceral larva migrans after ingestion of raw lamb liver. *Clin. Inf. Dis.* 15: 743–744.
279. Santillán, G. (2000) Caracterización de proteínas específicas para el diagnóstico de *Toxocara canis*. Tesis de maestría. ANLIS- “Carlos G. Malbrán”. Universidad Nacional de San Martín. Buenos Aires. Argentina. pp. 1-57.
280. Santos, S.V.; Lescano, S.Z.; Castro, J.M.; Chieffi, P.P. (2009) Larval recovery of *Toxocara cati* in experimentally infected *Rattus norvegicus* and analysis of the rat as potential reservoir for this ascarid. *Mem. Inst. O. Cruz.* 104(6): 933-934 .
281. Sarles, M.P.; Stoll, N.R. (1935) On the resistance of the cat to superimposed infection with the ascarid, *Toxocara cati*. *J. Parasitol.* 21: 277- 291.
282. Schantz, P. M. (1989) *Toxocara* larva migrans now. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 41: 21–34.
283. Schantz, P.M.; Glickman, L. (1981) Roundworms in dogs and cats veterinary and public health consideration. *Compend. Contin. Educ.* 3: 773–784.
284. Schantz, P.M.; Meyer, D.; Glickman, L.T. (1979) Clinical, serologic, and epidemiologic characteristics of ocular toxocariasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 28: 24–48.
285. Schantz, P.M.; Stehr-Green, J.K. (1988) *Toxocaral* larva migrans. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 192: 28–32.
286. Schantz, P.M.; Weis, P.E.; Pollard, Z.F.; White, M.C. (1980) Risk factors for *Toxocaral* ocular larva migrans: a case-control study. *Am. J. Public Health.* 70: 1269-1272.

287. Schön, J.; Stoye, M. (1986) Primary and galactogenic infection with *Toxocara mystax* Zeder, 1800 (Anisakidae) in the mouse. *J. Vet. Med. Ser. B.* 33: 397-412.
288. Scothorn, M.V.V.; Koutz, F.R.; Groves, H.F. (1965) Prenatal *Toxocara canis* infection in pups. *J. Am Vet Med Assoc.* 146:45-48.
289. Sharghi, N.; Schantz, P.M.; Caracmc, L.; Ballas, K.; Teague, B.A. ; Hotez, P.J. (2001) Environmental exposure to *Toxocara* as a possible risk factor for asthma: a clinic-based case-control study. *Clin. Inf. Dis.* 32: 111-116.
290. Sharkey, J.A.; McKay, P.S. (1993) Ocular toxocariasis in a patient with repeatedly negative ELISA titre to *Toxocara canis*. *British J. Ophthalmol.* 77: 253-254.
291. Shetty, A.K.; Aviles, D.H. (1999) Nephrotic syndrome associated with *Toxocara canis* infection. *Ann. Trop. Paediatr.* 19(3):297-300
292. Shimizu, T. (1993) Prevalence of *Toxocara* eggs in sandpits in Tokushima city and its outskirts. *J. Vet. Med. Sci.* 55: 807-811.
293. Skerrett, H.; Holland, C. (1997) Variation in the larval recovery of *Toxocara canis* from the murine brain: implications for behavioural studies. *J. Helminthol.* 71: 253-255.
294. Smith, H.; Holl, C.; Taylor, M.; Magnaval, J.F.; Schantz, P.; Maizels, R. (2009). How common is human toxocariasis? Towards standardizing our knowledge. *Trends in Parasitol.* 25: 182-188.
295. Smith, H.V. (1993) Antibody reactivity in toxocariasis. In: Lewis, J.W.; Maizels, R.M. (eds) *Toxocara and Toxocariasis: Clinical, Epidemiological and Molecular Perspectives*. Institute of Biology, London, pp. 91-109.
296. Smith, H.V.; Girdwood, R.W.A.; Quinn, R.; Bruce, R.G. (1982) The development of the early serological responses in rabbits infected with *Toxocara canis* and *Toxascaris leonina*. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 76: 89-94.
297. Smith, H.V.; Kennedy, M.W. (1993). Significance and quantification of antigen-specific IgE in helminthic infections of humans. *J. Clin. Immunoassay.* 16: 131-143.
298. Snow, K.R.; All, S.J.; Bewick, J.A. (1987) Prevalence of *Toxocara* species eggs in the soil of five east London parks. *Vet. Rec.* 120: 66-67.
299. Sommerfelt, I. E.; Rosa, A.; Duchene, A.; Degregorio, O.; Lopez, C.; Pisanu, A.; De Torres, R. (2004) *Toxocara canis* in experimentally infected pigs: migratory pattern and tissue lesions. *Vet. Parasitol.* 125: 323-334.
300. Sommerfelt, I.; Degregorio O.; Barrera, M.; Gallo, G. (1992) Presencia de huevos de *Toxocara spp.* en paseos públicos de la Ciudad de Buenos Aires, Argentina. 1989-1990. *Rev. Med. Vet.* 73: 70-3.
301. Sommerfelt, I.E.; Cardillo, N.; Lopez, C.; Ribicich, M.; Gallo, C.; Franco, A. (2006) Prevalence of *Toxocara cati* and other parasites in cats' faeces collected from the open spaces of public institutions: Buenos Aires, Argentina. *Vet Parasitol.* 140(3-4):296-301.
302. Sommerfelt, I.E.; Degregorio, O.J.; Alvarez, A.J.; Franco, A. (1996) Viabilidad de huevos de *Toxocara canis*. *Rev. Med. Vet.* 77(4): 302-304.
303. Sommerfelt, I.E.; Degregorio, O.J.; Barrera, M.; Gallo, G.; Betti, A. (1994) Contaminación ambiental urbana con huevos de endoparásitos de origen animal. *Vet. Arg.* 12(107): 457-561.
304. Soulsby, E.J. (1987) *Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos*. Ed. Interam. México. D.F. 823 p.
305. Speiser, F.; Gottstein, B. (1984) A collaborative study on larval excretory/secretory antigens of *Toxocara canis* for the immunodiagnosis of human toxocariasis with ELISA. *Acta Trop.* 41: 361-72.
306. Sprent, J.F.A. (1952) On the migratory behavior of the larvae of various *Ascaris* species in white mice. I. Distribution of larvae in tissues. *J. Inf. Dis.* 90: 165-176
307. Sprent, J.F.A. (1955) On the invasion of the central nervous system by nematodes. II. Invasion of the nervous system in ascariasis. *Parasitol.* 45: 41-55.
308. Sprent, J.F.A. (1956) Life history and development of *Toxocara cati* (Schrank 1788) in the domestic cat. *Parasitol.* 46: 54-78.
309. Sturchler, D.; Weiss, N.; Gassner, M. (1990). Transmission of toxocariasis. *J. Inf. Dis.* 162: 571.

310. Sugane, K.; Kusama, Y.; Takamoto, M.; Tominaga, A.; Takatsu, K. (1996) Eosinophilia, IL-5 level and recovery of larvae in IL-5 transgenic mice infected with *Toxocara canis*. *Journal of Helminthology* 70, 153–158.
311. Sugane, K.; Oshima, T. (1983) Trapping of large numbers of larvae in the livers of *Toxocara canis*-reinfected mice. *J. Helminthol.* 57: 95–99.
312. Summers, B.; Cypess, R.H.; Dolinsky, Z.S.; Burrigh, R.G. ; Donovick, P.J. (1983) Neuropathological studies of experimental toxocariasis in lead exposed mice. *Brain Res. Bull.* 10: 547–550.
313. Swerczek, T.W.; Nielsen, S.W.; Helmboldt, C.F. (1971) Transmammary passage of *Toxocara cati* in the cat. *A. J. Vet. Res.* 32:89- 92.
314. Taira, K.; Saeed, I.; Lind, P.; Murrell, K.D.; Kapel, C.M.O. (2003) Population dynamics of *Toxocara canis* in pigs receiving a single or multiple infection. *Parasitol.* 127: 593–602.
315. Taira, K.; Saeed, I.; Permin, A.; Kapel, C.M. (2004) Zoonotic risk of *Toxocara canis* infection through consumption of pig or poultry viscera. *Vet. Parasitol.* 121: 115–124.
316. Takashi, A.; Ohta, N. (2010) Parasite-specific antibody profile in the aqueous humor of rabbits with ocular toxocariasis. *Parasitol. Int.* 59(2): 112-120.
317. Takayanagi, T.H.; Akao, N.; Suzuki, R.; Tomoda, M.; Txukidate, S.; Fujita, K. (1999) New animal model for human ocular toxocariasis: ophthalmoscopic observation. *British J. Ophthal.* 83: 967- 972.
318. Taylor, M.R.H. (2001) The epidemiology of ocular toxocariasis. *J. Helminthol.* 75: 109–118.
319. Taylor, M.R.H.; Keane, C.T.; O'Connor, P.; Girdwood, R.W.A.; Smith, H. (1987). Clinical features of covert toxocariasis. *Scandinavian J. Inf. Dis.* 19: 693–696.
320. Taylor, M.R.H.; Keane, C.T.; O'Connor, P.; Mulvihill, E.; Holland, C. (1988). The expanded spectrum of *Toxocaral* disease. *Lancet.* 1:692–695.
321. Tominura, T.; M. Yolota, and H. Takiguchi, 1976: Experimental visceral larva migrans in Monkeys. Clinical, Haematological, biochemical and gross pathological observations on Monkeys inoculated with embryonated eggs of the dog Ascarid, *Toxocara canis*. *Jap. J. Vet. Sci.* 38, 533–548.
322. Torres, P.; Franjola, R.; Perez, J.; Auad, S.; Hermosilla, C.; Flores, L.; Riquelme, J.; Salazar, S.; Miranda, J.; Montefusco, A. (1995) Geohelminthosis intestinales en el hombre y animales domésticos de sectores ribereños de la cuenca del río Valdivia, Chile. *Bol. Chil. Parasitol.* 50: 57-66.
323. Tüzer, E.; Toparlak, M.; Gargılı, A.; Gülanber, A.; Keleş, V.; Efil, I.; Ulutaş Esatgil, M. (2002) Visceral Larva Migrans in mice caused by eating *Toxocara canis*-infected chick livers, *Türk. J. Vet. Anim. Sci.* 26: 293–297.
324. Uga, S. (1993) Prevalence of *Toxocara* eggs and number of faecal deposits from dogs and cats in sandpits of public parks in Japan. *J. Helminthol.* 67: 78–82.
325. Uga, S.; Matsumura, T.; Aoki, N.; Kataoka, N. (1989) Prevalence of *Toxocara* species eggs in the sandpits of public parks in Hyogo Prefecture, Japan, *Kiseichugaku Zasshi.* 38: 280–284.
326. Uga, S.; Minami, T.; Nagata, K. (1966) Defecation habits of cats and dogs and contamination by *Toxocara* eggs in public park sandpits. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 54: 122–126.
327. Uga, S.; Minami, T.; Nagata, K. (1996) Defecation habits of cats and dogs and contamination by *Toxocara* eggs in public park sandpits. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 54: 122–126.
328. Umeche, N.; Mandah, L.E. (1989) *Musca domestica* as carrier of intestinal helminths in Calabor, Nigeria. *East African Med. J.* 66: 349–352.
329. Van Knappen, F.; Buijs, J. (1993) Diagnosis of *Toxocara* infection. In: Lewis, J. M.; and R. M.Maizels (eds), *Toxocara* and Toxocariasis. Clinical, epidemiological and molecular perspectives, pp. 49–53. Institute of Biology, London.
330. Vanparijs, O.; Hermans, L.; van der Flaes, L. (1991) Helminth and protozoan parasites in dogs and cats in Belgium. *Vet. Parasitol.* 38:67-73.
331. Wang Wuang, X.; Zhong Jin-Luo.; Xi, W.G.; Jin, L.Z. (1998) A novel method for the recovery of *Toxocara canis* in mice. *J. Helminthol.* 72(2):183-184.

332. Watthanakulpanich, D.; Smith, H.V.; Hobbs, G.; Whalley, A.J.; Billington, D. (2008) Application of *Toxocara canis* excretory–secretory antigens and IgG subclass antibodies (IgG1-4) in serodiagnostic assays of human toxocariasis. *Acta Trop.* 106: 90–95.
333. Watzke, R.C.; Oaks, J.A.; Folk, J.C. (1984) *Toxocara* infection of the eye. Correlation of clinical observations with developing pathology in the primate model. *Arch. Ophthalmol.* 102: 282–291.
334. Wickramasinghe, S.; Yatawara, L.; Nagataki, M.; Takamoto, M.; Watanabe, Y.; Rajapakse, R.P.; Uda, K.; Suzuki, T.; Agatsuma, T. (2008) Development of a highly sensitive IgG-ELISA based on recombinant arginine kinase of *Toxocara canis* for serodiagnosis of visceral larva migrans in the murine model. *Parasitol. Res.* 103: 853–858.
335. Wilder, H.C. (1950). Nematode endophthalmitis. *Tran. Am. Acad. Ophthalmol. Otolaryngol.* 55: 99–109.
336. Winkel, K.D.; Saw, T.H.; Prociw, P. (1990) Risk of parasitic infections from sandpits. *Med. J. Aust.* 153(8):503.
337. Wisnivesky, C. (2003) *Ecología y epidemiología de las infecciones parasitarias*. Ed. LUD. 400p. ISBN: 61696.
338. Wolfe, A.; Wright, I.P. (2003) Human toxocariasis and direct contact with dogs. *Vet. Rec.* 152: 419–422.
339. Won, K.Y.; Kruszon-Moran, D.; Schantz, P.M.; Jones, J.L. (2008) National seroprevalence and risk factors for zoonotic *Toxocara spp.* infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 79: 552–557.
340. Woodruff, A.W.; Bisseru, B.; Bowe, J.C. (1966) Infection with animal helminths as a factor in causing poliomyelitis and epilepsy. *British Med. J.* 1: 1576–1579.
341. Worley, G.; Green, J.A.; Frothingham, T.E.; Sturner, R.A.; Walks, K.W.; Pakalnis, V.A.; Ellis, G.S. (1984) *Toxocara canis* infections: clinical and epidemiological associations with seropositivity in kindergarten children. *J. Inf. Dis.* 149: 591–597.
342. Yamaguchi, N.; Macdonald, D.W.; Passanisi, W.C.; Harbour, D.A.; Hopper, C.D. (1996) Parasite prevalence in free-ranging farm cats, *Felis silvestris catus*. *Epidemiol. Infect.* 116: 217–223.
343. Yamasaki, H.; Araki, K.; Lim, P.K.C.; Zasmy, N.; Mak, J.W.; Taib, R.; Aoki, T. (2000) Development of highly specific recombinant *Toxocara canis* second stage larva excretory–secretory antigens for immunodiagnosis of human toxocariasis. *J. Clin. Microbiol.* 38: 1409–1413.
344. Ying, S.; Meng, Q.; Barata, L.T.; Robinson, D.S.; Durham, S.R.; Kay, A.B. (1997) Association between IL-13 and IL-4 (mRNA and protein), vascular cell adhesion molecule-1 expression, and the infiltration of eosinophils, macrophages, and T cells in allergen-induced late-phase cutaneous reactions in atopic subjects. *J. Immunol.* 158: 5050–5057.
345. Yoshiji, H.; Yoshikawa, M.; Kaji, K.; Fukui, H. (2007) Eosinophilic cholecystitis as a rare manifestation of visceral larva migrans. *World J. Gastroenterol.* 13: 6119.
346. Yoshikawa, S.; Kayes, S.G.; Martin, S.L.; Parker, J.C. (1996) Eosinophilia-induced vascular and airway remodeling and hyperresponsiveness in rat lungs. *J. Applied Physiol.* 81: 1279–1287.
347. Zibaei M, Sadjjadi SM. (2010) Prevalence of helminth ova in soil samples from public places in Shiraz. *East Mediterr. Health J.* 16(5):580.
348. Zibaei, M.; Abdollahpour, F.; Birjandi, M.; Firoozeh, F. (2010a) Soil contamination with *Toxocara spp.* eggs in the public parks from three areas of Khorram Abad, Iran. *Nepal Med. Coll. J.* 12(2):63–65.
349. Zibaei, M.; Sadjjadi, S.M.; Ishiyama, S.; Sarkari, B.; Uga, S. (2010b) Production of monoclonal antibody against *Toxocara cati* second-stage larvae and its application for the detection of circulating antigens. *Hybrid.* 29(3):217–20.
350. Zibaei, M.; Sadjjadi, S.M.; Sarkari, B. (2007) Prevalence of *Toxocara cati* and other intestinal helminths in stray cats in Shiraz, Iran. *Trop. Biomed.* 24(2):39–43.
351. Zibaei, M.; Sadjjadi, S.M.; Uga, S. (2010c) Experimental *Toxocara cati* infection in gerbils and rats. *Korean J. Parasitol.* 48(4):331–3.
352. Zweig M.H.; Campbell, G. (1993) Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin. Chem.* 39: 561–577.

353. Zyngier, F.R. (1974) Histopathology of experimental *Toxocarasis* in mice. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 68: 225–228.

Bibliografía consultada

1. Abbas, A.K.; Murphy, K.M.; Sher, A. (1996) Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature.* 383: 787–793.
2. Abdel-Hameed, A.A. (1984) Effect of thiabendazole on the migration of *Toxocara canis* larvae in the mouse. *J. Parasitol.* 70: 226–231.
3. Abo-Shehada, M.N.; Sharif, L.; El-Sukhon, S.N.; Abuharfeil, N.; Atmeh, R.F. (1992) Seroprevalence of *Toxocara canis* antibodies in humans in northern Jordan. *J. Helminthol.* 66: 75–78.
4. Agudelo, C.; Villareal, E.; Caceres, E.; Lopez, C.; Eljach, J.; Ramirez, N.; Hernandez, C.; Corredor, C. (1990) Human and dogs *Toxocara canis* infection in a poor neighborhood in Bogota'. *Mem. Inst. O. Cruz.* 85: 75–78.
5. Ajayi, O.O.; Duhlinka, D.D.; Agwale, S.M.; Njoku, M. (2000) Frequency of human toxocariasis in Jos, Plateau state, Nigeria. *Mem. Inst. O. Cruz.* 95: 147–149.
6. Akao, N.; Takayanagi, T.H.; Suzuki, R.; Tsukidate, S.; Fujita, K. (2000) Ocular larva migrans caused by *Toxocara cati* in Mongolian gerbils and a comparison of ophthalmologic findings with those produced by *T. canis*. *J. Parasitol.* 86, 1133–1135.
7. Alba-Hurtado, F.; Tortora, P.J.L.; Tsutsumi, V.; Ortega-Pierres, M.G. (2000) Histopathological investigation of experimental ocular toxocariasis in gerbils. *International. J. Parasitol.* 30: 143–147.
8. Alcantara-Neves, N.M.; dos Santos, A.B.; Mendonca, L.R.; Figueiredo, C.A.; Pontes-de-Carvalho, L. (2008) An improved method to obtain antigen excreting *Toxocara canis* larvae. *Exp. Parasitol.* 119: 349–351.
9. Aldawek, A.M.; Levkut, V.; Revajová, V.; Dvorožnáková, D. (2002) Larval Toxocariosis in mice: immunoreactivity after multiple high dose infections. *Acta Parasitol.* 47(3): 249–254.
10. Alderete, J.M.S.; Jacob, C.M.A.; Pastorino, A.C.; Elefant, G.R.; Castro, A.P.M.; Fomin, A.B.F.; Chieffi, P.P. (2003) Prevalence of *Toxocara* infection in schoolchildren from the Butanta region, Sao Paulo, Brazil. *Mem. Inst. O. Cruz.* 98: 593–597.
11. Alonso, J.M.; Bojanich, M.V.I.; Chamorro, M.; Gorodner, J.O. (2000) *Toxocara* seroprevalence in children from a subtropical city in Argentina. *Rev. Ins. Med. Trop. S. Paulo.* 42: 235–237.
12. Ashton, N. (1960) Larval granulomatosis of the retina due to *Toxocara*. *British J. Ophthalmol.* 44: 129–148.
13. Avcioglu, H.; Burgu, A. (2008) Seasonal prevalence of *Toxocara* ova in soil samples from public parks in Ankara, Turkey. *Vector-borne Zoon. Dis.* 8: 345–350.
14. Barisani-Asenbauer, T.; Maca, S.M.; Hauff, W.; Kaminski, S.L.; Domanovits, H.; Theyer, I.; Auer, H.J. (2001) Treatment of ocular toxocariasis with albendazole. *Ocular Pharmacol. Therap.* 17: 287–294.
15. Barrientos Serra, C.M.; Antunes Uchôa, C.M.; Alonso Coimbra, R. (2003) Exame parasitológico de fezes de gatos (*Felis catus domesticus*) domiciliados e errantes da Região Metropolitana do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 36(3): 331–334.
16. Bird, A.C.; Smith, J.L.; Curtin, V.T. (1970) Nematode optic neuritis. *Am. J. . Ophthalmol.* 69: 72–77.
17. Cancrini, G.; Bartoloni, A.; Zaffaroni, E.; Guglielmetti, P.; Gamboa, H.; Nicoletti, A.; Genchi, C. (1998) Seroprevalence of *Toxocara canis*-IgG antibodies in two rural Bolivian communities. *Parassitol.* 40: 473–475.
18. Chan, P.W.K.; Anuar, A.K.; Fong, M.Y.; Debruyne, J.A.; Ibrahim, J. (2001) *Toxocara* seroprevalence and childhood asthma among Malaysian children. *Ped. Int.* 43: 350–353.
19. Chorazy, M.L.; Richardson, D.J. (2005) A survey of environmental contamination with ascarid ova, Wallingford, Connecticut. *Vector-borne Zoon. Dis.* 5: 33–39.

20. Cilla, G.; Perez-Trallero, E.; Gutierrez, C.; Part, C.; Gomariz, M. (1996). Seroprevalence of *Toxocara* infection in middle-class and disadvantaged children in northern Spain (Gipuzkoa, Basque country). *Europ. J. Epidemiol.* 12: 541–543.
21. Coelho, F.A.S.; Araujo, A.J.U.S.; Kanamura, H.Y.; Rubinsky-Elefant, G.; Coelho, M.D.G. (2006) Frequency of anti-*Toxocara* sp antibodies and socio– environmental characterization of a rural population in the city of Pindamonhangaba, SP, Brazil. *Rev. Bio.* 12: 157–164.
22. Coelho, L.M.; Silva, M.V.; Dini, C.Y.; Giaccon Neto, A.; Novo, N.F.; Silveira, E.P. (2004) Human seroepidemiological survey in toxocariasis: a schoolchildren of Sorocaba, Brazil. *Mem. Inst. O. Cruz.* 99: 553–557.
23. Coman, B.J.; Jones, E.H.; Driesen, M.A. (1981) Helminth parasites and arthropods of feral cats. *Aust. Vet. J.* 57(7):324-7.
24. Critchley, E.M.; Vakil, S.D.; Hutchinson, D.N.; Taylor, P. (1982) *Toxoplasma*, *Toxocara*, and epilepsy. *Epilepsia.* 23: 315–321.
25. Critchley, E.M.; Vakil, S.; Hutchinson, D.N.; Taylor, P. (1982) *Toxoplasma*, *Toxocara*, and epilepsy. *Epilepsia.* 23: 315–321.
26. Dada, B.J.; Lindquist, W.D. (1979) Prevalence of *Toxocara spp.* eggs in some public grounds and highway rest areas in Kansas. *J. Helminthol.* 53: 145–146.
27. Damian, M.M.; Martins, M.; Sardinha, J.F.; Souza, L.O.; Chaves, A.; Tavares, A.M. (2007) Frequency of the antibody anti-*Toxocara canis* in a community along the Uatuma River, state of Amazonas. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* 40: 661–664.
28. De Brito, T.; Chieffi, P.P.; Peres, B.A.; Santos, R.T.; Gayotto, L.C.C.; Viana, M.R.; Porta, G.P.; Alves, V.A.F. (1994) Immunohistochemical detection of *Toxocaral* antigens in human liver biopsies. *Int. J. Surgical Pathol.* 2: 117–124.
29. de Kossodo, S.; Grau, G.E. (1993) Profiles of cytokine production in relation with susceptibility to cerebral malaria. *J. Immunol.* 151: 4811–4820.
30. De Souza, E.C.; Nakashima, Y. (1995) Diffuse unilateral subacute neuroretinitis: report of transvitreal surgical removal of a subretinal nematode. *Ophthalmol.* 102: 1183–1186.
31. Dogan, N.; Dinleyici, E.C.; Bor, O.; Toz, S.O.; Ozbel, Y. (2007) Seroepidemiological survey for *Toxocara canis* infection in the northwestern part of Turkey. *Turkiye Parazitol. Der.* 31: 288–291.
32. Dolinsky, Z.S.; Burright, R.G.; Donovanick, P.J.; Glickman, L.T.; Babish, J.; Summers, B.; Cypess, R.H. (1981) Behavioral effects of lead and *Toxocara canis* in mice. *Science.* 213: 1142–1144.
33. Düwell, D. (1984) The prevalence of *Toxocara* eggs in the sand of childrens playgrounds in Frankfurt/M. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 78: 633–636.
34. Dziemian, E.; Zarnowska, H.; Kołodziej- Sobocinska, M.; Machnicka, B. (2008) Determination of the relative avidity of the specific IgG antibodies in human toxocariasis. *Parasite Immunol.* 30: 187–190.
35. Emehelu, C.O.; Fakae, B.B. (1986) Prevalence of *Toxocara canis* ova on playgrounds of nursery schools in Nsukka, Nigeria. *Int. J. Zoon.* 13: 158–161.
36. Epe, C.; Sabel, T.; Schneider, T.; Stoye, M. (1994) The behaviour and pathogenicity of *Toxocara canis* larvae in mice of different strains. *Parasitol. Res.* 80: 691–695.
37. Evans, C.A.W.; Garcia, H.H.; Hartnell, A.; Gilman, R.H.; Jose, P.J.; Martinez, M.; Remick, D.G.; Williams, T.J.; Friedland, J.S. (1998) Elevated concentrations of eotaxin and interleukin-5 in human neurocysticercosis. *Inf. Immun.* 66: 4522–4525.
38. Faccioli, L.H.; Mokwa, V.F.; Silva, C.L.; Rocha, G.M.; Araujo, J.I.; Nahori, M.A.; Vargaftig, B.B. (1996). IL-5 drives eosinophils from bone marrow to blood and tissues in a guinea-pig model of visceral larva migrans syndrome. *Med. Inflam.* 5: 24–31.
39. Fallah, M.; Azimi, A.; Taherkhani, H. (2007). Seroprevalence of toxocariasis in children aged 1–9 years in western Islamic Republic of Iran, 2003. *Eastern Medit. Health J.* 13. 1073–1077.
40. Fan, C.K.; Hung, C.C.; Du, W.Y.; Liao, C.W.; Su, K.E. (2004) Seroepidemiology of *Toxocara canis* infection among mountain aboriginal schoolchildren living in contaminated districts in eastern Taiwan. *Trop. Med. Int. Health.* 9: 1312– 1318.

41. Fenoy, S.; Rodero, M.; Pons, E.; Aguila, C.; Cuellar, C. (2008). Follow-up of antibody avidity in BALB/c mice infected with *Toxocara canis*. *Parasitol.* 135: 725–733.
42. Fernando, S.D.; Wickramasinghe, V.P.; Kapilananda, G.M.; Devasurendra, R. L.; Amarasooriya, J.D.; Dayaratne, H.G. (2007) Epidemiological aspects and risk factors of toxocariasis in a pediatric population in Sri Lanka. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Health.* 38: 983–990.
43. Fillaux, J.; Santillan, G.; Magnaval, J. F.; Jensen, O.; Larrieu, E.; Sobrino-Becaria, C. D. (2007) Epidemiology of toxocariasis in a steppe environment: the Patagonia study. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 76: 1144–1147.
44. Flohr, C.; Quinnell, R.J.; Britton, J. (2009) Do helminth parasites protect against atopy and allergic disease? *Clin. Exp. Allergy.* 39: 20–32.
45. Fogt-Wyrwas, R.; Jarosz, W.; Mizgajska-Wiktor, H. (2007). Utilizing a polymerase chain reaction method for the detection of *Toxocara canis* and *T. cati* eggs in soil. *J. Helminthol.* 81: 75–78.
46. Fok, E.; Kassai, T. (1998) *Toxocara canis* infection in the paratenic host: a study on the chemosusceptibility of the somatic larvae in mice. *Vet. Par.* 74: 243- 259.
47. Gass, J.D.; Gilbert, W.R.; Guerry, R.K.; Scelfo, R. (1978) Diffuse unilateral subacute neuroretinitis. *Ophthalmol.* 85: 521–545.
48. Gass, J.D.; Gilbert, W.R.; Guerry, R.K.; Scelfo, R. (1978) Diffuse unilateral subacute neuroretinitis. *Ophthalmol.* 85: 521–545.
49. Gatti, R.M. (1998) El gato como animal de compañía. *Rev. Soc. Med. Vet.* 79 (5).
50. Gazzinelli, R.T.; Eltoun, I.; Wynn, T.A.; Sher, A. (1993) Acute cerebral toxoplasmosis is induced by in vivo neutralization of TNF- α and correlates with the down-regulated expression of inducible nitric oxide synthase and other markers of macrophage activation. *J. Immunol.* 151: 3672–3681.
51. Genchi, C.; di Sacco, B.; Gatti, S.; Sangalli, G.; Scaglia, M. (1990) Epidemiology of human toxocariasis in northern Italy. *Parassitol.* 32: 313–319.
52. Gillespie, S.H. (1993) The clinical spectrum of human toxocariasis. In: Lewis, J.W.; Maizels, R.M (eds) *Toxocara* and *Toxocariasis*. Institute of Biology and British Society for Parasitology, London, pp. 55–61.
53. Glickman, L.T.; Magnaval, J.F., Domanski, L.M.; Shofer, F.S.; Lauria, S.S.; Gottstein, B.; Brochier, B. (1987) Visceral larva migrans in French adults: a new disease syndrome? *Am. J. Epidemiol.* 125: 1019–1034.
54. Glickman, L.T.; Schantz, P.M.; Cypess, R.H. (1979) Epidemiological characteristics and clinical findings in patients with serologically proven toxocariasis. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 73: 254–258.
55. Grau, G.E.; Fajardo, L.F.; Pigué, P.F.; Allet, B.; Lambert, P.H.; Vassalli, P. (1987) Tumor necrosis factor (cachectin) as an essential mediator in murine cerebral malaria. *Science.* 237: 1210–1212.
56. Grau, G.E.; Pigué, P.F.; Vassalli, P.; Lambert, P.H. (1989) Tumor necrosis factor and other cytokines in cerebral malaria: experimental and clinical data. *Immunol. Rev.* 112: 49–70.
57. Guimaraes, A.M.; Alves, E.G.; de Rezende, G.F.; Rodrigues, M.C. (2005) *Toxocara sp.* eggs and *Ancylostoma sp.* larvae in public parks, Brazil. *Rev. Sau. Publica.* 39: 293–295.
58. Gunaseelan, L.; Ganesan, P.I.; Ramadass, P.; Basheer, M.A.; Raghavan, N. (1992) Incidence of *Toxocara* ova in the environment. *Indian Vet. J.* 69: 308–309.
59. Hamilton, C.M.; Pinelli, E.; Holland, C.V. (2004) A murine model for cerebral toxocariasis: effect of larval burden on behaviour and immune response in two strains of inbred mice. In: Abstracts of the Proceedings of IX European Multicolloquium of Parasitology, Valencia, Spain, 18–23 July, pp. 389–390.
60. Hay, J.; Aitken, P.P. (1984) Experimental toxocariasis in mice and its effect on their behaviour. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 78: 145–155.
61. Hay, J.; Aitken, P.P.; Arnott, M.A. (1985) The effect of *Toxocara canis* on the spontaneous running activity of mice. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 79: 221–222.
62. Hay, J.; Kendall, A.T.; Aitken, P.P.; Arnott, M.A. (1986) *Toxocara canis* infection and hyperactivity. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 80: 531–533.

63. Hayashi, E.; Tuda, J.; Imada, M.; Akao, N.; Fujita, K. (2005) The high prevalence of asymptomatic *Toxocara* infection among schoolchildren in Manado, Indonesia. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Health.* 36: 1399–1406.
64. Hermanowska-Szpakowicz, T.; Kondrusik, M.; Swierzbinska, R.; Zajkowska, J.; Pancewicz, S. (2001) Incidence of antibody detection against *Toxocara canis* and clinical symptoms in inhabitants of north-eastern Poland. *Polski Merkuriusz Lekarski.* 57: 168–170.
65. Hogan, M.J.; Kimura, S.J.; Spencer, W.H. (1965) Visceral larva migrans and peripheral retinitis. *J. Am. Med. Assoc.* 194: 1345–1347.
66. Holland, C.V.; Hamilton, C.; Restrepo, B.I.; Llaguno, P.; Sandoval, M.A.; Enciso, J.A.; Teale, J.M. (1998) Analysis of immune lesions in neurocysticercosis patients: central nervous system response to helminth appears Th1-live instead of Th2. *J. Neuroimmunol.* 89: 64–72.
67. Hotez, P.J.; Wilkins, P.P. (2009) Toxocariasis: Americas most common neglected infection of poverty and a helminthiasis of global importance? *P. Negl. Trop. Dis.* 3: 400.
68. Hubner, J.; Uhlikova, M.; Leissova, M. (2001) Diagnosis of the early phase of larval toxocariasis using IgG avidity. *Epidemiol., Mikrobiol., Immunol.* 50: 67–70.
69. Hunt, N.H.; Grau, G.E. (2003) Cytokines: accelerators and brakes in the pathogenesis of cerebral malaria. *Trends Immunol.* 24: 491–499.
70. Irvine, W.C.; Irvine, A.R. (1959) Nematode endophthalmitis: *Toxocara canis*. Report of one case. *Am. J. Ophthalmol.* 47:185–191.
71. Ishida, M.M.I.; Rubinsky-Elefant, G.; Ferreira, A.W.; Hoshino-Shimizu, S.; Vaz, A.J. (2003) Helminth antigens (*Taenia solium*, *Taenia crassiceps*, *Toxocara canis*, *Schistosoma mansoni* and *Echinococcus granulosus*) and cross-reactivities in human infections and immunized animals. *Acta Trop.* 89: 73–84.
72. Janeway, C.A.; Travers, P.; Walport, M.; Shlomchik, M. (2001) T cell-mediated immunity. In: *Immunobiology: the Immune System in Health and Disease*, 5th edn. Garland Publishing, Taylor and Francis Group, New York, pp. 295–340.
73. Jennings, V.M.; Actor, J.K.; Lal, A.A.; Hunter, R.L. (1997) Cytokine profile suggesting murine cerebral malaria is an encephalitis. *Inf. Immun.* 65: 4883–4887.
74. Jiménez, J.F.; Valladares, B.; Fernández-Palacios, J.M.; de Armas, F.; del Castillo, A. (1997) A serological study of human toxocariasis in the Canary Islands (Spain): environmental influences. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 56: 113–115.
75. Kanafani, Z.A.; Skoury, A.; Araj, G.F.; El-Khoury, M.; Sawaya, R.A.; Atweh, S.F.; Kanj, S.S. (2006). Seroprevalence of toxocariasis in Lebanon: a pilot survey. *Parasitol.* 132: 635–639.
76. Katagiri, S.; Oliveira-Sequeira, T.C. (2008). Prevalence of dog intestinal parasites and risk perception of zoonotic infection by dog owners in Sao Paulo state, Brazil. *Zoon. Pub. Health.* 55: 406–413.
77. Kenny, J.V.; MacCabe, R.J.; Smith, H.V.; Holland, C. (1995) Serological evidence for the presence of toxocariasis in the Turkana district of Kenya. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 89: 377–378.
78. Kern, P.; Hemmer, C.J.; van Damme, J.V, Gruss, H.J.; Dietrich, M. (1989) Elevated tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 serum levels as markers for complicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Am. J. Med.* 87: 139–143.
79. Kulldorff, M.; Nagarwalla, N. (1995) Spatial disease clusters: detection and inference. *Statis. Med.* 14: 799–819.
80. Kuroda, E.; Yoshida, Y.; En Shan, B.; Yamashita, U. (2001) Suppression of macrophage interleukin-12 and tumour necrosis factor-alpha production in mice infected with *Toxocara canis*. *Parasite Immunol.* 23: 305–11.
81. Lewis, J.W.; Maizels, R.M. (1993) *Toxocara* and Toxocariasis: Clinical, Epidemiological and Molecular Perspectives, Institute of Biology, London, 169 pp.
82. Lynch, N.R.; Eddy, K.; Hodgen, A.N.; Lopez, R.I.; Turner, K.J. (1988a) Seroprevalence of *Toxocara canis* infection in tropical Venezuela. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 82: 275–281.
83. Lynch, N.R.; Wilkes, L.K.; Hodgen, A.N.; Turner, K.J. (1988) Specificity of *Toxocara* ELISA in tropical populations. *Parasite Immunol.* 10: 323–337.

84. Magnaval, J.F. (1995) Comparative efficacy of diethylcarbamazine and mebendazole for the treatment of human toxocariasis. *Parasitol.* 110: 529–533.
85. Magnaval, J.F.; Michault, A.; Calon, N.; Charlet, J.P. (1994). Epidemiology of human toxocariasis in La Reunion. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 88: 531–533.
86. Magnaval, J.F.; Baixench, M. (1993). Toxocariasis in the Midi Pyrene´es region. In *Toxocara and Toxocariasis. Clinical, Epidemiological and Molecular Perspectives*, eds Lewis, J. W.; Maizels, R. M. London: British Society for Parasitology. pp. 63–69.
87. Maizels, R.M.; Gems, D.H.; Page, A.P. (1993) Synthesis and secretion of TES antigens from *Toxocara canis* infective larvae. In *Toxocara and Toxocariasis. Clinical, Epidemiological and Molecular Perspectives*, eds Lewis, J.W.; Maizels, R. M. London: British Society for Parasitology. pp. 141–150.
88. Maizels, R.M.; Tetteh, K.K.A.; Loukas, A. (2000) *Toxocara canis*: genes expressed by the arrested infective larval stage of a parasitic nematode. *International J. Parasitol.* 30: 495–508.
89. Marmor, M.; Glickman, L.T.; Shofer, F.; Faich, L.A.; Rosenberg, C.; Cornblatt, B.; Friedman, S. (1987) *Toxocara* infection in children: epidemiologic and neuropsychologic findings. *Am. J. Pub. Health.* 77: 554–559.
90. Montalvo, A.M.; Espino, A.M.; Escalante, G.; Finlay, C.M. (1994) Study of seroprevalence of toxocariasis in an infantile population in the city of Havana. *Rev. Cub. Med. Trop.* 46: 156–158.
91. Montoya, A.; Fuentes, I.; Jimenez, S. (2004) Prevalencia de parásitos intestinales e gatos vagabundos, gatos de explotación y gatos de propietario en España. *Enf. Emerg.* 6: 211.
92. Mosmann, T.R.; Coffman, R.L. (1987) Two types of mouse helper T-cell clone: implications for immune regulation. *Immunol. Today.* 8: 223–227.
93. Mundim, T.C.D.; Oliveira, S.D.; Rodriguez, D.C.; Cury, M.C. (2004) Frecuencia de helmintos em gatos de Uberlandia. *Minas Gerais Arq. Bra. Med. Vet. Zootec.* 56(4): 562-3.
94. Muradian, V.; Gennari, S.M.; Glickman, L.T.; Pinheiro, S.R. (2005) Epidemiological aspects of visceral larva migrans in children living at Sao Remo Community, Sao Paulo (SP), Brazil. *Vet. Parasitol.* 134: 93–97.
95. Nakamura, S.; Sotoyama, T.; Hayasaka, S.; Kameyama, Y.; Maruyama, S.; Katsube, Y. (1991) Parasitism of *Toxocara canis* larvae in Japanese quails by inoculation of the ascarid eggs. *J. Vet. Med. Sci.* 53: 865–872.
96. Norhaida, A.; Suharni, M.; Liza Sharmani, A.T.; Tuda, J.; Rahmah, N. (2008) rTES-30USM: cloning via assembly PCR, expression, and evaluation of usefulness in the detection of toxocariasis. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 102: 151–160.
97. Ota, K.V.; Dimaras, H.; Heon, E.; Babyn, P.S.; Yau, Y.C.; Read, S.; Budning, A.; Gallie, B.L.; Chan, H.S. (2009). Toxocariasis mimicking liver, lung, and spinal cord metastases from retinoblastoma. *Ped. Inf. Dis. J.* 28: 252–254.
98. Park, H.Y.; Lee, S.U.; Huh, S.; Kong, Y.; Magnaval, J.F. (2002) A seroepidemiological survey for toxocariasis in apparently healthy residents in Gangwon-do, Korea. *Korean J. Parasitol.* 40: 113–117.
99. Prestes-Carneiro, L.E.; Santarem, V.; Zago, S.C.S.; Miguel, N.A.; Farias, S.F.; Villas, R.; Vaz, A.J.; Rubinsky-Elefant, G. (2008). Seroepidemiology of toxocariasis in a rural settlement in Sao Paulo state, Brazil. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 102: 347–356.
100. Prestes-Carneiro, L.E.; Souza, D.H.P.; Moreno, G.C.; Troiani, C.; Santarem, V.; Zago, S.C.S.; Miguel, N.A.; Freitas, S.B.Z.; Faria, R.; Martini, L.; Rubinsky-Elefant, G.; Iha, A.; Vaz, A.J. (2009). Toxocariasis/cysticercosis seroprevalence in a longterm rural settlement, Sao Paulo, Brazil. *Parasitol.* 136: 681–689.
101. Radman, N.E.; Archelli, S.M.; Fonrouge, R.D.; del V Guardis, M.; Linzitto, O. (2000) Human toxocarosis. Its seroprevalence in the city of La Plata. *Mem. Inst. O. Cruz.* 95: 281–285.
102. Rai, S.K.; Uga, S.; Ono, K.; Nakanishi, M.; Shrestha, H.G.; Matsumura, T. (1996) Seroepidemiological study of *Toxocara* infection in Nepal. *Southeast J. Trop. Med. Pub. Health.* 27: 286–290.

103. Robertson, B.D.; Burkot, T.R.; Gillespie, S.H.; Kennedy, M.W.; Wanbai, F.; Maizels, R.M. (1988) Detection of circulating parasite antigen and specific antibody in *Toxocara canis* infections. *Clin. Exp. Immunol.* 74: 236–241.
104. Rodrigues, V.; de-Mello, F.A.; Magalhaes, E.P.; Ribeiro, S.B.F.; Marquez, J.O. (2000) Interleukin-5 and interleukin-10 are major cytokines in cerebrospinal fluid from patients with active neurocysticercosis. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 33: 1059–1063.
105. Rokicki, J.; Kucharska, A. P.; Dzido, J.; Karczewska, D. (2007) Contamination of playgrounds in Gdansk city with parasite eggs. *Wiad. Parazytol.* 53: 227–230.
106. Roldan, W. H.; Cornejo, W.; Espinoza, Y. (2006) Evaluation of the dot enzyme-linked immunosorbent assay in comparison with standard ELISA for the immunodiagnosis of human toxocariasis. *Mem. Inst. O. Cruz.* 101: 71–74.
107. Roldan, W.H.; Espinoza, Y.A.; Huapaya, P.E.; Huiza, A.F.; Sevilla, C.R.; Jimenez, S. (2009) Frequency of human toxocariasis in a rural population from Cajamarca, Peru determined by DOTELISA test. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* 51: 67–71.
108. Romasanta, A.; Romero, J.L.; Arias, M.; Sanchez Andrade, R.; Lopez, C.; Suarez, J. L.; Dias, P.; Diez- Baños, P.; Morrondo, P.; Paz-Silva, A. (2003) Diagnosis of parasitic zoonosis by immunoenzymatic assays analysis of cross-reactivity among the excretory/secretory antigens of *Fasciola hepatica*, *Toxocara canis*, and *Ascaris suum*. *Immunol. Inv.* 32: 131–142.
109. Rudin, W.; Eugster, H.P.; Bordmann, G.; Bonato, J.; Muller, M.; Yamage, M.; Ryffel, B. (1997) Resistance to cerebral malaria in tumor necrosis factor- α /b-deficient mice is associated with a reduction of intracellular adhesion molecules-1 upregulation and T-helper type 1 response. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 62: 530–534.
110. Sadjjadi, S. M.; Oryan, A.; Jalaia, R.; Mehrabani, D. (2001) Prevalence and intensity of infestation with *Toxocara cati* in stray cats in Shiraz, Iran. *Veterinarski. Arhiv.* 71: 149–57.
111. Saeed, I.; Taira, K.; Kapel, C.M.O. (2005) *Toxocara canis* in experimentally infected silver and arctic foxes. *Parasitol. Res.* 97 (2): 160 – 166.
112. Salem, G.; Schantz, P. (1992) *Toxocaral* visceral larva migrans after ingestion of raw lamb liver. *Clin. Inf. Dis.* 15: 743–744.
113. Sato, H.; Matsuo, K.; Osanai, A.; Kamiya, H.; Akao, N.; Owaki, S.; Furuoka, H. (2004) Larva migrans by *Baylisascaris transfuga*: fatal neurological diseases in Mongolian jirds, but not in mice. *J. Parasitol.* 90: 774–781.
114. Schluter, D.; Kwok, L.Y.; Lutjen, S.; Soltek, S.; Hoffmann, S.; Korner, H.; Deckert, M. (2003) Both lymphotoxin- α and TNF are crucial for control of *Toxoplasma gondii* in the central nervous system. *J. Immunol.* 170: 6172–6182.
115. Scott, P.; Pearce, E.; Cheever, A.W.; Coffman, R.L.; Sher, A. (1989) Role of cytokines and CD4 β T-cell subsets in the regulation of parasite immunity and disease. *Immunol. Rev.* 112: 161–182.
116. Shields, J.A. (1977). Ocular toxocariasis. A review. *Surveys Ophthalmol.* 28: 319–322.
117. Shimizu, T. (1993). Prevalence of *Toxocara* eggs in sandpits in Tokushima city and its outskirts. *J. Vet. Med. Sci.* 55: 807–811.
118. Shields, J.A. (1984) Ocular toxocariasis. A review. *Ophthalmol.* 28: 361–381.
119. Shoop, W.L. (1991). Vertical transmission of helminths: hypobiosis and amphiparatensis. *Parasitol. Today.* 7: 51–54.
120. Sommerfelt, I.E. (2009) Epidemiología de la toxocarosis. Propuesta de un modelo animal. Tesis doctoral. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Argentina. Imprenta del Congreso de la Nación. ISBN 978-987-05-6542-0.
121. Stensvold, C.R.; Skov, J.; Moller, L.N.; Jensen, P.M.; Kapel, C.M.O.; Petersen, E.; Nielsen, H.V. (2009) Seroprevalence of human toxocariasis in Denmark. *Clin. Vac. Immunol.* 16: 1372–1373.
122. Sturchler, D.; Schubarth, P.; Gualzata, M.; Gottstein, B.; Oettli, A. (1989). Thiabendazole vs. albendazole in treatment of toxocariasis: a clinical trial. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 83: 473–478.

123. Suzuki, Y.; Kang, H.; Parmley, S.; Lim, S.; Park, D. (2000) Induction of tumor necrosis factor α and inducible nitric oxide synthase fails to prevent toxoplasmic encephalitis in the absence of interferon- γ in genetically resistant BALB/c mice. *Microbes Inf.* 2: 455–462.
124. Takamoto, M.; Ovington, K.S.; Behm, C.A.; Sugane, K.; Young, I.G.; Matthaei, K. I. (1997) Eosinophilia, parasite burden and lung damage in *Toxocara canis* infection in C57B1/6 mice genetically deficient in IL-5. *Immunol.* 90: 511–517.
125. Tiyo, R.; Guedes, T. A.; Falavigna, D. L.; Falavigna- Guilherme, A. L. (2008). Seasonal contamination of public squares and lawns by parasites with zoonotic potential in southern Brazil. *J. Helminthol.* 82: 1–6.
126. Tiyo, R.; Guedes, T.A.; Falavigna, D.L.; Falavigna- Guilherme, A.L. (2008). Seasonal contamination of public squares and lawns by parasites with zoonotic potential in southern Brazil. *J. Helminthol.* 82: 1–6.
127. Torgerson, P.R.; Rosenheim, K.; Tanner, I.; Ziadinov, I.; Grimm, F.; Brunner, M.; Shaiken, S.; Shaikenov, B.; Rysmukhambetova, A.; Deplazes P. (2009) Echinococcosis, toxocarosis and toxoplasmosis screening in a rural community in eastern Kazakhstan. *Trop. Med. Int. Health.* 14: 341–348.
128. Visco, R.J.; Corwin, R.M; Selby, L.A. (1978) Effect of age and sex on the prevalence of intestinal parasitism in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 172(7): 797- 800.
129. Wang, M.Q.; Jiang, H.J.; Inoue, H.; Myozaki, M.; Yamashita U. (1995) B cell mitogenic activity of *Toxocara canis* adult worm antigen. *Parasite Immunol.* 17: 609–15.
130. Wells, D.L. (2007) Public understanding of toxocariasis. *Public Health.* 121: 187–188.
131. Woodruff, A.W.; de Savigny, D.H.; Henty-Ibbs, P.M. (1982). *Toxocara* and toxoplasma antibodies in cat breeders and in Icelanders exposed to cats but not to dogs. *British Med. J.* 284: 309–310.
132. Yoshikawa, M.; Oujii, Y.; Nishiofuku, M.; Moriya, K.; Kasahara, K.; Mijasa, K.; Mizuno, Y.; Nakamura, T.; Ogawa, S.; Ishizaka, S.; Akao, N. (2008) Visceral toxocariasis from regular consumption of raw cow liver. *Int. Med.* 47: 1289-1290.
133. Zarnowska, H.; Borecka, A.; Gawor, J.; Marczyńska, M.; Dobosz, S.; Basiak, W. (2008). A serological and epidemiological evaluation of risk factors for toxocariasis in children in central Poland. *J. Helminthol.* 82: 123–127.
134. Zhu, X.Q.; Gasser, R.B.; Chilton, N.B.; Jacobs, D.E. (2001) Molecular approaches for studying ascaridoid nematodes with zoonotic potential, with an emphasis on *Toxocara* species. *J. Helminthol.* 75: 101–108.

ANEXO

PARTICIPACIÓN EN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN RELACIONADOS CON LA TEMÁTICA

- Modelos epidemiológicos de zoonosis urbanas. Proyecto UBACYT TV023, Director: Dra. Irma E. Sommerfelt. Codirector: Aníbal Franco. Proyecto aprobado. Período 2004- 2007. Participación como Investigador tesista.
- Estudio experimental de *Toxocara cati* en modelos animales. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en la población felina. Director: Irma E. Sommerfelt. Codirector: Aníbal Franco. Proyecto aprobado. Período 2008- 2010. Participación como Investigador tesista.
- Zoonosis urbanas prevalentes. Toxocariosis. Toxoplasmosis. Campylobacteriosis. Director: Irma E. Sommerfelt. Codirector: Aníbal Franco. Proyecto aprobado. Período 2011- 2014. Participación como Investigador tesista.

ACTIVIDADES COMPLEMENTARIAS

- Se realizó un estudio de prevalencia de huevos de *Toxocara cati* y otros parásitos presentes en material fecal felina recolectada en espacios abiertos de instituciones públicas de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. El mismo fue publicado en la revista *Veterinary Parasitology*. Se adjunta la publicación.
- Se realizó un estudio sobre la infección natural de *Toxocara cati* en gatos sin propietario de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. El mismo fue publicado en la revista *Parasitología Latinoamericana*. Se adjunta la publicación.
- Se realizó un estudio de persistencia en el tiempo, de contaminación ambiental con huevos de *Toxocara cati* en la Ciudad Autónoma de Buenos

Aires. Se publicó en la revista Una Salud (SAPUVET). Se adjunta la publicación.

- Se realizó la puesta a punto de una técnica de concentración de huevos de *T. cati* con fines experimentales y diagnósticos, de diseño propio. Actualmente en redacción para publicación.