

INFESTIVIDAD DE HUEVOS DE *TOXOCARA CANIS* OBTENIDOS DE HECES DE PASEOS PÚBLICOS DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES

Infestivity of *Toxocara Canis* Eggs Obtained From Faeces In Public Places of Buenos Aires City

Irma E. Sommerfelt, Osvaldo J. Degregorio, Clara M. López, Andrea S. de Cousandier y Aníbal J. Franco

Area Veterinaria en Salud Pública, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. Avda. Chorroarín 280 (1427)
Buenos Aires, Argentina. E-mail: isom@fvet.uba.ar

RESUMEN

Huevos de *Toxocara canis* obtenidos de materia fecal recolectada en el ambiente de paseos públicos de la Ciudad de Buenos Aires y de hembras adultas del parásito fueron inoculados en ratones para evaluar y comparar su potencial infectivo. Los huevos fueron incubados bajo condiciones de laboratorio a $28 \pm 5^\circ\text{C}$ y $80 \pm 5\%$ de humedad durante 35 días. Se inocularon 52 ratones machos línea CF1 con 1000 huevos larvados obtenidos de heces del ambiente (Lote I) y 52 ratones con 1000 huevos larvados obtenidos de hembras adultas del parásito (Lote II). Para cada lote se asignaron 26 animales como control. El número de huevos larvados del inóculo eliminados por vía fecal fue de 234 ± 3 (lote I) y 233 ± 5 (lote II). Se emplearon las técnicas de digestión péptica y de Baermann para estimar la infectividad de *T. canis*. La recuperación máxima, a través de la técnica de digestión péptica, fue en el lote I: en hígado 100 ± 18 ; en pulmón 34 ± 12 y en músculo esquelético 100 ± 25 . En el lote II: en hígado 225 ± 23 ; en pulmón 134 ± 25 y en músculo esquelético 234 ± 49 . El análisis estadístico demostró diferencias significativas entre los grupos ($P:0,05$) con mayor recuperación en el lote II. Estos resultados señalan que los factores ambientales podrían influir desfavorablemente sobre la viabilidad y la infectividad de los huevos de *T. canis*, siendo necesario su estudio y cuantificación.

Palabras clave: Infestividad, *Toxocara canis*, ambiente.

ABSTRACT

Mice were inoculated with *Toxocara canis* eggs obtained from faeces collected in the environment of public places of Buenos Aires city and from female adults of the parasite. The eggs were incubated under laboratory conditions at $28 \pm 5^\circ\text{C}$ and

under $80 \pm 5\%$ humidity during 35 days. Fifty two CF1 mice were inoculated with 1000 larvae eggs obtained from faeces of environmental origin (lot I) and 52 mice with 1000 larvae eggs obtained from females adults (lot II). For each lot 26 mice were assigned as controls. The digestive elimination of the inoculum for both lots was 234 ± 3 and 233 ± 5 respectively. Peptic digestion and Baermann methods were employed to estimate *T. canis* infectivity. The maximum recovery of *T. canis* larvae by peptic digestion method was 100 ± 18 from liver, 34 ± 12 from lungs and 100 ± 25 from skeletal muscle (lot I) and 225 ± 23 from liver, 134 ± 25 from lungs and 234 ± 49 from skeletal muscle (lot II). Significant differences between groups were observed ($P:0.05$) with maximum recovery in lot II. These results suggest that environmental factors may unfavourably influence the viability and the infectivity of *T. canis* eggs and its necessary to study them.

Keywords: Infestivity, *Toxocara canis*, environment.

INTRODUCCIÓN

La Toxocarosis es una zoonosis producida por *Toxocara canis* o *Toxocara cati*, parásitos nematodos pertenecientes a la Familia *Ascaridae*. Los caninos infectados eliminan al ambiente los huevos del parásito con la materia fecal [12].

Ha sido demostrada la contaminación del suelo y de los areneros de los paseos públicos de la ciudad de Buenos Aires con huevos de diversos parásitos de origen animal, en particular del género *Toxocara* [13].

Se ha estudiado, asimismo, la viabilidad de los huevos de *T. canis* obtenidos de hembras adultas del parásito [3] y de materia fecal recién emitida de caninos infectados [6]. Se ha observado que los mismos evolucionan a su estadio infectante según las condiciones de temperatura, humedad y aireación [14].

La infectividad de huevos de *T. canis*, obtenidos de distintas fuentes, se estudió mediante la utilización de diversos modelos animales [1, 2, 4, 10], no habiéndose estudiado la infectividad de los huevos de *T. canis* recolectados en el ambiente urbano, experiencia necesaria para estimar el riesgo de infectación humana y de otros hospederos susceptibles.

Los objetivos del presente trabajo fueron evaluar el potencial infectivo de huevos de *Toxocara canis* presentes en las deposiciones de caninos provenientes de paseos públicos de la ciudad de Buenos Aires. Comparar los resultados de la recuperación de larvas de los tejidos por medio de las técnicas de digestión péptica y de Baermann.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los huevos de *Toxocara canis* utilizados en este estudio se obtuvieron de deposiciones caninas frescas [14] recolectadas en paseos públicos de la ciudad de Buenos Aires. La evolución de la infectividad de estos huevos se comparó con la de huevos de *T. canis* obtenidos de hembras adultas del parásito procedentes de animales naturalmente infectados.

La totalidad de las heces obtenidas del ambiente se procesaron empleando la técnica de flotación con solución saturada de sulfato de magnesio – densidad: 1,275 11.

Las hembras adultas del parásito, obtenidas de caninos naturalmente infectados, fueron seccionadas, trituradas y homogeneizadas. A cada gramo de masa parasitaria se le agregó 10 mL de solución de formol al 0.5% y 0.02 mL de iodopovidona al 10% [3].

Los huevos morfológicamente viables de ambas procedencias se incubaron en oscuridad a $28 \pm 0,5^\circ\text{C}$ y $80 \pm 0,5\%$ de humedad durante 35 días.

Se emplearon en la experiencia dos lotes de 78 ratones machos, provistos por el Bioterio de la Facultad de Ciencias Veterinarias, de la UBA – línea CF1, con un peso promedio de 20 g.

En el lote (I) se inocularon 52 animales con 1000 huevos larvados cada uno, obtenidos del ambiente. En el lote (II) se inocularon 52 animales con 1000 huevos larvados cada uno, obtenidos de hembras adultas del parásito. Se asignaron 52 ratones no inoculados, que actuaron como grupo control de la experiencia.

Se estimó el número de huevos larvados en cada inoculo a través de la técnica de MacMaster. Se administró el inoculo por vía intragástrica con sonda semirígida pc-40 modificada, previa anestesia de los animales con éter etílico.

Para determinar el número de huevos larvados [3] presentes en el contenido del tramo final del tracto digestivo, se sacrificaron de cada lote en estudio 2 ratones inoculados y 1 control de acuerdo con el siguiente cronograma: 30 minutos, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72 y 96 horas post inoculación (p.i.).

A fin de estudiar la migración de larvas de *T. canis* se sacrificaron 4 ratones inoculados y 2 controles de cada lote, de acuerdo al siguiente cronograma p.i.: 12, 24, 36, 48, 72, 96 horas y 7 días. A cada animal se le extrajo el hígado, los pulmones y una muestra de 2 g de músculo esquelético de los miembros posteriores. La mitad de cada muestra fue procesada por la técnica de digestión péptica y la otra mitad por la técnica de Baermann.

La digestión péptica fue realizada según la técnica descrita por Nakamura, [8], modificándose el tiempo de incubación a 1 hora.

Para realizar la técnica de Baermann se colocó la fracción indicada de cada muestra en contacto con 25 mL de solución fisiológica, incubándolas en estufa a $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ durante 24 horas.

Los sedimentos obtenidos por ambos métodos se observaron con microscopio óptico (100X) para contar el número de larvas de tercer estadio (L3) presentes.

El análisis estadístico se realizó por medio del test t para comparaciones múltiples [15].

La recuperación acumulada neta de larvas de *T. canis* se estimó como la proporción del inóculo – descontando la pérdida por vía digestiva de huevos larvados – identificado en hígado y pulmón hasta las 48 horas p.i.

RESULTADOS

En la experiencia con ratones inoculados con 1000 huevos obtenidos de materia fecal recolectada del ambiente (lote I), el número de huevos larvados del inoculo eliminados por vía digestiva fue, en promedio, 234 ± 3 huevos por ratón hasta las 24 horas p.i.

En la TABLA I se presentan los resultados promedio de recuperación de larvas de *T. canis* por digestión péptica. Se observaron larvas en hígado desde las 12 y hasta las 48 horas (p.i.). El recuento máximo se obtuvo entre las 36 y 48 horas p.i. (100 ± 18 larvas). En los pulmones se detectaron a partir de las 48 horas y hasta las 72 horas p.i. (34 ± 12). En las muestras de músculo se recuperaron a los 7 días p.i. (100 ± 25).

Con la técnica de Baermann, TABLA III, se observaron larvas en hígado a las 36 horas p.i. (34 ± 12) y en los pulmones a las 96 horas (34 ± 12). No se observaron larvas en las muestras estudiadas de músculo.

Al comparar los resultados de recuperación de larvas por ambas técnicas, las diferencias fueron significativas ($P:0,03$) a favor de la digestión péptica.

En la experiencia con ratones inoculados con 1000 huevos larvados, extraídos de hembras del parásito, obtenidos de caninos naturalmente infectados, el número de huevos larvados del inóculo eliminados por vía digestiva fue, en promedio,

TABLA I
RECUPERACIÓN DE LARVAS DE *T. CANIS* POR DIGESTIÓN PÉPTICA, EN RATONES INOCULADOS CON 1000 HUEVOS LARVADOS OBTENIDOS DE MATERIA FECAL

Muestra	Tiempo Post -Inoculación						
	12 hs	24 hs	36 hs	48 hs	72 hs	96 hs	7 días
Hígado	75 ± 12	50 ± 12	100 ± 18	100 ± 18			
Pulmón				34 ± 12	33 ± 12		
Músculo							100 ± 25

Lote I: 28 animales (expresado en número de larvas- media ± error standard).

233 5 huevos por ratón hasta las 24 horas p.i., valor semejante al encontrado en el lote (I).

En la TABLA II se presentan los resultados promedio de recuperación de larvas de *T. canis* por la técnica de digestión péptica. Se observaron larvas en hígado desde las 12 y hasta las 96 horas p.i.. El recuento máximo se obtuvo a las 24 horas p.i. (225 ± 23 larvas). En los pulmones se detectaron a partir de las 48 horas y hasta las 96 horas p.i., el recuento máximo fue de 134 ± 25 larvas a las 72 horas p.i.. En las muestras de músculo se recuperaron a los 7 días p.i. (234 ± 49).

Con la técnica de Baermann, TABLA IV, se observaron larvas en hígado a las 24 horas p.i. (100 ± 13). En los pulmones a las 48 horas (67 ± 16) y a las 96 horas p.i. (134 ± 25) y en las muestras de músculo esquelético a los 7 días p.i. (100 ± 17).

Al comparar los resultados de recuperación de larvas por ambas técnicas, las diferencias fueron significativas (P:0,02) a favor de la digestión péptica.

La recuperación acumulada neta de larvas en hígado y pulmón hasta las 48 hs p.i. fue de 46,8% cuando los huevos eran provenientes de materia fecal recolectada en el ambiente y de 89,1% cuando los huevos provenían de hembras del parásito.

DISCUSIÓN

En diversos estudios [4, 10] se han empleado, para detectar la migración de larvas de *T. canis*, las técnicas de digestión péptica y/o de Baermann. Sin embargo, en ningún trabajo se comparó la eficiencia de las mismas, por tal motivo, en la presente investigación se utilizaron ambos métodos, resultando más eficiente la técnica químico enzimática.

Tampoco se ha estimado la pérdida por vía digestiva de huevos larvados inoculados en esta especie. En este estudio, se ha demostrado que la pérdida del inóculo por dicha vía es semejante en los dos grupos experimentales.

Diversos trabajos han investigado la infectividad a través de la distribución de larvas de *T. canis* en ratones, con diferentes metodologías y resultados [6, 9]. Oshima [9], inocula 500 huevos larvados, previamente tratados con hidróxido de sodio (NaOH), recuperando a las 44 horas p.i. el 95% de larvas en hígado y pulmón y sólo el 45% cuando los huevos no fueron tratados. Kayes y Oaks [6], inoculan 1000 huevos larvados re-

cuperando entre el 27% y el 39% de larvas en los mismos órganos a los 7 días p.i. Estos resultados los atribuyen a la muerte y degradación de larvas en el huésped, considerando además que el tamaño del inóculo y el tiempo de infectación en el momento del sacrificio son factores que influyen en el porcentaje de recuperación.

Los tiempos de comienzo y máxima recuperación de larvas en hígado y pulmón en el estudio coincidieron con lo hallado por otros autores [2, 6], esto permitiría considerar que si bien el número de larvas recuperadas en el lote I fue inferior, ellas conservaron su capacidad de infectación. Sin embargo, no hallamos coincidencia al considerar el momento en que dejan de observarse larvas en los referidos órganos. El menor número de larvas infectivas podría influir en la sensibilidad de las técnicas empleadas.

En el presente estudio, la recuperación acumulada neta de larvas en el hígado y pulmón a las 48 horas p.i. fue de 46,8% cuando los huevos eran provenientes de materia fecal recolectada en el ambiente y de 89,1% cuando los huevos provenían de hembras del parásito, indicando la disminución del potencial infectivo observado en los huevos de *T. canis* colectados en paseos públicos.

CONCLUSIONES

Se estudió la eficiencia para detectar la migración de larvas de *T. canis* en las técnicas de digestión péptica y de Baermann, resultando más eficiente la técnica químico enzimática.

También, se ha demostrado que la pérdida por la vía digestiva de huevos del parásito inoculados es estable e independiente del origen del mencionado inóculo.

El número de larvas recuperadas en órganos de ratones inoculados con huevos de *T. canis* obtenidos de materia fecal recolectada en el ambiente, fue menor que el logrado en ratones inoculados con huevos obtenidos de hembras adultas del parásito. Estos resultados sugieren una disminución del potencial infectivo de los huevos de *T. canis* presentes en las deposiciones de caninos recogidas del ambiente. Estos resultados señalan la necesidad de medir el grado de influencia de todos y cada uno de los factores ambientales (luz, temperatura, humedad, aire) para estimar el riesgo de transmisión de esta en-

TABLA II
RECUPERACIÓN DE LARVAS DE *T. CANIS* POR DIGESTIÓN PÉPTICA, EN RATONES INOCULADOS CON 1000 HUEVOS LARVADOS OBTENIDOS DE HEMBRAS DEL PARÁSITO

Muestra	Tiempo			Post - Inoculación			
	12 hs	24 hs	36 hs	48 hs	72 hs	96 hs	7 días
Hígado	150 ± 21	225 ± 23	75 ± 12	200 ± 13	50 ± 11	25 ± 8	
Pulmón				34 ± 12	134 ± 25	100 ± 25	
Músculo							234 ± 49

Lote II: 28 animales (expresado en número de larvas- media ± error standard).

TABLA III
RECUPERACIÓN DE LARVAS DE *T. CANIS* POR TÉCNICA DE BAERMANN, EN RATONES INOCULADOS CON 1000 HUEVOS LARVADOS OBTENIDOS DE MATERIA FECAL

Muestra	Tiempo			Post - Inoculación			
	12 hs	24 hs	36 hs	48 hs	72 hs	96 hs	7 días
Hígado			34 ± 12				
Pulmón						34 ± 12	
Músculo							

Lote I: 28 animales (expresado en número de larvas- media ± error standard).

TABLA IV
RECUPERACIÓN DE LARVAS DE *T. CANIS* POR TÉCNICA BAERMANN, EN RATONES INOCULADOS CON 1000 HUEVOS LARVADOS OBTENIDOS DE HEMBRAS DEL PARÁSITO

Muestra	Tiempo			Post - Inoculación			
	12 hs	24 hs	36 hs	48 hs	72 hs	96 hs	7 días
Hígado		100 ± 13					
Pulmón				67 ± 16		134 ± 25	
Músculo							100 ± 17

Lote II: 28 animales (expresado en número de larvas- media ± error standard).

fermedad en áreas urbanas donde esos factores se hallan presente con diferentes características.

AGRADECIMIENTO

Este estudio fue realizado con fondos del subsidio VE056 otorgado por Secretaria de Ciencia y Técnica, UBA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AGNIORTHY, R.K.; BHATIA, B.B.; KUMAR, D. Visceral larva migrans. 1. Migratory behaviour of *Toxocara canis* larvae in golden hamster and chicken. **Indian J. An. Sci.** 57(8):853-855, 1987.
- [2] BASUALDO, FARJAT, J.; MINVIELLE, M.C.; PEZZANI, B.C.; NIEDFELD, G. Relationship between parasitological inoculum and immunological parameters in experimental toxocariasis. **Zbt. Bakt.** 282:465-473,1995.
- [3] DEGREGORIO, O.J.; SOMMERFELT, I.E.; DE COUSANDIER, A.S.; LÓPEZ, C.M.; FRANCO, A.J. Estudio sobre la evolución de huevos de *Toxocara canis*. **Avances en Ciencias Veterinarias.** Chile, XXIII: 14-17,1997.
- [4] GREVE, J.H. Age resistance to *Toxocara canis* in ascarid-free dogs. **Am. J. Vet. Res.** 32 (8):1185-1192,1971.
- [5] HELWIGH, A.B.; LIND, P.; NAMSEN, P. Visceral larva migrans: migratory pattern of *Toxocara canis* in pig. **Int. J. Parasitol.** 29: 559-565, 1999.
- [6] KAYES, S.G.; OAKS, J.A. Effect of inoculum size and length of infection on the distribution of *Toxocara canis* larvae in the mouse. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 25 (4): 573-580,1976.
- [7] KEUM-TAE, L.; HONG-KI, M.; CHIN-THACK, S. Transplacental migrations of *Toxocara canis* larvae in experimentally infected mice. **J. Parasitol.** 53(5):460-465,1976.
- [8] NAKAMURA, S.; SOTOYAMA, T.; HAYASAKA, S.; KAMEYAMA, Y.; MARUYAMA, S.; KATSUBE, Y. Parasitism of *Toxocara canis* larvae in Japanese Quails by inoculation of ascarid eggs. **J. Vet. Med. Sci.** 53(5): 865-872, 1991.

- [9] OSHIMA, T. Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations on the normal migration routes of the larvae. **J. Parasitol.** 47(4):652-656, 1961.
- [10] PARSONS, J.C.; BOWMAN, D.D.; GRIEVE, R.B. Pathological and haematological responses of cats experimentally infected with *Toxocara canis* larvae. **Int. J. Parasitol.** 19(5): 479-488, 1989.
- [11] QUINN, R.; SMITH, H.V.; BRUCE, R.G. Studies on the incidence of *Toxocara* and *Toxascaris spp.* ova in the environment. 1. A comparison of flotation procedures for recovering *Toxocara spp.* ova from soil. **J. Hyg.** 84:83-89. 1980.
- [12] SCHANTZ, P.M.; GLICKMAN, L.T. Ascaridos de perros y gatos: un problema de Salud Pública y Medicina Veterinaria. **Bol. Of. Sanit. Panam.** 94(6): 571-585, 1985.
- [13] SOMMERFELT, I.E.; DEGREGORIO, O.J.; BARRERA, M.; GALLO, G.; BETTI, A. Contaminación ambiental urbana con huevos de endoparásitos de origen animal. **Vet. Arg.** XII (107): 457-561, 1994.
- [14] SOMMERFELT, I.E.; DEGREGORIO, O.J.; ALVAREZ, A. GALLO, G.; FRANCO, A.J. Viabilidad de huevos de *Toxocara canis*. **Rev. Med. Vet.** (Bs. As.), 77(4): 302-304, 1996.
- [15] STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. Bioestadística: Principios y Procedimientos. Editorial **Mc.Graw-Hill**. 2ª Edición, 580 pp., **New York**. 1980.