



Universidad Autónoma del Estado de México
Centro Universitario UAEM Amecameca
Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Determinación de los niveles de anticuerpos de *Toxocara canis* en equinos del rastro de San Vicente, Chicoloapan, Estado de México.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MEDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA

Presenta:

Montserrat Vargas Morellano

Director:

Dr. Camilo Romero Núñez.

Amecameca, Estado de México

2015

DEDICATORIA.

Al creador de todas las cosas, el que me ha dado la fortaleza para continuar cuando a punto de caer he estado; por ello, con toda la humildad que de mi corazón puede emanar, dedico primeramente mi tesis a Dios.

De igual forma, dedico esta tesis a quienes me enseñaron a ser la mujer que hoy soy, por tantas lecciones aprendidas, por permitirme ser parte de esta gran familia con la cual he podido compartir mi vida. A cada miembro que con orgullo forma parte de mi familia. Gracias.

A Víctor I. Vargas, el hombre que me dio vida, una persona honesta, sobre todo un gran ejemplo a seguir, de dedicación, de fuerza y responsabilidad. Gracias por enseñarme a no darme por vencida, y sobre todo gracias por cada sacrificio que hiciste para que esto se pudiera realizar. Te admiro papá.

A Ma. Bibiana Morellano, mujer de pocas palabras, pero con tanto que admirar, una persona dedicada, respetuosa y sobretodo la mujer que me dio la vida. Gracias madre por ser quien eres, por ser mi apoyo y por cada esfuerzo que has tenido que hacer para poder concluir una de mis metas. Te amo mamá.

Gracias padres por estar ahí, por apoyarme en mis desvelos y por hacerme feliz día a día. Los amo.

A mis hermanos; Víctor Alejandro y Jani Sofía, que con su apoyo incondicional, me han enseñado el valor de la hermandad, el sentido de salir adelante. Gracias por cada palmada, en el momento indicado. Los amo.

A mis abuelitas, una base fundamental de mis enseñanzas y educación. Ellas que nunca han cuestionado mis decisiones, ellas que saben escuchar.

A mis tíos y primos por apoyarme y enseñarme que cuando se quiere, se puede lograr lo que uno desee.

A mis amigos y profesores que me enseñaron el valor del aprendizaje y la educación.

Gracias a cada uno de ellos.

AGRADECIMIENTOS.

A mi director de tesis y amigo, el Dr. Camilo Romero Núñez por enseñarme el valor de este gran arte, permitiéndome ser parte de su equipo de trabajo. Por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia en un marco de confianza, afecto y amistad. Fundamentales para la creación de este trabajo. El un gran Médico Veterinario.

A cada uno de mis amigos que se han convertido parte de mi gran familia de médicos, ellos quienes me apoyaron en las desveladas, quienes me enseñaron el valor de la palabra equipo. Gracias por cada alegría, tristeza y aprendizaje a su lado.

A toda mi familia que me apoyo en este gran proceso y que nunca me ha dejado.

Gracias a cada individuo que ha formado parte de mi enseñanza y aprendizaje.

Aunque en la mayoría de las veces parece que estuviéramos en una batalla, hay momentos en los que la guerra cesa y nos unimos para lograr nuestros objetivos.

Gracias.

ÍNDICE

	PÁGINA
Resumen	
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Definición	3
2.2 Descripción del parásito	5
2.2.1 <i>Toxocara</i> spp.....	6
2.2.2 <i>Toxocara canis</i>	7
2.2.3 Clasificación taxonómica de <i>Toxocara</i> spp	8
2.2.4 Morfología de <i>Toxocara canis</i>	8
2.2.5 Huevos	9
2.2.6 Larva	10
2.2.7 Parásitos adultos.....	12
2.2.8 Ciclo biológico	13
2.2.9 Ciclo natural	15
2.2.10Ciclo Accidental	16
2.2.11 Ciclo biológico en hospedero paraténicos	16
2.2.12. Transmisión del parasito	17
2.3 Definición de Toxocariosis.....	17
2.3.1 Tipos de Toxocariosis	18
2.3.1.1 Larva <i>migrans</i> visceral (LMV)	19
2.3.1.2 Larva <i>migrans</i> ocular (LMO)	19
2.3.1.3 Neurotoxocariosis	20
2.3.1.4 Toxocariosis encubierta.....	20
2.3.2. Hallazgos patológicos de toxocariosis	21
2.3.3 Respuesta inmune a parásitos	21
2.3.4 Antígenos de excreción secreción de <i>Toxocara</i>	23

2.3.5 Respuesta inmune a larvas de <i>Toxocara</i>	24
2.3.6 Hallazgos clínicos.....	26
2.4. Diagnóstico.....	27
2.4.1 Serología.....	27
2.4.2 ELISA.....	28
2.4.3. Diagnóstico de Toxocariosis ocular.....	29
2.4.4. Diagnóstico de Toxocariosis por imagen.....	29
2.5 Epidemiología.....	29
2.6 <i>Toxocara</i> en México.....	30
2.7 Factores de riesgo.....	30
2.8 Toxocariosis en hospedadores paraténicos.....	32
2.9 Ganado Equino	34
2.9.1 Aspectos generales	34
2.9.2 Carne de caballo	34
2.9.3 Comercio exterior de carne de caballo	37
3.PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	38
4.JUSTIFICACIÓN	40
5. HIPÓTESIS	42
6. OBJETIVOS.....	43
6.1 Objetivo General	43
6.2 Objetivo Específico	43
7. METODOLOGÍA	44
7.1 Ubicación Geográfica	44
7.2 Sujetos a estudiar.....	44
7.2.1. Criterios de inclusión	45
7.2.2 Criterios de exclusión	45
7.2.3. Determinación de edad de caballos por dentición	45
7.2.4. Determinación de condición corporal.....	45

7.3 Muestras	46
7.4 Diagnóstico serológico	46
7.5. Análisis estadístico.....	46
8. RESULTADOS	47
9. DISCUSIÓN	51
10. CONCLUSIONES.....	53
11. RECOMENDACIONES.....	54
12. BIBLIOGRAFÍA.....	55

Resumen.

Toxocariosis es una infección por larvas de los parásitos *Toxocara canis* (asociado con perros) o *Toxocara cati* (asociado con gatos). *Toxocara canis* es un ascárido que, en estado adulto, vive en el intestino delgado del perro doméstico y de varios cánidos silvestres, en tanto que el hábitat definitivo de *T. cati* es en el intestino delgado del gato. La infección humana por *Toxocara canis* se produce por la ingestión de huevos embrionados a partir del contacto con suelos infectados, por geofagia, por manos mal lavadas, por onicofagia y en menor proporción por el consumo de vegetales contaminados. También ha sido descrita la infección a partir de carnes poco cocinadas procedentes de hospedadores paraténicos y recientemente se demostró que el contacto directo con el pelaje de perros infectados podría constituir una vía válida de adquisición de la Infección. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar la presencia de anticuerpos contra *Toxocara canis* mediante la prueba de ELISA en equinos del Rastro de San Vicente, Chicoloapan, Edo. De México. Se tomaron 94 muestras sanguíneas en equinos en el rastro de San Vicente, Chicoloapan, Estado de Mexico, las cuales fueron analizadas por medio de un diagnostico serológico llamado ELISA. En el cual se evaluaron los niveles de anticuerpos anti-*Toxocara canis*. Los resultados del presente estudio muestran una positividad a anticuerpos contra *Toxocara canis* en equinos del rastro de San Vicente Chicoloapan, Estado de México del 75.54% con mayor presencia de anticuerpos en hembras (40.43%) comparada con los machos (35.11), así como animales adultos (61.70%) y animales de condición corporal de 3.5 (7), lo que ponemos como manifiesto que los equinos son hospederos paraténicos de *Toxocara canis* y pueden ser una fuente de contaminación para los humanos y otros animales.

Palabras clave: toxocariosis, *Toxocara canis*, hospederos paraténicos, anticuerpos.

1. INTRODUCCIÓN.

Zoonosis (Del griego *zoon*: animal) son enfermedades infecciosas transmisibles desde animales vertebrados al ser humano bajo condiciones naturales. Los agentes infecciosos involucrados incluyen bacterias, virus, parásitos, hongos y rickettsias, entre otros (Dabanch, 2003).

Toxocariosis es una infección por larvas de los parásitos *Toxocara canis* (Asociado con perros) o *Toxocara cati* (Asociado con gatos). Esta infección es considerada como problema de salud mundial y es relativamente frecuente en zonas de climas templados y tropicales de todos los continentes, se asocia con la presencia de huevos de *Toxocara* en el medio ambiente (Maguiña *et al.*, 2004). *Toxocara canis* es un ascárido que, en estado adulto, vive en el intestino delgado del perro doméstico y de varios cánidos silvestres, en tanto que el hábitat definitivo de *T. cati* es en el intestino delgado del gato (Delgado y Rodríguez, 2009).

La infección humana por *Toxocara canis* se produce por la ingestión de huevos embrionados a partir del contacto con suelos infectados, por geofagia, por manos mal lavadas, por onicofagia y en menor proporción por el consumo de vegetales contaminados. También ha sido descrita la infección a partir de carnes poco cocinadas procedentes de hospedadores paraténicos y recientemente se demostró que el contacto directo con el pelaje de perros infectados podría constituir una vía válida de adquisición de la Infección (Alonso *et al.*, 2004).

El ciclo biológico del *Toxocara canis* tiene como hospedador al perro. El hombre se comporta como hospedador intermediario accidental. El desarrollo del parásito en el perro depende fundamentalmente de la edad del animal. El hábitat de *T. canis* adulto es el intestino delgado del cachorro

(Menor de 2 meses de vida) y por medio de la materia fecal elimina los huevos. Estos huevos se embrionan en el medio ambiente, siempre que las condiciones sean favorables, transformándose en infectantes. Por lo tanto, los individuos infectados no pueden pasar la infección a otros individuos (Ferrero *et al.*, 2014).

El diagnóstico definitivo de la enfermedad puede lograrse por medio de la detección de la larva en el tejido afectado; además, la infección se puede detectar con una prueba sanguínea (ELISA) para buscar anticuerpos (Maguiña *et al.*, 2004).

2. ANTECEDENTES.

La toxocariosis representa una enfermedad zoonótica causada por nematodos comúnmente presentes en el intestino de los perros (*Toxocara canis*) y gatos (*T. cati*), siendo *T. canis* el principal causante de la toxocariosis en humanos (Breña *et al.*, 2011).

Sus hospedadores definitivos son el perro y el gato doméstico, en el que viven como adultos dentro el lumen del intestino delgado. La infección puede ocurrir por el sede de la ingestión de huevos embrionados, viables de estar contaminados (Por ejemplo, el suelo y las lombrices de tierra, etc.), o se pueden adquirir la infección en el útero (Es decir, por vía transplacentaria) (Despommier, 2003).

La toxocariosis tiene una distribución cosmopolita en el mundo, considerándosele endémica en la mayor parte de los países de América, África y Asia (Delgado y Rodríguez, 2009).

La elevada prevalencia y gran variedad de manifestaciones clínicas de las parasitosis zoonóticas representan un problema de gran importancia en lo que respecta a la salud pública, como es el caso de *Toxocara* adulto, las hembras son responsables de la ovoposición, y a su vez de la contaminación del suelo, agua y alimentos, entre otras cosas, pero es la directamente causante del síndrome de la larva *migrans*, y que afecta al hombre siendo la causa principal del síndrome de larva *migrans* visceral las cuales penetran a la mucosa y pueden llegar por circulación portal al hígado y por el sistema venoso al pulmón (Young *et al.*, 2010).

2.1. Definición

Es importante comprender el término zoonosis (Del griego *zoon*: animal), para ello, Dabanch, 2003, menciona que son enfermedades infecciosas transmisibles desde animales vertebrados al ser humano bajo condiciones naturales. Una vez entendiendo este concepto podemos hablar de

parásitos, los cuales son uno de los posibles grupos etiológicos de las enfermedades zoonóticas, dejando de lado a las bacterias, virus, entre otros (Vargas *et al.*, 2004).

Los parásitos pertenecientes al reino animal, viven dentro o encima de otro organismo y a expensas de este (Hospedero), existiendo entre ellos una relación coevolutiva parásito-hospedero, es decir, se generan respuestas adaptativas recíprocas a los cambios genéticos, lo que permite la colonización del parásito en el hospedero (Sánchez, 2005). Dentro de los parásitos existe un grupo denominado helmintos (Del griego *elmins*, gusano), los cuales son una fuente potencial de infestación para el hombre (Tortolero *et al.*, 2008), éstos solo pueden desarrollarse y almacenarse a través del hospedador pero nunca se dividen dentro de él (Aguilar *et al.*, 2002); en este grupo se encuentra el *Phylum* de los llamados nematodos, conocidos también como gusanos redondos o nematelmintos, son animales pequeños (Muchas de las especies miden entre 1 mm y 5 cm), delgados, cilíndricos, no segmentados, cuentan con un aparato digestivo completo (Boca y ano), además se encuentren recubiertos por una cutícula proteica. La hembra adulta de estos parásitos es por lo general más grande que el macho. Éstos tienen una reproducción sexual, donde la hembra y macho copulan y así la hembra ovoposita en el intestino de su hospedero (Olushola *et al.*, 2010).

Toxocara canis es un nematodo gastrointestinal con alta prevalencia de infección en perros y otros canidos (Holland y Smith, 2006) se ha reportado en perros de México (Romero *et al.*, 2011) y en otros lugares del mundo (De la Fé *et al.*, 2006). El cuadro clínico de la infección de las formas adultas de *T. canis* en cachorros, se puede presentar ocasionando problemas digestivos (Muñoz *et al.*, 2010), afectando su desarrollo e incrementando la mortalidad. En estado adulto, vive en el intestino delgado del perro doméstico (*Canis lupus familiaris*) y hospedadores paraténicos

(Roedores, cerdos, aves, humanos, etc.) las larvas se pueden encontrar en estado de latencia en diferentes órganos: hígado, riñones, pulmones, músculos, ojos y cerebro (De la Fé *et al.*, 2006). Los perros infectados con *T. canis*, pueden arrojar un gran número de huevos en el ambiente pudiendo causar infección en perros y otros hospedadores paraténicos (Keegan *et al.*, 2010).

La importancia de este parásito no es solo por sus repercusiones en perros, sino porque también es una causa importante de zoonosis (Muñoz *et al.*, 2010). La infección con *Toxocara* fue descrita por primera vez en el ser humano, por Wilder en 1950, identificando una larva de una especie de nematodo desconocido en un granuloma retinal de un niño; reportaron un caso similar en un grupo de pacientes que presentaban eosinofilia y enfermedad multisistémica (Despommier, 2003), describiendo así las características de la larva *migrans* visceral (LMV) (Archelli y Kozubsky, 2008). Con ayuda de un análisis histopatológico de biopsias clasificaron correctamente a los agentes etiológicos de esta patología *Toxocara canis* y *Toxocara cati* (Despommier, 2003).

2.2. Descripción del parásito.

Los helmintos en su edad adulta tienen diferentes tamaños, cuerpo cilíndrico no segmentado (Archelli y Kozubsky, 2008), poseen diferentes ciclos de vida y se desarrollan en diversas condiciones ambientales, en el caso de las hembras de *T. canis* pueden llegar a tener una longitud de hasta 18 cm en perros (Laforé, 2005).

Una característica anatómica del parásito adulto es que en su extremo cefálico se hallan los labios, que algunas veces tienen protuberancias dentiformes. Estos vermes se reproducen por medio de ovoposición; la hembra tiene la capacidad de alojar dentro del hospedador

definitivo (Perro) cerca de 200 000 huevos por día (Archelli y Kozubsky, 2008) los cuales son excretados en las heces de dicho hospedador.

Los huevos de helmintos representan uno de los grupos de mayor resistencia a diversas condiciones ambientales (Menocal *et al.*, 2004), estos miden entre 75 a 90 μm de diámetro, son semejantes a los de *Áscaris* y no están embrionados cuando salen a través de las heces de los cánidos infectados (De la Fé *et al.*, 2006), necesitan madurar en el medio exterior durante varias semanas antes de ser infecciosos (Overgaauw *et al.*, 2009). Se ha observado que los huevos de *T. canis* evolucionan a su estadio infectante según las condiciones de temperatura, humedad y aireación (Degregorio *et al.*, 1997). Un reservorio natural es el suelo, que juega un papel importante en la zoonosis de este padecimiento, es allí donde en algunas semanas y dependiendo de la temperatura, los huevos desarrollan en su interior larvas infectivas (Archelli y Kozubsky, 2008), el huevo puede pasar al segundo estadio juvenil (L2) y tercer estadio juvenil (L3), además de que podrían permanecer viables durante algún periodo de tiempo (hasta 3 años) (Despommier, 2003).

Los huevos fértiles larvados de *T. canis* pueden mantenerse viables por varios meses e incluso por años; son resistentes a los factores ambientales, pueden permanecer infectantes en suelo húmedo y temperatura templada; también, soportan la desecación por su cubierta resistente (Huapaya *et al.*, 2009).

2.2.1 *Toxocara* spp.

Toxocara pertenece a un género de ascárido enteroparásito de animales, capaz de infectar accidentalmente al hombre, pudiendo producir una severa enfermedad (Archelli y Kozubsky, 2008). Algunas de las especies involucradas son *Toxocara canis* (*T. canis*) el cual tiene como hospedero definitivo al perro, *Toxocara cati* (*T. cati*) del gato (Okulewicz *et al.*, 2012),

Toxocara vitulorum (*T. vitulorum*) del bovino (Archelli y Kozubsky, 2008), *Toxocara malayasiensis* (*T. malayasiensis*) y *Toxocara lyncis* (*T. lyncis*) que puede infectar a grandes felinos (Gibbons *et al.*, 2001). Siendo la primera la más importante por su frecuencia en humanos (Archelli y Kozubsky, 2008).

2.2.2. *Toxocara canis*

Se transmiten por lo común, al ingerirse pasivamente por los huevos embrionados que se encuentran contaminando suelos, fómites y/o alimentos, incluso en el pelo de los cachorros (Cazorla *et al.*, 2007). La infección se adquiere por contacto con los huevos fértiles larvados del parásito, que pueden persistir como infectantes hasta años, en suelo húmedo y temperatura templada; también, soportan la desecación debido a la cubierta que presentan una capa externa acelular, una cascara gruesa rugosa (Huapaya *et al.*, 2009).

Las hembras adultas de *Toxocara* spp, poseen huevos con una cubierta densa y compleja la cual los protege de diversos procesos ambientales por varios años, siempre y cuando se encuentren en sitios con condiciones ambientales favorables; los huevos de *Toxocara* spp necesitan temperaturas de - 29°C siempre y cuando se encuentren enterrados bajo nieve, a una temperatura ambiental de 56 °C enterrados en la arena a 3 cm de profundidad y pueden vivir por más de un año en composta, los huevos son sensibles a la luz solar a 37°C, a tratamientos de choque térmico, por ejemplo un enfriamiento rápido a - 40°C y un calentamiento a 40°C, tratamiento aeróbico y anaeróbico de aguas residuales, temperaturas elevadas, ultrasonidos, radiación UV o exposición continua a la obscuridad, en laboratorio puede vivir en formol al 40 % por 8 días (Maizels *et al.*, 2006).

A continuación se exponen las especies de *Toxocara* reportadas hasta la actualidad en diversas especies animales: *T. canis*, *T. vitulorum*, *T. cati*, *T. alienata*, *T. cynonycterides*, *T. elephantis*, *T. hippopotami*, *T. pearcei*, *T. pteropodis*, *T. suricattae*, *T. tanuki*, *T. manzadiensis*, *T. apodemi*, *T. mackerrasae*, *T. paradoxura*, *T. canarisi*, *T. vincenti*, *T. genettae*, *T. sprengi*, *T. vajrasthira*, *T. warreni*, *T. indica*, *T. lyncis* y *T. malaysiensis* (De la Fé et al., 2006).

2.2.3. Clasificación taxonómica de *Toxocara* spp.

La clasificación taxonómica de *Toxocara* se encuentra a continuación y es una adaptación de la descrita De la Fé et al, (2006).

Reino: Animalia

Rama: Helminta

Subrama: Nemathelminta

Clase: Nematoda

Subclase: Adenophorea

Orden: Ascaridida

Superfamilia: Ascaridoidea

Familia: Ascarididae

Género: *Toxocara*

Especie: *Toxocara canis*, *Toxocara cati*

Aunque se han descrito en el mundo más de treinta especies de *Toxocara* (De la Fé et al., 2006), las que se han reportado en el perro principalmente son *T. canis* y *T. cati* (Chen et al., 2012).

2.2.4. Morfología de *Toxocara canis*.

Las especies del género *Toxocara* pueden ser distinguidas entre sí teniendo como base la morfología de los labios, las aletas cervicales, longitud de las espículas y las características del aparato reproductor femenino (Degregorio et al., 1997). Una característica común de *Toxocara*

es que se reproducen por medio de huevos los cuales son diferentes en forma y tamaño (De la Fé *et al.*, 2006).

Toxocara canis es el ascarídeo de los perros domésticos (*Canis familiaris*). Su morfología es similar a la del nemátodo *Ascaris lumbricoides*, los machos adultos miden de 4 a 10 cm de longitud y las hembras de 6,5 a 18 cm de longitud. Los huevos miden aproximadamente 85 x 75 µm, son de mayor tamaño que los de *Ascaris* (Que miden habitualmente 60 x 30 µm). Los huevos de *T. canis* no se encuentran en el ser humano, sólo en las heces de los perros y en suelos contaminados (Delgado y Rodríguez, 2009).

2.2.5. Huevos.

Los huevos de helmintos representan uno de los grupos de mayor resistencia a diversas condiciones ambientales (Menocal *et al.*, 2004) y por ende, son un grupo indicador microbiológico de gran importancia.

Los huevos semejan los de *Ascaris lumbricoides*, pero son un poco más grandes y con la cubierta externa irregular; el protoplasma se aprecia con un aspecto granuloso y no están embrionados cuando salen a través de las heces de los cánidos infectados (De la Fé *et al.*, 2006). Necesitan embrionarse en el medio exterior en un período de 2 a 3 semanas, según las condiciones de humedad y temperatura. Los huevos miden entre 75 a 90 µm de diámetro, son casi esféricos y poseen inicialmente un cigoto; son de color marrón oscuro, no segmentado y su contenido ocupa prácticamente todo el espacio interno. La cubierta externa es rugosa y granulada y es resistente a los factores ambientales y pueden mantenerse viables por varios meses e incluso por años. Estos huevos requieren de temperatura, humedad, oxígeno y ausencia de luz solar directa para desarrollar larvas en su interior. Los huevos con una larva móvil en su interior, se pueden considerar infectantes (Acha *et al.*, 2003).

Las estructuras biológicas que rodean a los huevos, son unas capas de lo más resistentes, impermeables a varias sustancias, con la excepción de gases y solventes de lípidos, además de servir como etapa de crecimiento que resiste los riesgos ambientales más que en otras etapas, son tanto estructural como químicamente únicas. El origen tanto de la estructura como de la composición química de las diferentes capas que conforman a los huevos de helmintos constituye una gran incógnita. A pesar de ello, se identifican básicamente cuatro, las cuales tienen un espesor de 4.5 μm y que de adentro hacia fuera son: a) una capa interna de lípidos: resistente a la desecación, a la penetración de sustancias polares y responsable de la extrema impermeabilidad, b) una capa media quitinosa: mecánicamente rígida, c) una membrana vitelina, cuyo origen no es muy claro y d) una capa externa casi impermeable (Excepto para gases y solventes de lípidos). En ocasiones se presenta una quinta capa denominada uterina por ser segregada por ese órgano, la cual se observa en la parte más externa de algunos géneros (Brunanská, 1997).

Los huevos producidos por las hembras son eliminados junto con las heces del huésped, son resistentes a las condiciones del medio ambiente, siempre y cuando exista humedad. La evolución del huevo para desarrollarse a larva 2 (L2) en su interior, además de la humedad depende del oxígeno y temperatura (Alonso *et al.*, 2006). En su interior existe un embrión pigmentado oscuro, y posee una cutícula rugosa, gruesa y ornamentada, con pequeñas hendiduras o depresiones características, lo cual permite reconocerlos fácilmente (Tinoco *et al.*, 2008).

2.2.6. Larva.

Las larvas de *T. canis* son de color blanco brillante, de forma cilíndrica. Tienen una longitud aproximada de 0.4 micras (De la Fé *et al.*, 2006). La cavidad bucal, en posición subterminal y dorsalmente inclinada,

está rodeada de tres labios desarrollados, los cuales están presumiblemente implicados en la recolección de alimento y el anclaje a los tejidos durante la migración. Ligeramente anterior a los labios se sitúa una cápsula bucal superficial, cuyo margen ventral está formado por una cutícula fina, espinosa y afilada, en el extremo anterior de la larva se encuentran las papilas cefálicas. El aparato bucal se continúa en un esófago largo que ocupa un tercio de la longitud total de la larva. A nivel del primer tercio del esófago se sitúa un anillo nervioso muy marcado, mientras que en la posición subterminal se encuentra la célula excretora que desemboca en un poro excretor, situado entre ambas estructuras y desplazado hacia la primera; toda la porción periesofágica está ocupada por abundantes núcleos ganglionares (Maizels *et al.*, 2000).

El sistema digestivo tiene un tubo sencillo, que va de la boca al ano y se abre en la superficie ventral a poca distancia del extremo posterior; el sistema nervioso está formado por un anillo o comisura de ganglios interconectados alrededor del esófago, los nematodos no cuentan con sistema circulatorio. El esófago se prolonga en un intestino cilíndrico que desemboca en un ano, situado en posición subterminal, el primordio genital se encuentra en el último tercio y adosado a la pared intestinal (Olushola *et al.*, 2010).

Los órganos reproductores del macho se caracterizan por un tubo único enrollado en espiral (Testículos, vasos deferentes, vesículas seminales y conductos eyaculadores), el aparato copulador tiene una o dos espículas envainadas. En el caso de la hembra puede ser un tubo único o doble, formado por ovario, oviducto, receptáculo seminal, útero eyector de los huevos de la vagina (Quiroz, 2005).

2.2.7. Parásitos adultos.

Los helmintos en su edad adulta tienen diferentes tamaños, poseen diferentes ciclos de vida y se desarrollan en condiciones ambientales diversas (Despommier 2003).

Los adultos miden hasta 10 cm de largo; en el extremo anterior presentan alas cervicales mucho más largas que anchas (2,4 mm x 0,2 mm) que se van estrechando hacia atrás, lo que les da un aspecto de lanza. En el extremo cefálico se hallan los labios, que algunas veces tienen protuberancias dentiformes. Los machos suelen medir de 4 a 6 cm de largo por 2 a 2,5 mm de ancho. El extremo posterior tiene una forma característica de enrollado en espiral. Las hembras miden de 6,5 a 10 cm de largo por 2,5 a 3 mm de ancho. A diferencia del macho, la hembra presenta un extremo posterior romo (De la Fé *et al.*, 2006).

El cuerpo es fuerte y blanquecino, con estrías transversales irregulares, aletas cervicales estrechas y lanceoladas, que se extienden desde la extremidad anterior a lo largo de los márgenes laterales. Tiene los tres labios característicos de los ascáridos, presentan un bulbo formado por dos lóbulos laterales diferentes, separados por un canalículo, entre los cuales existe un lóbulo intermedio simple. Los lóbulos laterales se estrechan hacia la parte interior, terminando un proceso digitiforme que acaba de forma redondeada con pequeños dentículos. El orificio oral se abre en el centro de los labios y se continúa en un esófago (Gibbons *et al.*, 2001).

Es una especie relativamente grande, un gusano grueso de color blanquecino, los machos miden de 20-25cm y las hembras de 25-30 cm y producen de 8000 a 100.000 huevos por gramo de heces por día (Dávila *et al.*, 2010).

2.2.8. Ciclo biológico.

El hospedero definitivo (Perro y gato), puede infectarse vía oral por ingesta de huevos embrionados (Forma infectante), o de tejidos de hospederos paraténicos que contienen larvas, además se pueden infectar por migración transmamaria de larvas contenidas en la leche (Laforé, 2005), y en el caso de los perros, también por migración transplacentaria de larvas (Huapaya *et al.*, 2009). Cuando el perro ingiere los huevos infectantes, éstos pasan al duodeno, donde eclosionan liberándose larvas de segundo estadio (L2), las cuales quedan en libertad, atraviesan la pared intestinal, entran en la linfa y vasos sanguíneos (Huapaya *et al.*, 2009). En perros mayores de 6 semanas o adultos, las larvas no pueden completar su desarrollo y desde los pulmones llegan a la circulación arterial, localizándose principalmente en las vísceras (Chattha *et al.*, 2009).

Cuando los huevos son ingeridos por cachorros (De menos de 5 semanas de edad), las larvas atraviesan los alvéolos pulmonares, ascienden por la tráquea en un estadio de L3, llegan a la faringe donde son deglutidos, y arriban al intestino delgado, donde completan su desarrollo hasta alcanzar una etapa adulta (De la Fé *et al.*, 2006). Dicho desarrollo de los parásitos ocurre entre los 60 y 90 días post infección; estos copulan y se estima que la hembra ovipone 200 000 huevos/día, los cuales son arrastrados con el tránsito intestinal y eliminados a través de las heces del cachorro en una forma no infectiva (Schneider *et al.*, 2011).

En cuanto a las perras gestantes la larva de *T. canis* en estado latente, se reactiva en tejido del granuloma, esto ocurre por lo general en el último trimestre de la gestación, debido a una influencia hormonal; a su vez, estas larvas, junto con aquellas originadas de huevos recientemente ingeridos, migran hacia la placenta y vena umbilical, para después establecerse en el hígado fetal (Despommier, 2003). Posteriormente, las larvas migran a pulmones en el momento del nacimiento, para después

llegar a tráquea y estómago, finalmente pasan al duodeno en un periodo aproximado de 22 días después del nacimiento, que es cuando se empiezan a liberar huevos en las deposiciones. Poco después del parto las hembras vuelven a liberar huevos de *T. canis* en sus heces (Archelli y Kozubsky, 2008).

Los huevos liberados de las heces de los perros se tornan infectantes en el ambiente, siendo el suelo el reservorio natural (Cazorla *et al.*, 2007), donde después de una incubación de dos a cinco semanas se desarrolla la larva (L2) dentro del huevo (Archelli y Kozubsky, 2008). Las condiciones adecuadas para la embrionación de los huevos incluyen temperaturas cálidas (15–35°C), humedad relativa mayor al 85% y presencia de oxígeno. Los huevos de *T. canis* son muy resistentes, pueden sobrevivir en el ambiente de dos a tres años bajo las condiciones adecuadas (Despommier 2003). La capacidad de los huevos de permanecer viables durante periodos prolongados de tiempo en el ambiente se debe a la gran resistencia estructural de su cubierta (Gortari *et al.*, 2007).

El hombre es un hospedero accidental y se infecta con la ingesta de huevos embrionados de *Toxocara* a través de malos hábitos higiénicos además del consumo de agua contaminada y alimentos mal lavados, tales como frutas y vegetales (Alonso *et al.*, 2004). En este caso, el parásito sigue el mismo trayecto que en los perros adultos, los huevos eclosionan y liberan larvas en el intestino, que atraviesan la pared intestinal, alcanzando mediante los canales vasculares, cualquier tejido u órgano (Canese *et al.*, 2003). Al no ser el humano un huésped adecuado, las larvas no pasan de los tejidos a donde llegan, y jamás logran alcanzar la etapa de adultos pudiendo migrar durante meses e inclusive años, ocasionando reacciones inflamatorias locales o sistémicas según el órgano afectado (Despommier, 2003). La sintomatología del cuadro va a depender del tejido somático que haya sido afectado por este gusano (Huapaya *et al.*, 2009). Los órganos

más susceptibles son: hígado, pulmones, ojos y sistema nervioso central (SNC) (Santos *et al.*, 2009).

2.2.9. Ciclo Natural.

El ciclo natural del parásito se inicia con la presencia de formas adultas del nematodo en el lumen del intestino delgado del hospedero definitivo, perro o gato; es ahí donde la hembra del parásito produce hasta 200 000 huevos por día. Los huevos son excretados en las heces, las que son depositadas en la tierra, en donde se convierten en huevos larvados (Forma infectante) en un lapso de 1 a 2 semanas. Para la continuación del ciclo biológico se requiere que un segundo hospedero definitivo ingiera la forma infectante. Las larvas se liberan en el duodeno del nuevo hospedero, penetran la pared intestinal, y por vía hematógena llegan a los pulmones, donde pueden seguir dos vías diferentes según la edad del perro infectado. En los cachorros menores de 3 meses las larvas atraviesan los alvéolos pulmonares, ascienden a la faringe y son deglutidas para dar origen a los parásitos adultos en el intestino delgado, luego de lo cual el cachorro será un importante diseminador de huevos hacia el medio ambiente. En los perros adultos en cambio, las larvas llegan a la circulación arterial a partir del pulmón y se localizan en las vísceras donde se producen granulomas en los tejidos. Durante la preñez el estímulo hormonal induce la reactivación de las larvas, las que tras reingresar a la circulación atraviesan la placenta, provocando así la infección transplacentaria. Es por esto que algunos cachorros pueden contener estadios juveniles del parásito desde el nacimiento; los cuales alcanzan su madurez sexual hacia la tercera semana de edad, contaminando diariamente el medio ambiente con miles de huevos de *T. canis*. Se ha descrito además una la transmisión vertical de la toxocariosis por medio de leche de gatos adultos a crías de gato. (Breña *et al.*, 2011).

2.2.10. Ciclo Accidental

El hombre es el hospedero accidental de *Toxocara canis* o *Toxocara cati*. En este, a diferencia de lo que ocurre en los hospederos definitivos, los estadios juveniles del parásito no progresan a estadios adultos. La infección se inicia con la ingesta de huevos larvados, que se encuentran contaminando el suelo. En forma similar a lo que ocurre en los hospederos definitivos, los huevos larvados eclosionan en el intestino delgado, liberando las larvas, las cuales penetran la pared intestinal e ingresan a la circulación, a través de la cual migran hasta ubicarse en órganos como: hígado, pulmones, cerebro u ojos. La migración larvaria causa a su paso hemorragia, necrosis e inflamación, con predominio de eosinófilos. Dependiendo de la respuesta inmune del hospedero, las larvas pueden migrar por meses o años; o de lo contrario pueden ser encapsuladas en granulomas donde son capaces de permanecer en estado quiescente por varios años, o bien ser destruidas al interior del mismo por medio de una respuesta celular (Breña *et al.*, 2011).

2.2.11. Ciclo biológico en hospedero paraténicos

En todas las especies de hospederos paraténicos examinados, el principio general de la migración larval de *Toxocara canis* es comparable. Comúnmente, después de la ingestión de huevos embrionados, las larvas (L2) eclosionan en el estómago, penetran la pared intestinal, migran a través del sistema circulatorio hasta el hígado y pulmones donde la mayoría persisten; esta fase es conocida como hepato-pulmonar. En la fase visceral, las larvas migran a todos los órganos y persisten como larvas L3 (Etapa infecciosa) durante largos períodos.

Estas larvas pueden conducir a reacciones inflamatorias graves y a una amplia gama de manifestaciones clínicas y patológicas. Además, los hospedadores paraténicos infectados también constituyen una fuente potencial de infección para los hospederos definitivos (Strube *et al.*, 2013).

2.2.12. Transmisión del parásito

El modo de transmisión para la infección en huéspedes paraténicos como el hombre, es oral por la ingestión de huevos infectantes a partir de heces diseminadas (Principal fuente de contaminación en suelos) (Archelli y Kozubsky, 2008), por manos mal lavadas, onicofagia, consumo de vegetales contaminados y carne poco cocida (Alonso *et al.*, 2004), no transmitiéndose la infección de persona a persona (Archelli y Kozubsky, 2008).

Se ha estudiado la viabilidad de los huevos de *T. canis* obtenidos de hembras adultas del parásito y de materia fecal recién emitida de caninos infectados, además, se ha observado que la evolución a estadios infectantes depende de las condiciones de temperatura, humedad y aireación (Sommerfelt *et al.*, 2002). Otro modo de infección es en el útero (transplacentaria) a partir de las madres (Despommier, 2003). Los machos y hembras caninos de 20 días hasta el año de edad y las hembras mayores de un año en celo, preñez o lactancia, actúan como diseminadores de esta parasitosis (Archelli y Kozubsky, 2008).

Se ha demostrado la posibilidad de infección por contacto directo con el pelaje de perros (Keegan *et al.*, 2010). En algunos países ya se cuenta con aportaciones sobre *Toxocara spp.* y su presencia en el pelo de perro, lo que demuestra su importancia como medio de transmisión. En un estudio realizado por Wolfe y Wright (2003), se señala que la densidad de huevos encontrados es mayor a la hallada en estudios realizados sobre el suelo, además postulan que el contacto directo con el pelaje para la infección de toxocariosis podría ser más importante epidemiológicamente hablando que el contacto con el suelo contaminado.

2.3. Definición de toxocariosis.

La toxocariosis humana es una importante zoonosis (Roldan *et al.*, 2010).

Es una infección causada por los nematodos del género *Toxocara*, que incluye más de 30 especies; dos son importantes para el ser humano, *T. canis* y *T. cati*, parásitos intestinales de perros y gatos, respectivamente. La infección humana es accidental y los parásitos en el cuerpo humano no pueden completar su maduración (Huapaya *et al.*, 2009).

La toxocariosis, actualmente, es un problema más frecuente de lo que se consideraba debido al mayor número de perros en las ciudades, sobre todo los que viven en las calles. La vía de infección es generalmente oral por ingesta de huevos directamente de un parque contaminado o por transporte de los hospedadores. El suelo es el reservorio donde los huevos evolucionan a formas infectantes, segundo estadio juvenil para otros, pudiendo permanecer viables durante periodos de tiempo prolongados, de uno a tres años (Young *et al.*, 2010).

La toxocariosis fue descrita por Beaver y colaboradores en New Orleans en 1952; aunque Wilder en 1950 ya había reportado larvas de nematodos en ojos de niños del sudeste de EEUU, adjudicándolas como propias de Uncinarias (*Necator* o *Ancylostoma*). En 1956 Nichols realizó la individualización de las larvas de *Toxocara*. La parasitosis tiene una distribución mundial; en EEUU, por ejemplo, tiene presencia en todos los estados (Ferrero *et al.*, 2014).

2.3.1. Tipos de toxocariosis

La toxocariosis humana se encuentra entre las infecciones zoonóticas más comunes en todo el mundo. El agente causal es el parásito nematodo *Toxocara canis*, cuyo huésped definitivo es el perro, respectivamente.

El humano se infecta al ingerir los huevos embrionados de este parásito y aunque la mayoría de las infecciones en humanos son asintomáticas, existen cuatro síndromes, de los cuales dos están clínicamente bien definidos: Larva *Migrans* Visceral (Enfermedad particularmente entérica), Larva *Migrans* Ocular (Enfermedad limitada a los ojos y los nervios ópticos),

dos síndromes menos identificados se han descrito recientemente, Toxocariosis encubierta (Rubinsky-Elefant *et al.*, 2010) y Neurotoxocariosis (Finsterer *et al.*, 2007).

2.3.1.1. Larva *migrans* visceral (LMV)

La muerte de larvas puede iniciar una marcada respuesta de hipersensibilidad retardada e inmediata. Dicho proceso inflamatorio se puede poner de manifiesto como granulomas eosinofílicos. En ese sentido los órganos que parecen ser más afectados y susceptibles a las acciones de las larvas de *Toxocara*, son el hígado (Martínez *et al.*, 1998; Kaplan *et al.*, 2004; Damian *et al.*, 2010), pulmones (Stangogiannis *et al.*, 2007), sistema nervioso central (Pivetti, 2009) y el ojo (Stangogiannis *et al.*, 2007; Rubinsky *et al.*, 2010).

En infecciones intensas, particularmente en niños menores de 5 años, las larvas juveniles se presentan principalmente en el hígado, donde puede causar pocas o muchas lesiones miliares, pudiendo incluso producirse focos de necrosis (Despommier, 2003). Entre los signos observados más frecuentemente son los respiratorios (75.3%), los signos oculares le siguen en importancia, pero con menos frecuencia (15.7%), los hepáticos y de piel alcanzan el 3.4% y los correspondientes al sistema nervioso central el 2.2% (Wattahanakulpanich, 2010).

2.3.1.2. Larva *migrans* ocular (LMO)

La migración de larvas en humanos puede causar daño grave cuando esta migra a la retina. La toxocariosis ocular ha sido considerada como una causa importante de ceguera monocular infantil (Wattahanakulpanich, 2010); se encuentra asociada a la formación de un granuloma, que se relaciona con un estado temprano de retinoblastoma, induciendo la pérdida total o parcial de la visión en uno o ambos ojos. Otros signos menos

comunes incluyen endoftalmitis, uveítis, hipopión, absceso vítreo, neuritis óptica, queratitis o estrabismo secundario (Luzna, 2000).

La retina es la estructura ocular mayormente afectada, cuya primera manifestación es una edematización, que avanza a medida que se prolonga el tiempo de la infección, hasta llegar finalmente a una disgregación de sus capas, una vez desorganizados todos los elementos celulares constituyentes. Estas alteraciones se acompañan de una congestión de los vasos de la retina y hemorragia extensa, principalmente a nivel del espacio subretiniano y retrolental (Luzna, 2000; Watthanakulpanich, 2010).

2.3.1.3. Neurotoxocariosis

Las manifestaciones neurológicas de larvas *Toxocara canis* son raras, pero son un importante diagnóstico diferencial de diversos trastornos neurológicos. Manifestaciones del sistema nervioso central son la demencia, meningoencefalitis, mielitis, vasculitis cerebral, epilepsia, o neuritis óptica. Manifestaciones del sistema nervioso periférico comprenden radiculitis, afección de los nervios craneales (Finsterer *et al.*, 2007) y vasculitis cerebral (Helbok *et al.*, 2007).

Si se detecta y trata a tiempo las manifestaciones neurológicas, el pronóstico es favorable.

Pruebas serológicas para anticuerpos *Toxocara* no son útiles para el seguimiento de la evolución de la enfermedad, ya que pueden permanecer positivos durante meses o años, incluso después de la recuperación clínica (Finsterer *et al.*, 2007).

2.3.1.4. Toxocariosis encubierta

Se denomina toxocariosis encubierta a la manifestación clínica que no cae en la categoría LMV o LMO, presentan una serie de signos y síntomas comparativamente no específicos, pero reconocibles, asociados a títulos

elevados de anticuerpos anti-*Toxocara*. Estos incluyen anorexia, dolor abdominal, náuseas, vómito, hepatomegalia, esplenomegalia, letargo, debilidad, dolor en miembros, tos, asma, adenitis cervical y faringitis. La toxocariosis asintomática es comúnmente diagnosticada por inmunoserología positiva y no requiere tratamiento antihelmíntico (De Visser *et al.*, 2008; Helsen *et al.*, 2011).

2.3.2. Hallazgos patológicos de toxocariosis

Las manifestaciones clínicas y patológicas son el resultado de los daños mecánicos ocasionados por las larvas durante su activa migración por los tejidos y de la respuesta inmunológica estimulada por la presencia de las larvas en los tejidos infectados (Colli *et al.*, 2010). La intensidad de la enfermedad depende del grado de invasión hística, número de larvas y sensibilización del hospedero (Archelli *et al.*, 2008). En un inicio la inflamación alrededor de la larva es mínima, posteriormente hay una reacción granulomatosa inflamatoria eosinofílica intensa, seguida por encapsulación fibrosa de la larva (Huapaya *et al.*, 2009). Los órganos afectados con mayor frecuencia son: hígado, pulmones, cerebro, ojos, ganglios, riñones, corazón y bazo, entre otros (De la Fé *et al.*, 2006). Las localizaciones oculares más frecuentes son en el segmento posterior; puede producirse endoftalmitis, lesiones granulomatosas que simulan un retinoblastoma y abscesos eosinofílicos, entre otras afecciones (Canese *et al.*, 2003).

2.3.3. Respuesta inmune a parásitos

El huésped es capaz de iniciar una extensa gama de mecanismos defensivos contra los parásitos, que se desarrollan a nivel tisular, y por lo común desencadenan una inmunidad mediada por células (Gutiérrez 2010). Inicialmente la presencia del parásito, se registra por el sistema inmune innato en donde tienen acción los fagocitos, los cuales atacan a los

parásitos y secretan sustancias microbicidas que matan a aquellos muy grandes como para fagocitarse. Posteriormente y dado a un intento fallido de contrarrestar a los parásitos, se pueden originar mecanismos de defensa haciendo uso de la inmunidad adaptativa por parte del hospedero frente a los parásitos. Las respuestas inmunes inducidas por helmintos como *Toxocara* son predominantemente del tipo Th2 que implica citoquinas tales como la interleuquina -3 (IL - 3), IL - 4 , IL - 5 , IL - 9, IL - 10, e IL - 13 . En adición, se da una respuesta inmunitaria típicamente caracterizados por aumento de los niveles de anticuerpos IgE circulantes, eosinófilos, basófilos y mastocitos (Allen *et al.*, 2011). Durante la infección, el sistema inmune está expuesto a diferentes moléculas de los parásitos derivados, incluyendo proteínas, lípidos y glicoconjugados presentes ya sea en la superficie de los gusanos o en los productos de excreción - secreción (ES) (Van Die *et al.*, 2010). La interacción de estas moléculas derivadas con células huésped puede resultar en un cambio de la respuesta inmune, de una inflamatoria hacia un tipo anti-inflamatoria. Estas moléculas pueden modificar las células dendríticas de función (DC) y regular a la baja la respuesta inmune adaptativa, a través de la inducción de una red de regulación que incluye células T reguladoras, los macrófagos activados, y células B (Aranzamendi *et al.*, 2012). La red inmunosupresora inducida, junto con citoquinas producidas por diversas células hematopoyéticas y no hematopoyéticas como parte integrante de las vías inmunorreguladoras, parece ser esencial para la supervivencia del parásito y su efecto puede extenderse a otros trastornos inflamatorios tales como alergias y enfermedades autoinmunes (Maizels *et al.*, 2008; Taylor *et al.*, 2012; McSorley *et al.*, 2013). Las respuestas inmunitarias adaptativas frente a estos parásitos también pueden contribuir a la lesión del tejido como la aparición de respuestas granulomatosas y fibrosis asociadas (Kaplan *et al.*, 2001).

2.3.4. Antígenos de excreción secreción de *Toxocara*

Las manifestaciones patológicas que se presentan en la toxocariosis resultan de la inflamación causada por la respuesta inmune dirigida contra los antígenos excretos-secretos de la larva, los cuales son una mezcla de glicoproteínas, (Magnaval *et al.*, 1991). Los antígenos somáticos fueron los primeros en ser utilizados para el diagnóstico de toxocariosis, sin embargo, pronto se demostró que producían reacciones cruzadas, por lo que no resulta adecuado emplear estos en la evaluación de las infecciones humanas (Cornejo *et al.*, 2012). A fin de evitar el cruzamiento se evaluó el comportamiento antigénico de los productos liberados espontáneamente por las larvas de segundo estadio (L2) cultivadas *in vitro* en medios de cultivo complementado con glucosa. Estas larvas producen *in vitro* gran cantidad de glicoproteínas conocidas como antígenos secreción-excreción de *T. canis* (Ag-SETc), las cuales han sido identificadas en geles de electroforesis de SDS-poliacrilamida (SDS-PAGE) (Mizels *et al.*, 1984). Estos Ag-SETc han sido estudiados por numerosos investigadores y aplicados al inmunodiagnóstico de toxocariosis en diferente especies de huéspedes paraténicos a través de la respuesta de anticuerpos séricos mediante test de enzimoimmunoensayo indirecto (ELISA) para la determinación de IgG, IgE, IgM anti-*Toxocara* (Iddawela *et al.*, 2007), demostrando ser una excelente herramienta para diagnóstico por su especificidad (Hurtado *et al.*, 2009). Las técnicas serológicas mejoraron su confiabilidad por aumento en la especificidad de los tests al emplearse antígenos de excreción/secreción de *Toxocara* (Magnaval *et al.*, 2001).

La composición de estos antígenos ha sido bien caracterizada así como las condiciones para su obtención. El antígeno de excreción secreción de *Toxocara* (TES) se compone de diferentes moléculas de proteína excretadas por la larva o liberado de su superficie, su rendimiento y composición pueden ser influenciadas por las diferencias en las técnicas

utilizadas para mantener las larvas. Las cinco principales moléculas de TES separadas por electroforesis en gel de poliacrilamida tienen un peso molecular de 32, 55, 70, 120 y 400 kDa (Iddawela *et al.*, 2007; Rubinsky *et al.*, 2001). El proceso de producción del antígeno implica una etapa de diálisis para la eliminación de los componentes del medio de cultivo, lo cual constituye un proceso relativamente costoso (Colli *et al.*, 2011).

Algunos autores (Morales *et al.*, 2002; Magnaval *et al.*, 2001) consideran que el grupo de antígenos de alto peso molecular no es específico de *T. canis*; actualmente se ha determinado que los Ag-SETc con un peso molecular de 32, 38, 66, 120 y 200 kDa, son candidatos ideales para pruebas de inmunodiagnóstico en perros. Sin embargo se ha sugerido que la inmunodominancia de los antígenos de excreción/secreción de *Toxocara* es particular para cada especie de huésped (Muñoz *et al.*, 2010).

2.3.5. Respuesta inmune a larvas de *Toxocara*

En el hombre como hospedero paraténico, las larvas de *Toxocara* spp. inducen una respuesta tanto humoral como celular. La respuesta inmune humoral es capaz de mantenerse durante años, lo que parece indicar que estas larvas son capaces de sobrevivir en el interior del hombre durante tiempos prolongados incluso años donde las larvas son capaces de inducir una respuesta granulomatosa que es típica de la infección (Manson *et al.*, 2003). Esta supervivencia larvaria parece estar relacionada con su capacidad para evadir la respuesta inmune del hospedador, produciéndose una liberación de su cubierta en respuesta a la unión de anticuerpos o de los eosinófilos (Maizels *et al.*, 2003). También son capaces de mostrar características de su hospedador en su superficie, como los antígenos de los grupos sanguíneos A y B (Javier *et al.*, 2002).

La enfermedad en humanos es causada por la migración de la larva hacia los diferentes órganos y los mecanismos inmunes parecieran ser poco

eficaces para contrarrestar esta infección. Se conocen dos estrategias moleculares por parte del parásito para lograr su supervivencia:

1) La liberación de productos de excreción-secreción que incluyen, lectinas, mucinas y enzimas que interactúan modulando las reacciones de inmunidad del hospedador. Por ejemplo, lectina uno (CTL - 1), es similar a las lectinas de los mamíferos, necesarias para la inflamación del tejido teniendo un papel en los fenómenos de reconocimiento tanto a nivel molecular como celular; lo que sugiere que *T. canis* puede interferir con la extravasación de leucocitos en los sitios infectados, acoplándose así las células del organismo hospedador durante la infección.

2) La elaboración de una capa especializada rica en mucina, la cual está unida ligeramente a la epicutícula del parásito de tal manera que permite un rápido escape de este cuando los anticuerpos del hospedero y las células se adhieren, resultando en una reacción inflamatoria alrededor de un sitio recién desalojado por el parásito (Maizels, 2013).

Con la presencia de *Toxocara* en etapa infectante, el sistema inmune innato del hospedero, reacciona a señales moleculares de este parásito, dichas señales son esenciales para activar las células especializadas, como las células dendríticas, para reaccionar a la presencia de organismos infecciosos e iniciar respuestas específicas del sistema inmune adaptativo. En la actualidad, pocos de esos "Patrones moleculares asociados a patógenos" (PAMP) se han definido para cualquier parásito helminto, pero su existencia en *T. canis* puede asociarse a la fuerte respuesta inmune adaptativa que se produce en esta infección. La principal característica de esta respuesta inmune adaptativa es la producción de anticuerpos específicos de *T. canis* (antígenos de excreción-secreción de *Toxocara*), los cuales inducen una respuesta de tipo Th2-CD4. Tal respuesta Th2 se caracteriza por la liberación de un subconjunto específico de mediadores, en particular, el tipo 2 citocinas IL- 4, -5, -10 y -13, durante la infección,

posteriormente IL - 4 promueve la diferenciación de células B y de anticuerpos, mientras que la IL - 5 conduce la diferenciación de eosinófilos, un rasgo típico de la infección en humanos por *Toxocara* spp (Javier *et al.*, 2002; Maizels *et al.*, 2013). Se cree que la inmunidad protectora del hospedero para contrarrestar la infección, tiene un desarrollo lento, si es que se desarrolla del todo. Esto se asocia a factores que con mayor probabilidad se relacionan con la capacidad de las larvas juveniles de *Toxocara* de cambiar periódicamente su repertorio antigénico (El Naga, 2000).

Recientemente descrito la relación entre la inflamación en los órganos con migración de larvas de *T. canis* y la matriz de metaloproteinasa-9 (MMP-9, la cual pertenece a la familia de enzimas proteolíticas, tiene un papel importante en el modelaje tisular, crecimiento tumoral y metástasis (Larocca *et al.*, 2010); sugiriendo que la MMP-9 puede asociarse con la reacción inflamatoria durante la migración temprana, y por ende podría tener utilidad como un marcador temprano de la migración de larvas de *T. canis* (Lai *et al.*, 2005).

2.3.6. Hallazgos clínicos

Clínicamente puede presentarse como síndrome de larva *migrans* visceral, síndrome de larva *migrans* ocular, toxocariosis neurológica y toxocariosis encubierta (Archelli y Kozubsky, 2008). Dentro de los hallazgos clínicos de la infección por *T. canis* están, una marcada eosinofilia, hepatomegalia, neumonitis transitoria e hipergammaglobulinemia (Canese *et al.*, 2003). La mayoría de las infecciones son asintomáticas las cuales se presentan usualmente en humanos, estas larvas de *T. canis* se pueden reactivar en cualquier momento para luego migrar (De la Fé *et al.*, 2006). El síndrome de migración larvaria visceral es más frecuente en niños de 1 a 5 años de edad, con mal estado general y enfermedades debilitantes (Colli *et al.*, 2010). Las principales manifestaciones son: anorexia, fiebre o febrícula,

irritabilidad, dolor muscular, artritis, tos y expectoración escasa. Al examen físico aparecen hepatomegalia dolorosa, esplenomegalia, linfadenopatías y estertores diseminados (Archelli y Kozubsky, 2008). Pocos son los reportes de manifestaciones dermatológicas en la toxocariosis, pero puede causar erupciones, prurito y urticaria crónica (Romero *et al.*, 2009). La seriedad de la infección por *T. canis* depende del sitio donde migra el parásito, las larvas aberrantes de vez en cuando invaden al sistema nervioso central, ocasionando problemas como epilepsia, déficit neuropsicológicos, y ataxia; los cuales han sido observados en humanos (Finsterer *et al.*, 2007).

2.4. Diagnóstico

En el caso del síndrome de larva *migrans* visceral los hallazgos de laboratorio más consistentes son eosinofilia, leucocitosis y disminución de la relación albumina/globulina. El estudio imagenológico suele ser de importancia, el cual con las técnicas de ultrasonido de alta resolución pueden revelar áreas hipoecoicas en el hígado, y dado a su carácter no invasivo, es preferible el uso de la biopsia hepática (Helsen *et al.*, 2011). En una reciente evaluación de más de 1600 pacientes se encontró que la eosinofilia era un importante factor predictor para el diagnóstico de serología positiva para *Toxocara canis* (Ponce *et al.*, 2011).

2.4.1. Serología

Dadas las limitaciones actuales, el diagnóstico de la toxocariosis suele apoyarse en técnicas inmunológicas. El problema radica en la dificultad de obtener un antígeno específico para larvas juveniles de *T. canis* que no presenten reacción cruzada con otros helmintos tisulares o intestinales. Se ha obtenido para ello un antígeno específico de los productos de excreción/secreción de larvas de este parásito, el cual tiene mayor

sensibilidad y especificidad. En este se usa la técnica de ELISA la cual es de elección en la mayoría de países (Magnaval *et al.*, 2002).

Actualmente se investigan nuevas técnicas inmunodiagnósticas que incluyen la clonación de antígenos recombinantes para uso serológico, particularmente ELISA y Western-blot con el fin de mejorar su sensibilidad y especificidad (Cella *et al.*, 2004).

2.4.2. ELISA.

Los ensayos inmunológicos son procedimientos en los cuales se utilizan anticuerpos como reactivos enlazantes “específicos”. Y tienen aplicación universal para la determinación o cuantificación de fármacos terapéuticos y no terapéuticos, diversas sustancias biológicas, sustancias infecciosas o anticuerpos de respuesta del huésped en el suero, en la orina, en el líquido cefalorraquídeo en saliva y en cualquier líquido biológico donde se encuentre la sustancia a investigar (Guzmán, 2004).

El método de ELISA indirecto (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* – Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) para la detección de anticuerpos séricos. Es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado sobre un soporte (En este caso, antígeno de larvas de *T. canis*) se enfrenta a un primer anticuerpo (Presente en el suero del paciente) que luego de un tiempo de incubación formarán un complejo antígenoanticuerpo; este complejo se revela agregando un segundo anticuerpo (Antiinmunoglobulina humana) enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable por un cambio de color en la solución final (Ferrero *et al.*, 2014).

2.4.3. Diagnóstico de toxocariosis ocular

Para el diagnóstico de la toxocariosis ocular se pueden determinar anticuerpos séricos, del humor vítreo y acuoso (Roldán *et al.*, 2008), pero además es de gran importancia el uso de la angiografía fluoresceínica, el ultrasonido ocular (Georgiou *et al.*, 2007) y la tomografía axial computarizada (TAC), particularmente para diferenciarle del retinoblastoma (Sakai *et al.*, 2006).

2.4.4. Diagnóstico de toxocariosis por imagen

Desde un punto de vista imagenológico o radiológico, debe mencionarse que las técnicas de imagen pueden ser útiles en la detección y localización de lesiones granulomatosas debidas a larvas de *Toxocara* (Despommier, 2003).

2.5. Epidemiología

En el hombre la forma de adquirir la toxocariosis, es siempre oral, por diferentes vías. Esta parasitosis no se transmite de una persona a otra (Archelli y Kozubsky, 2008). La vía oral directa o geofagia (Hábito de ingerir tierra, aparentemente por carencia de hierro) es frecuente en los niños, pacientes psiquiátricas o embarazadas. La vía oral indirecta puede presentarse al consumir frutas y verduras mal higienizadas, por manos contaminadas con tierra, por ingestión de tejidos de hospedadores paraténicos o huésped de transporte (Ej. ratones, lombriz de tierra, cucarachas, pollos, ovinos y otros) que contienen estados juveniles o ingesta accidental de huevos infectivos que ensucian el pelaje de animales, concomitantemente con falta de higiene (El-Tras *et al.*, 2011).

2.6. *Toxocara* en México

Toxocara es un nematodo cosmopolita intestinal que afecta gravemente a cachorros y frecuentemente a cánidos adultos, pudiendo infectar también a humanos (Despommier, 2003). La toxocariosis se ha convertido en un problema zoonótico de salud pública. Al momento de darse la infección en el humano, puede provocarle síntomas y lesiones tanto viscerales como oculares y ser más frecuentes en niños en particular aquellos que juegan con tierra (Despommier *et al.*, 2003; Romero *et al.*, 2009).

2.7. Factores de riesgo

Los huevos de *Toxocara* spp, embrionan después de dos a cinco semanas posteriores a la eliminación en las heces de los perros, estos huevos se han encontrado en suelos de patios, parques, jardines públicos en todo el mundo, así como en pelo de perros (Roldán *et al.*, 2008).

Las personas que están en contacto directo con animales (Perros, gatos, etc.) pueden contraer toxocariosis, los veterinarios, personal de los centros de control canino, clínicas y hospitales veterinarios se consideran como grupos de alto riesgo (Yang *et al.*, 1982; Altcheh *et al.*, 2003). En el Cuadro 1 se enlistan algunos de los factores de riesgo estudiados en la transmisión de esta enfermedad.

Cuadro 1. Factores de riesgo para contraer toxocariosis en humanos

Factores de riesgo	Autor
Profesión (Veterinarios)	Deutz <i>et al.</i> , 2005
Condiciones sanitarias	Chiodo <i>et al.</i> , 2006
Exposición ocupacional (Trabajar en clínica de pequeñas especies)	Shirangi <i>et al.</i> , 2007
Contacto con perros o gatos	Roldán <i>et al.</i> , 2008
Huevos embrionados en pelo de perro	Da Cunha <i>et al.</i> , 2010
Consumo de Carne de huéspedes paraténicos	Alonso <i>et al.</i> , 2004

En los países en vías de desarrollo, existen mayores zonas rurales que no cuentan con los servicios básicos (Drenaje, agua potable) que permite un ambiente propicio para la proliferación y propagación de la enfermedad, puesto que una parte del ciclo del parásito se lleva en el suelo (Huevos embrionados) lugar donde se vuelven infectantes y bajo las condiciones adecuadas sirve también de reservorio (Delgado y Rodríguez, 2009). En el censo de población y vivienda de México en 2010 se observa que, de 35 millones de viviendas el 4.86% tiene piso de tierra 8.91%, no cuenta con agua entubada, 7.08% no cuenta con drenaje, lo cual supone existen las condiciones apropiadas para que *Toxocara* sea una etiología importante en las enfermedades que se presenten en la población (INEGI 2010).

2.8. **Toxocariosis en hospedadores paraténicos**

Otros animales, particularmente peridomésticos, como ardillas, liebres y otros mamíferos pequeños y medianos, pueden jugar un papel importante en la dispersión de los huevos embrionados. Las aves que se alimentan primariamente en el suelo (Como pichones, palomas, gorriones) pueden ser hospedadores paraténicos, pero también pueden llevar los huevos de un lugar a otro en las patas y alas, y ser responsables de depositar huevos en lugares distantes de la fuente original (Dubinsky *et al.*, 1995).

En el caso de los roedores, en la relación depredador-presa se desempeñan como hospederos de transporte o paraténicos, debido que al ser ingeridos transportan las larvas enquistadas (Ghiani, 2001). A nivel rural, los ratones parecen ser los hospederos paraténicos de mayor importancia, los cuales al poseer larvas alojadas en su cerebro los hacen presa fáciles. Así mismo, si una lombriz terrestre posee larvas infectantes y ella es ingerida por un ave, ésta última también se constituye en un hospedero paraténico. Cuando un perro ingiere un hospedero paraténico, como el ratón, el proceso digestivo libera la larva desde el granuloma, las que no continúan su migración somática, desarrollándose directamente en el lumen intestinal, que a diferencia de la ruta traqueal, alcanzan el estado adulto en 19 días pos infección (Becerril y Romero, 2008).

Los huevos de *T. canis* eclosionan cuando son ingeridos por una variedad de especies no caninas. Las larvas no llegan al tracto digestivo y tampoco continúan su evolución, pero pueden sobrevivir por años alojadas en los tejidos del hospedador, a este fenómeno se le denomina paratenesis (Morales, 1999). Las larvas que se liberan de los huevos, se enquistan en diferentes órganos. Ahí ellas mantienen su capacidad infectiva, permaneciendo latentes y a la espera de llegar al hospedador adecuado

para continuar su ciclo evolutivo. Este hospedador alternativo o de espera, recibe el nombre de paraténico (Lescano *et al.*, 2004).

Una amplia gama de animales puede actuar como hospedador paraténico de larvas de *T. canis* ya que este es capaz de infectar a una variedad de roedores, conejos, rumiantes, aves de crianza, zorras, coyotes, lobos, lombrices, cerdos, cucarachas, así como el hombre. La ingestión de uno de estos puede dar como resultado la activación de la fase enquistada y el desarrollo del ciclo biológico de este parásito (Márquez, 2008).

Las larvas eclosionan en el intestino delgado e inmediatamente penetran la pared intestinal y migran al hígado. De ahí pueden pasar a pulmones u otros órganos, o bien permanecer en hígado, el parásito no sigue su desarrollo normal (Javier y Alger, 2002), en este caso la migración somática es la regla y es rara la migración de las larvas de los pulmones, por vía traqueal, a los intestinos (Canese *et al.*, 2003). En los órganos donde permanecen las larvas se desencadena una respuesta inflamatoria con formación de micro abscesos eosinofílicos que eventualmente se fibrosan o forman granulomas, ya que las migraciones larvales tanto en perros como en hospedadores paraténicos, provocan daños principalmente a nivel de aquellos órganos o tejidos donde se pueda asentar (Javier y Alger, 2002).

Los parásitos gastrointestinales ocasionan grandes pérdidas a la producción y salud animal. En los animales productivos los parásitos gastrointestinales reducen la producción de carne, leche, huevo, lana y otros productos para el consumo y uso humano; en los animales de deporte reducen el rendimiento físico y en los animales de compañía representan un importante riesgo de transmisión de parásitos a los humanos (Wickramasinghe *et al.*, 2009).

Es una especie relativamente grande, un gusano grueso, de color blanquecino, los machos miden de 20-25 cm, y las hembras 25-30 cm y

produce de 8000 a 100.000 huevos por gramo de heces por día, contienen dentro la larva L1 (Larva 1) Los huevos son redondos, miden 70 a 90 micras, tienen una capa protectora gruesa que proporciona resistencia contra las condiciones ambientales tales como la química y la agresión física, lo que permite a los huevos permanecer con vida durante muchos años y en consecuencia, los huevos infectantes son abundantes en pastos y otros lugares que están contaminados. No se abren en el medio ambiente pero, bajo una adecuada humedad y las temperaturas en el rango de -20 °C a 30 °C desarrollan en 3-4 semanas dentro del huevo la larva 3 que es la etapa infecciosa (Dávila *et al.*, 2010).

2.9. Ganado equino

2.9.1. Aspectos Generales

El caballo (*Equus caballus*) es un mamífero herbívoro, perisodáctilo, que pertenece a la familia de los équidos. La cría y utilización del caballo por parte del hombre se conoce como ganadería equina o caballar, y su domesticación se remonta 9000 años atrás en la península Arábiga. En algunos países y regiones del mundo, como Francia, Bélgica y Suiza, la carne y leche de caballo son componentes importantes de la dieta humana, sin embargo, el principal uso mundial es en los deportes (Carreras de caballos y equitación), entretenimiento (Cabalgata, exhibición y espectáculos ecuestres), trabajo (Caballos de tiro y para arneses) y en el manejo de ganado bovino (Catelli, 2006).

2.9.2. Carne de caballo.

Históricamente, el consumo de carne equina ha ido asociado a épocas de penuria y a situaciones de emergencia (Guerras y asedios), en las que se valorizaba mediante su consumo, al igual que en el resto de especies mayores, los animales criados para otros fines (Tiro, silla, guerra) (Fabregas, 2002).

Desde tiempos remotos, el hombre ha recurrido a todos los alimentos que estaban a su alcance. Entre ellos utilizó la carne de caballo. En la actualidad, es considerada todavía como un recurso óptimo en cuanto a su aporte de hierro y su gran digestibilidad. Es una carne tierna, que no se modifica con la edad de la faena, sexo, raza, alimentación o tipo genético. Su gusto es dulzón, por su alto contenido de glucógeno. Comparada con el resto de las carnes de abasto, tiene la ventaja de su menor precio en algunos mercados (Catelli., 2000).

El equino es un animal destinado mayormente al deporte y compañía, por lo cual son pocos los estudios realizados con el objetivo comprender los efectos del transporte y manejos previos al sacrificio en esta especie. Sin embargo, la industria equina ha mostrado un rápido crecimiento en los últimos años y el comercio internacional es una parte estructural en su desarrollo. En términos de comercio bilateral, el movimiento de caballos o productos equinos cae dentro del Acuerdo en la Aplicación de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias (MSF) de la Organización de Comercio Mundial (WTO). La región con mayor producción de carne de equinos a nivel mundial es Asia con un 40%, seguido por Sudamérica (14%), Centroamérica (14%), Europa del oeste (11%) y Norteamérica (7%). Dentro de Sudamérica, Argentina es el mayor exportador de carne equina, con un total de 230,216 cabezas faenadas, lo que se traduce en alrededor de 35,758 toneladas en el periodo 2007; Igualmente, en Argentina se transportan anualmente alrededor de 200,000 equinos para faena dentro del país, ocasionalmente también se registran algunas exportaciones de equinos vivos desde Argentina y Uruguay; en este caso los animales son comprados en Argentina y enviados a Italia con fines deportivos en viajes que duran 17 días. En la mayoría de los países americanos se sacrifican equinos para consumo humano; sin ser criados específicamente con este propósito, se trata en general de animales desechados por bajo rendimiento

en competencias deportivas o en el trabajo, lesiones o avanzada edad, que son aprovechados para alimentar a la población humana (Werner y Gallo, 2009).

El consumo de carne de caballo se denomina hipofagia, y el hombre la practica desde mucho tiempo antes de aprender a utilizarlo como cabalgadura. El consumo estuvo muy extendido en Egipto, Grecia, Rumania, Francia, Alemania, China, Mongolia, Medio Oriente y muchos países africanos. La aparición del cristianismo impuso fuertes restricciones, en virtud de que la Biblia sólo permite comer carne de animales con pezuña. Así, durante los primeros siglos de la era cristiana, en gran parte de Europa fueron excluidos de la dieta el caballo, mulo y asno. Actualmente el consumo de carne de caballo se mantiene en muchos países europeos, especialmente Francia, Italia, Alemania, Inglaterra y Bélgica; así como en Estados Unidos y Japón (Financiera Rural, 2013).

El equino es un animal destinado mayormente al deporte y compañía, por lo cual son pocos los estudios realizados con el objetivo comprender los efectos del transporte y manejos previos al sacrificio en esta especie. Sin embargo, la industria equina ha mostrado un rápido crecimiento en los últimos años y el comercio internacional es una parte estructural en su desarrollo (Werner-Becker, 2009).

Entre las características organolépticas de la carne de caballo se puede mencionar su bajo contenido de grasa, un elevado porcentaje de ácido oleico que determina su alta digestibilidad y su alto contenido de glucógeno, que le otorga un sabor dulce. El color de la carne es rojo oscuro, principalmente en animales adultos, debido a su alto contenido de mioglobina. Se le considera una carne saludable debido a su elevado contenido de hierro y de proteínas de alto valor biológico. Es considerada la

más tierna de las carnes de consumo y su olor particular se debe al contenido de ácidos grasos volátiles (Lindon, 2013).

Es importante comentar, que México es el segundo productor más importante de carne de caballo en el mundo, sólo superado por China, que produce anualmente 202 mil toneladas. Por cada sacrificio en nuestro país se obtienen en promedio 132 kg de carne de caballo, rendimiento que se encuentra por debajo del promedio mundial, que alcanzó cerca de 156 kg entre el año 2000 y 2010. China, el primer productor mundial, se mantiene muy por debajo, con un rendimiento de 120 kg. En tanto, Argentina, quinto productor mundial, se mantuvo en un promedio de 212 kg por ejemplar (Financiera Rural, 2013).

2.9.3. Comercio exterior de carne de caballo

En relación con el comercio de carne de caballo, nuestro país es un exportador neto, que muestra un superávit creciente en la balanza comercial. En 2011, el saldo de la balanza alcanzó un valor igual a las exportaciones, debido a que no existió importación de carne de caballo ese año (INEGI, 2013).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La toxocariosis, actualmente, es un problema más frecuente de lo que se consideraba debido al mayor número de perros en las ciudades, sobre todo los que viven en las calles. La vía de infección es generalmente oral por ingesta de huevos directamente de un parque contaminado o por transporte de los hospedadores.

Toxocara spp es capaz de infectar a otros animales, una gran variedad de animales no cánidos pueden estar infectados, para *T. canis*, los hospedadores paraténicos conocidos incluyen ratones, ratas, pollos, palomas, corderos, cerdos y vacas, ratones, lombrices de tierra, caracoles, moscas, pájaros, conejos, monos y seres humanos entre otros. En el hombre la forma de adquirir la toxocariosis, es siempre oral, por diferentes vías. Esta parasitosis no se transmite de una persona a otra, la vía oral directa o geofagia (Hábito de ingerir tierra, aparentemente por carencia de hierro) es frecuente en los niños, pacientes psiquiátricas o embarazadas.

La vía oral indirecta puede presentarse al consumir frutas y verduras mal higienizadas, por manos contaminadas con tierra, por ingestión de tejidos de hospedadores

paraténicos y hospedadores de transporte.

El peligro que representan para la salud pública las infecciones con *Toxocara canis* es poco conocido, así como el verdadero papel que juegan los hospedadores paraténicos como por ejemplo los caballos. Como se mencionó anteriormente el hombre puede verse afectado por lo que se vuelve un hospedador paraténico, por tanto la toxocariosis se convierte en una enfermedad importante desde el punto de vista económico y social. Actualmente se sabe que el humano puede adquirir *Toxocara* por el consumo de huevos larvados y larvas presentes en tejidos de hospedadores paraténicos, como conejos, pollos y corderos, sin embargo no se han

realizado estudios o al menos no hay reportes, para demostrar la presencia de este parásito en caballos.

4. JUSTIFICACIÓN.

En las últimas décadas la sociedad ha elegido al perro y gato como mascota principal y se ha cambiado el concepto de esta, teniéndolo como un miembro más de la familia y en el caso del ganado equino se debe tener en cuenta que una población importante de perros convive diariamente con éstos, aumenta los factores de riesgo también al ser alimentados en pastoreo donde los caballos pueden consumir huevos infectantes. En los equinos no se han reportado estudios que demuestren que sean un hospedero paraténico para *Toxocara canis*.

El aumento de población de caninos callejeros, la contaminación de ambientes urbanos con huevos de *T. canis* contribuyen a la infección de hospedadores definitivos (Perro y gato) y paraténicos como los equinos. Se sabe que los suelos son una fuente de contagio de *T. canis* para los humanos y huéspedes paraténicos, las heces de los perros en el suelo provocan que se depositen huevos de *T. canis* en áreas verdes, preservándolos por mucho tiempo, teniendo una fuente de infección para toxocariosis. De ahí él porque la importancia de realizar el estudio en el Rastro de San Vicente, Chicoloapan, con la finalidad de conocer si los caballos son hospedadores paraténicos a *Toxocara canis*, ya que como se ha mencionado anteriormente no existe reporte alguno. Si tomamos en cuenta que no sabe de dónde viene los equinos y mucho menos en qué condiciones vivían, se puede llegar a sospechar que los caballos estén infectados por la larva de *T. canis*. El resultado positivo a *T. canis* es de suma importancia ya que estos equinos van directo a consumo humano y a su vez a consumo animal.

La zoonosis provocada por consumo de carne ha sido un dato reciente, el consumo de carne o vísceras de estos animales es una práctica común por

los humanos. Las carnes u órganos mal cocidos pueden contener quistes, que al ser ingeridos por personas o cualquier otro animal, puede provocar que este quiste inactivo libere la larva infectante, aumentando el riesgo a toxocariosis.

Entre las características organolépticas de la carne de caballo por la cual ha obtenido un lugar importante dentro de los mercados internacionales, se puede mencionar su bajo contenido de grasa, un elevado porcentaje de ácido oleico que determina su alta digestibilidad y su alto contenido de glucógeno, que le otorga un sabor dulce. El color de la carne es rojo oscuro, principalmente en animales adultos, debido a su alto contenido de mioglobina. Se le considera una carne saludable debido a su elevado contenido de hierro y de proteínas de alto valor biológico. La carne de caballo es considerada la más tierna de las carnes de consumo y su olor particular se debe al contenido de ácidos grasos volátiles.

5. HIPÓTESIS.

Los equinos que llegan al rastro de San Vicente, Chicoloapan del Estado de México tiene anticuerpos circulantes contra *Toxocara canis*, los cuales se encuentran asociados a la edad, estado fisiológico y géneros de los equinos.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo General.

Determinar la presencia de anticuerpos contra *Toxocara canis* mediante la prueba de ELISA en equinos del Rastro de San Vicente, Chicoloapan, Edo. De México.

6.2. Objetivo Específico.

- Comparar los niveles de anticuerpos de *Toxocara canis* entre género, condición corporal y edad de los equinos muestreados.

7. METODOLOGÍA

7.1. Ubicación geográfica.

Chicoloapan se localiza en la región oriente del Estado de México, colinda con los municipios de Texcoco, al norte; La Paz e Ixtapaluca al sur; Texcoco e Ixtapaluca al este, y Chimalhuacán y La Paz al oeste. Se encuentra aproximadamente a 15 kilómetros de la Ciudad de México. Pertenece a la región *Chimalhuacán*, integrada además por los municipios de Ixtapaluca, Chimalhuacán y La Paz. Cuenta con una extensión territorial de 63.07 km² que representa el 0.27% del territorio estatal, y el 11.8 de su región (Moreno y Mendoza, 2011).

7.2. Sujetos a estudiar.

Entre los meses septiembre y octubre de 2014 se tomaron muestras sanguíneas a 94 caballos, en el rastro de San Vicente Chicoloapan, Edo. De México, resultado de la aplicación de la siguiente fórmula utilizada para la determinación del tamaño de la muestra de una población infinita o desconocida (Mateu y Casal, 2003).

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot q}{i^2}$$

Dónde:

- n = tamaño de la muestra
- Z = 1.96 para el 5% de confianza, 2.56 para el 99%
- p = Frecuencia esperada del factor a estudiar, en caso de desconocerse ($p = 0.5$), que hace mayor el tamaño muestra
- q : $1 - p$ (si $p = 70\%$, $q = 30\%$)
- i = Error que se prevé cometer si es del 10 %, $i = 0.1$

Tal fórmula aplicó de la siguiente manera:

Datos:

$Z = 1.96$ (5% de confianza)

$$p = 0.5$$

$$q = 1 - p = 1 - 0.5 = 0.5$$

$$i = 10\% = 0.1$$

Por lo tanto:

$$N = \frac{(1.96)^2 \times 0.5 \times 0.5}{0.1^2} = 96.04$$

Obteniendo así en total un número de 94 muestras.

7.2.1. Criterios de inclusión

Caballos

- Edad Indistinta
- Sin importar el peso
- Cualquier género

7.2.2. Criterios de exclusión

Caballos que no estén dentro del rastro de San Vicente Chicoloapan, Edo. De México

7.2.3. Determinación de edad por dentición

Para la determinación de la edad del equino por medio de la dentadura se utilizó el sistema Triadan” (Tremaine, 1999).

7.2.4. Determinación de condición corporal

Para la determinación de la condición corporal del equino es por medio de la observación, se basa en el diagrama de calificación de la condición corporal de los equinos (Adaptado de Huntington P, Cleland F: Horse Sense: The Australian Guide to Horse Husbandry. East Melbourne, Australia, 1992) (Catherine *et al.*, 2000).

7.3. Muestras

Se tomaron 5 ml de sangre en los équidos, de la vena yugular en tubos vacutainer con gel separador, de forma asépticas, se rotularon para su posterior análisis. Los equipos para la recolección de muestras fueron desechables, estériles y libres de pirógenos, la toma de muestra se realizó en áreas cutáneas libres de lesiones.

Las muestras sanguíneas se mantuvieron a una temperatura de 4 - 6° C durante su traslado, en una gradilla dentro de una hielera para evitar movimientos bruscos repentinos, se hizo la toma de muestras y análisis de las mismas el mismo día, en el laboratorio de Parasitología del Instituto Nacional de Pediatría.

7.4. Diagnóstico serológico

La evaluación de niveles de anticuerpos anti-*Toxocara canis* se realizó con antígenos de excreción/secreción de *Toxocara canis*, con el kit comercial SCIMEDX *Toxocara* Microwell Serum ELISA (Anexo 1) la lectura de las densidades ópticas se realizó con un espectrofotómetro Victor Wallac K120, con un punto de corte de 0.3 dioptrías para los positivos, inferior a este valor se consideraron negativos.

7.5. Análisis estadístico

Todos los datos obtenidos se colectaron en cuadernos de registro y posteriormente se vaciaron en una base de datos del programa Microsoft Excel 2010, después se realizaron matrices, para comparar la seroprevalencia entre géneros se utilizó la prueba exacta de Fisher (Fleiss, 1981).

Para la asociación entre prevalencia a *Toxocara canis* y edad y género, y la seropositividad se utilizó la prueba de Ji-cuadrada.

8. RESULTADOS.

En el presente estudio se encontró una seroprevalencia a *T. canis* del 75.54% (n=71) en los caballos analizados por la prueba de ELISA. No se presentó diferencia estadística significativa ($p=0.27$) entre hembras 40.43% (38/48) y machos 35.11% (33/46) positivos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Comparación entre positivos y negativos de anticuerpos contra *Toxocara* en géneros de equinos.

Género	Positivos (%)	Negativos (%)	Total	P
Hembras	38 (40.43.)	10 (10.64)	48	0.27
Machos	33 (35.11)	13 (13.83)	46	
Total	71	23	94	

Prueba exacta de Fisher ($p<0.05$)

En la asociación y factor de riesgo entre seroprevalencia en género no se presentó diferencia estadística significativa (Cuadro 3).

Cuadro 3. Asociación y factor de riesgo entre seroprevalencia y género

	Positivos	Negativos	X²	P	OR	P	IC
	N= 71	N= 23					
Macho	33	13	0.23	0.62	0.66	0.40	0.25 – 1.72
Hembra	38	10	0.70	0.40	1.49	0.40	0.58– 3.85

En la comparación de edades de equinos positivos si presenta diferencia estadística significativa ($p= 0.006$), siendo la prevalencia de adultos de 61.70% (58/12) positivos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Equinos positivos y negativos contra anticuerpos de *Toxocara* por edades.

Edad	Positivos (%)	Negativo (%)	Total	P
Potros	8 (8.51)	6 (6.38)	14	0.08
Adultos	58 (61.70)	12 (12.77)	70	0.006
Geriatras	5 (5.32)	5 (5.32)	10	0.06
Total	71	23	94	

Prueba exacta de Fisher ($p<0.05$)

Se presentó diferencia significativa ($P= 0.004$) en adultos y geriatras ($p=0.04$) positivos y negativos, también ese grupo de edades se considera un factor de riesgo ($p=0.006$ y 0.05) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Asociación y factor de riesgo entre seroprevalencia y edad

	Positivos	Negativos	X²	P	OR	P	IC
	N= 71	N= 23					
Potros	8	6	3.01	0.08	0.35	0.09	0.10 – 1.17
Adultos	58	12	7.96	0.004	4.08	0.006	1.48– 11.29
Geriatras	5	5	3.94	0.04	0.27	0.05	0.07-1.04

Respecto a la condición corporal (C.C.) presento una diferencia estadística significativa entre positivos y negativos que tenían C.C. de 3.5 ($p=0.04$), sin ser un factor de riesgo ($OR= 5.46$, $p=0.25$), de la misma manera con los animales de C.C. de 4.5 ($\chi^2 = 3.87$, $p=0.04$, $OR=0.10$, $p= 0.17$) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Asociación y factor de riesgo entre seroprevalencia y C.C.

	Positivos	Negativos	χ^2	P	OR	P	IC
	N= 71	N= 23					
2	13	6	0.65	0.41	0.70	0.23	0.10 – 2.12
2.5	13	4	0.01	1	1.06	0.92	0.30– 3.65
3	32	11	0.53	0.81	0.89	0.81	0.34-2.29
3.5	7	0	4.16	0.04	5.46	0.25	0.30-99.4
4	6	1	0.42	0.51	2.03	0.52	0.23-17.81
4.5	0	1	3.87	0.04	0.10	0.17	0.004-2.66

9. DISCUSIÓN.

La infección humana puede resultar en una variedad de síndromes, con diferentes manifestaciones clínicas, que van desde una afección asintomática, hasta severas lesiones en órganos. Los síndromes más conocidos son: larva *migrans* visceral, larva *migrans* ocular, toxocariosis encubierta y neurológica (Won *et al.*, 2008). Esta enfermedad es considerada de amplia distribución geográfica, se presenta en países desarrollados, así como los que tienen deficientes estructuras sociales, culturales y sanitarias. La epidemiología abarca, poblaciones vulnerables y factores de riesgo, como son las personas que tienen contacto en perros, que trabajan con tierra, así como las personas que juegan en parques o jardines públicos y particulares (Deutz *et al.*, 2005).

Las rutas de migración así como los sitios de predilección dependen de la especie del huésped sin embargo, casi todos los órganos pueden ser afectados con diversos grados de carga de larvas. En el hospedero paraténico *T. canis* parece tener afinidad por el sistema nervioso central, mientras que el cerebro, ojos y musculo se afectan comúnmente más tarde del momento de la infección (Akao, 2003), la evaluación de los niveles de anticuerpos presentes en los animales pueden ser un marcador del grado de infección, lo cual se debe considerar, ya que la carne y otros productos de estos animales es una fuente de infección.

En este estudio se encontró una seroprevalencia a *T. canis* del 75.54% (n=71) en los caballos analizados por la prueba de ELISA. No se presentó deferencia estadística significativa ($p=0.27$) entre hembras 40.43% (38/48) y machos 35.11% (33/46) positivos. En otro estudio realizado en la policía montada de Iztapalapa, Distrito Federal por Maldonado, 2014; se analizaron 96 muestras de sangre de diferentes caballos teniendo como variables

género, raza, edad, gestantes o no gestantes. Presento una positividad a anticuerpos contra *Toxocara canis* en equinos del 13.8% con mayor presencia de anticuerpos en hembras (14.8%) comparada con los machos (13.4%), así como en animales jóvenes (18.1%) y animales de raza (14.03), también se encontró presencia de anticuerpos en una hembra gestante, lo que puso de manifiesto que los equinos son hospederos paraténicos de *Toxocara canis* y podrían ser una fuente de contaminación para los humanos y otros animales.

Un estudio realizado en Brasil (Álvarez, 2011) sobre anticuerpos Anti-*Toxocara canis* en ovejas reportan que la prevalencia global de anticuerpos anti-*Toxocara* fue del 50.1% (183/365), reportan un 6.01% de muestras positivas en el grupo de animales de 1 a 6 meses y el 61.2% en el grupo de animales de edades comprendidas entre 10 y 15 meses. Otro estudio en el sur de Brasil con suero de 1642 ovejas, reportan que la frecuencia de anticuerpos de anti-*Toxocara* fue de 29.0% (477/1642). Estos estudios indican que la infección por *Toxocara canis* es ampliamente distribuido entre las ovejas, lo que representa un riesgo potencial para la salud humana (Rassier *et al.*, 2009). La prevalencia de anticuerpos anti-*Toxocara* en ovinos sugiere que un alto número de animales están infectados por *Toxocara* spp., estos animales pueden albergar larvas hipobioticas en el hígado y otros tejidos que podrían ser transmitidos a los humanos por la ingestión de carne cruda o poco cocida. Además, la transmisión de las larvas, a través de la carne, a los animales domésticos y silvestres podría perpetuar el ciclo de vida de los parásitos en sus hospedadores definitivos (Muñoz y Alba, 2010; Zevallos *et al.*, 2012). El consumo de carne de huéspedes paraténicos incluye ovinos, está considerada como una vía de transmisión de la toxocariosis para los humanos (Salem y Schantz, 1992).

10. CONCLUSIONES.

Los resultados del presente estudio muestran una positividad a anticuerpos contra *Toxocara canis* en equinos del rastro de San Vicente Chicoloapan, Estado de México del 75.54% con mayor presencia de anticuerpos en hembras (40.43%) comparada con los machos (35.11), así como animales adultos (61.70%) y animales de condición corporal de 3.5 (7), lo que ponemos como manifiesto que los equinos son hospederos paraténicos de *Toxocara canis* y pueden ser una fuente de contaminación para los humanos y otros animales. Como mencione anteriormente solo se encuentra un trabajo realizado referente a la prevalencia de *Toxocara canis* en equinos y fue relevante, es preocupante los resultados que arrojan ambos estudios ya que estos animales son una fuente de consumo de carne para humanos, también puede ser una fuente de infección para las personas que trabajan en el mismo rastro, venta y distribución de carne de estos animales.

11. RECOMENDACIONES.

Hacer campañas de difusión sobre el riesgo del consumo de carne de hospederos paraténicos.

Ampliar el estudio sobre huéspedes paraténicos de *Toxocara spp.*

Difundir el papel de los equinos como factor de riesgo para contraer toxocariosis en humanos y animales.

Hacer del conocimiento de las personas cuales son las medias de higiene que evitan la trasmisión de *Toxocara canis* por hospedadores paraténicos.

Recomendar a los dueños y criadores de caballos la desparasitación de estos animales no solo de los parásitos que tienen importancia clínica, de igual manera de los que son hospedadores paraténicos como es el caso de *Toxocara canis*.

Hacer un muestreo periódicamente en los rastros.

12. BIBLIOGRAFÍA.

- Acha, P. y Szyfres, B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Publicación Científica. Editorial Pan American Health Org. Washington DC. (3): 305-311.
- Aguilar, M. J. 2002. Tratado de enfermería infantil. Cuidados pediátricos. Editorial Elsevier. España. p.p 630-639.
- Akao, N., Tomoda, M. Hayashi, E., Suzuki, R., Shimizu, M., Shichinohe, K., Fujita, K., 2003. Cerebellar ataxia due to *Toxocara* infection in Mongolian gerbils *Meriones unguiculatus*. *Vet Parasitol*; 113:229-237.
- Aranzamendi, C., Milosavljevic, S. y Pinelli, E. 2012. Helminths: Immunoregulation and Inflammatory Diseases Which Side Are *Trichinella* spp. and *Toxocara* spp. on?. *Journal of Parasitology Research*. ID 329438, 11 p.
- Archelli, S. y Kozubsky, L. 2008. *Toxocara* y Toxocariosis. *Rev. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 42(3): 379-384.
- Alonso, J. M., López, M., Bojanich, M. B. y Marull, J. 2004. Infección por *Toxocara canis* en población adulta sana de un área subtropical de Argentina. *Rev. Parasitol Latinoam*. 59: 61 – 64.
- Alonso, J. M., Luna, A. C., Fernández, G. J., Bojanich, M. V., Alonso, M. E. 2006. Huevos de *Toxocara* en suelos destinados a la recreación en una ciudad Argentina. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 40 (2):19-222.
- Allen, J. E. y Maizels, R. M. 2011. Diversity and dialogue in immunity to helminths. *Nature Reviews Immunology*. 11(6): 375–388.
- Altchek, J., Nallar, N., Conca, M. 2003. Toxocariosis: aspectos clínicos y de laboratorio en 54 pacientes. *Pediatr*. 58 (5):425-431.
- Alvarez, V., Fabris, P. A., Leme, B. E., Rubinsky-Elefant G. & Guiffrida, R. 2011. Anti. *Toxocara* spp. Antibodies in sheep from southeastern Brazil. *Veterinary Parasitology*. 179:283-286.

- Aydin, A., Gös, Y., Yúksec, N., Ayaz, A. 2006. Prevalence of *Toxocara vitulorum* in Hakkari Eastern region of Turkey. Bull Vet. Inst. Pulawy. Derg. 17 (3):345-347
- Becerril, F., Romero, R. 2008. Parásitología médica de las moléculas a la enfermedad. Mac Graw Hill: 253-259.
- Breña J.P., Hernández R., Hernández A., Castañeda R., Espinoza Y., William B., Ramirez C. y Maguiña C. 2011. Artículo de Revisión. Toxocariosis humana en el Perú: aspectos epidemiológicos, clínicos y de laboratorio. Human toxocariasis: epidemiology, clinical and laboratory aspects. Acta Med Per 28(4).
- Brunanská M. 1997. *Toxocara canis* (Nematoda:Ascaridae): the fine structure of the oviduct, oviduct-uterine junction and uterus. Folia Parasitol (Praha). 44(1): 55-61.
- Canese, A., Domínguez, R., Otto, C., Ocampos, C. y Mendoca. 2003. E. Huevos infectivos de *Toxocara* en arenas de plazas y parques de Asunción, Paraguay. Rev. Arch. Pediatr. Urug. 74(1): 51-56.
- Catelli, L. J., 2000. El caballo como productor de carne. Vet Arg. 17 (167) : 514-516.
- Catelli, J. 2006. El mercado de la carne. Info Vet, Bs. As.64 (2):2-2.
- Cazorla, D., Morales, P., Acosta, M. 2007. Contaminación de suelos con huevos de *Toxocara* spp. (nematode, ascaridida) en parques públicos de la ciudad de Coro, Estado Falcón, Venezuela. Rev. Cs. 17 (2):117-122.
- Catherine J. SAVAGE, BVSc, Ms, PhD. 2000. Secretos de la medicina de equinos. En Jr, Swecker., S, William., Thatcher., Craig, D. Nutricion. Pp 302. Editorial. McGraw-Hill Interamericana

- Cella, W., Ferreira, E., Torigoe, A., Macchiaverni- Filho, N. Balarin, V. 2004. Ultrasound biomicroscopy findings in peripheral vitreoretinal toxocariosis. *Eur. J. Ophthalmol.* 14 (2):132-6.
- Chattha, M. A., Aslam, A., Rehman, Z. U., Khan J. A. y Avais, M. 2009. Prevalence of *Toxocara canis* infection in dogs and its effects on various bloods parameters in Lahore (Pakistan). *Rev. The Journal of Animal & Plant Sciences.* 19(2): 71-73.
- Chen, J., Zhou, D. H., Nisbet, A. J., Xu, M. J., Huang, S. Y., Li, M. W., Wang, C. R. y Zhu, X. Q. 2012. Advances in molecular identification, taxonomy, genetic variation and diagnosis of *Toxocara* spp. *Infect Genet Evol.* 12(7): 1344-8.
- Chiodo, P., Basualdo, J., Ciarmela, L., Pezzani, B., Apezteguía, M., Minvielle, M. 2006. Related factors to human toxocariosis in a rural community of Argentina. *Mem. Inst.R. J.* 101 (4): 397-400.
- Colli, C. M., Rubinski, G., Paludo, M. L., Falavigna, D. L. M., Guilherme, E. V., Mattia, S., Araújo, S. M., Ferreira, E. C., Previdelli, I. T. S. y Falavigna, A. I. 2010. Serological, clinical and epidemiological evaluation of toxocariasis in urban áreas of South Brazil. *Rev Inst Med trop S Paulo.* 52(2): 69-74.
- Colli, C. M., Rubinski, G., Paludo, M. L., Liz, M., Falavigna, A. L. 2011. An alternate technique for isolation of *Toxocara canis* excretory- secretory antigens. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 47(1): 119-123.
- Cornejo, W. R., Alba, P. F., Cevilla, C. R., y Huiza, A. F. 2012. Comparación de tres pruebas serológicas para detectar infecciones por *Paragonimus mexicanus* en gatos infectados. *An Fac med.* 73(1): 29-33.
- Da Cunha, A. H. L., López, R. G., Soares, P. M., Gallina, T., Marreiro, V. M., Oliveira, N. M., James, S. C., Aires, B. M. E. 2010. Presence of

Toxocara canis eggs on the hair of dogs: A risk factor for Visceral Larva *Migrans*. Vet. Parasitol. 174 (1-2):115-8.

Dabanch, P. J., 2003. Zoonosis. Rev. Chil. Infect. 20 (1) : (47-51).

Damian, M. M., Malheiro, A., Montes, R., Monteiro, A., Arruda, R., Mizogushi, P. 2010. Clinical-laboratorial characteristics *Toxocara canis* serology and other predispose factors of a pediatric population with tropical pyomyositis from Manaus, Amazonas, Brazil. Rev. Panam. Infectol. 12 (1):47-53.

Dávila, G., Irsik M., Greiner, E. C. 2010. *Toxocara vitulorum* in beef calves in North Central Florida. Vet. Parasitol. 168 (3-4):261-3.

Delgado, O., Rodríguez, M. J. A., 2009. Aspectos clínico-epidemiológicos de la toxocariosis: una enfermedad desatendida en Venezuela y América Latina. Boletín de malariología y salud ambiental. XLIX (1) : 1-34.

De la Fé, P., Duménigo, B. E., Brito, E. y Aguilar, J. 2006. *Toxocara canis* y Síndrome Larva *Migrans* Visceralis. REDVET. 4(7): 1-42.

Despommier, D., 2003. Toxocariasis: Clinical Aspects, Epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. Rev. Clinical Microbiology. 16 (2) : 265-272.

Deutz, A., Fuchs, K., Auer, H., Kerbl, U., Aspöck, H., Köfer, J. 2005. *Toxocara*-infestations in Austria: a study on the risk of infection of farmers, slaughterhouse staff, hunters and veterinarians Animal Health Service, Department of Veterinary Administration, Styrian Provincial Government, Graz, Austria. Parasitol Research. 97 (5):390-4.

Degregorio, O. J., Sommerfelt, I. E., de Cousandier A. S., López, C. M. y Franco, A. J. 1997. Evolución de huevos de *Toxocara canis* a su estado infectante. Avances en Ciencias Veterinarias. 12(2): 101-103.

- De Visser, L., Rothova, A., De Boer, J., Van Loon, A., Kerkhoff, F., Marijke, R. 2008. Diagnosis of ocular toxocariosis by establishing intraocular antibody production. *Am. J. Ophthalmol.* Vol. 145 (2):369–74.
- Dubinsky, P., Havasiova-Reiterova, K., Petko, B., Hovorka, I., Tomasovicova, O. 1995. Role of small mammals in the epidemiology of Toxocariosis. *Parásitology.* 110 (2): 187-193.
- El Naga, I. F. 2000. *Toxocara canis*: Determination of the origin of antigenic materials released from infective larvae. *J. Egypt. Soc. Parasitol.* 30: 669-678.
- El-Tras, W., Holtb, H., Tayelc, A. 2011. Risk of *Toxocara canis* eggs in stray and domestic dog hair in Egypt. *Vet. Parasitol.* 178 (3-4):319-23.
- Fabregas, X., 2002. Producción, calidad y consume de carnes equinas en España. *EUROCARNE.* (110) : 1-5.
- Ferrero, M., Sánchez, R. J., Pizzi, R. D., Pizzi, H. L., 2014. Determinación de anticuerpos IGg anti-toxocara canis en estudiantes de medicina. *Revista de Salud Pública.* XVII (1) : 36-43.
- FinancieraRural[http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/Monograf%C3%ADaEquino\(sep12\).pdf](http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/Monograf%C3%ADaEquino(sep12).pdf). Consultada 23 de Febrero 2014.
- Finsterer J, Herbert A. 2007. Neurotoxocariosis. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo;* 49(5):279-287.
- Fleiss, J.L. 1981. *Statistical methods for rates and proportions.* Second Edition. New York NY: John Wiley and Sons, Inc. 3 (2):737-1.
- Georgiou, C., Efstathiades, Y., Dimitriou, N., Theophanous, M. Voros, D. 2007. An unusual case of *Toxocara canis* of the ascending colon. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 19 (12):1149-53.
- Gibbons, L. M., Jacobs, D. E., Sani, R. A. 2001. *Toxocara malaysiensis* n. sp. (Nematoda:Ascaridoidea) from domestic cat (*Felis catus* Linnaeus 1758) *J. Parasitol.* 87 (3):660-5.

- Gortari, C., Cazau, C. y Hours, R. 2007. Hongos nematófagos de huevos de *Toxocara canis* en un paseo público de La Plata, Argentina. *Rev Iberoam Micol.* 24:24-28.
- Gutiérrez Pabello J.A.: *Inmunología Veterinaria*. 1ª ed. El Manual Moderno, México. 2010.
- Guzman, V. E., 2004. Las pruebas de ELISA. *Rev. Gac. Med. Mex.* 140 (3) : (1-2).
- Ghiani, H. 2001. Toxocariosis y asma. *Arch Alergia Inmunol Clin.* 32 (2):102-105.
- Helbok R, Brenneis C, Engelhardt K, Beer R, Lackner P, Broßner B, Pfausler B, Schmutzhard E. 2007. A rare case of *Toxocara canis* cerebral vasculitis. *European Journal of Neurology*; 14: 49.
- Helsen, G., Vandecasteele, S., Vanopdenbosch, L. 2011. Toxocariosis presenting as encephalomyelitis. *Case Rep. Med. ID* 503913: 1-4.
- Hoffmeister, B., Glaeser, S., Flick, H., Pornschlegel, S., Suttorp, N., Bergmann, F. 2007. Cerebral Toxocariosis after consumption of raw duck liver. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 76 (3):600-2.
- Holland, C. V. y Smith, H. V. 2006. *Toxocara* the Enigmatic Parasite. Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI Publishing. 301pp.
- Huapaya, P., Espinoza, Y., Roldán, W. y Jiménez, S. 2009. Toxocariosis humana: ¿problema de salud pública?. *Rev. An Fac med.* 70(4): 283-90.
- Hurtado, F. A., Tórtora, P. J. L., Tsutsumi, V. y Ortega, M.G. 2000. Histopathological investigation of experimental ocular toxocariasis in gerbils. *International Journal for Parasitology* 30: 143-147.
- Iddawela, R.D., Rajapakse, R.P.V.J., Perera, N.A.N.D. y Agatsuma, T. 2007. Characterization of a *Toxocara canis* species-specific excretory-secretory antigen (TcES-57) and development of a double sandwich ELISA for diagnosis of visceral larva migrans. *Korean J. Parasitol.* 45(1): 19-26.

- INEGI. 2010. Censo de población y vivienda 2010. Disponible en: http://www.inegi.org.mx/sistemas/iter/consultar_info.aspx
- INEGI. 2013. INEGI y Secretaría de Economía. Fracción arancelaria: 02050001 Carne de animales de las especies caballar, asnal o mular, fresca, refrigerada o congelada.
- Javier, C., Alger, J. 2002. Larva migrans visceral: Enfoque diagnóstico con énfasis en el inmunodiagnóstico. Laboratorio en la práctica clínica. Honduras 70: 125-126.
- Jin, Z., Akao, N., Ohta, N. 2008. Prolactin evokes lactational transmission of larvae in mice infected with *Toxocara canis*. Parásitol. Int. 57 (1):495–498.
- Kaplan, K. J., Goodman, Z. D., e Ishak, K. G. 2001. Eosinophilic Granuloma of the Liver. A Characteristic Lesion With Relationship to Visceral Larva *Migrans*. Am J Surg Pathol, 25(10): 1316-1321.
- 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. Oswaldo Cruz. 99 (2):121-5.
- Keegan, J. D. y Holland, C. V. 2010. Contamination of the hair of owned dogs with the eggs of *Toxocara* spp. Vet Parasitol. 1-16.
- Laforé, E. 2005. Evaluación de la eficacia de una formulación a base de Niclosamida y Oxibendazole (Vermi-Tabs 15) contra infestaciones naturales de *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum* y *Dipylidium caninum* en perros. Agrovvet Market.
- Lai, S. C., Chen, K. M., Chen, H. C. y Lee, H. H. 2005. Induction of matrix metalloproteinase-9 in mice during *Toxocara canis* larvae migration. Parasitol. Res. 95: 193-200.
- Larocca, G., Moreno, D., Garmendia, J., Bautista, J. 2010. Niveles séricos de metaloproteinasa 9 (MMP-9) y del inhibidor tisular de MMP tipo 1 (TIMP-1) en pacientes venezolanos con asma o con enfermedad

pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Rev de la Facultad de Medicina 33(1): 6-10.

Lescano, Z. S., Queiroz, L. M., Chieffi, P. P. 2004. Larval recovery of *Toxocara canis* in organs and tissues of experimentally Infected *Rattus norveracus*. Mem. Inst. R.J. 99 (6):627-628.

Lindon W. M. L., Gallo, C. 2013. Perfil de ácidos grasos de carne de ovino y caballo criados bajo un sistema de producción extensiva. Rev. Investig. Vet. Perú, Lima. 24(3):1-4.

López, M. A., Martin, G., Chamorro, M. C. Alonso, J. M. 2005. Toxocariosis en niños de una región subtropical. Med. B. Aires. 65 (3): 226-230.

Luzna, L. 2000. Toxocariosis in children living in a highly contaminated area. An epidemiological and clinical study. Acta Parasitol. 45 (1):40–42.

Maguiña, V. C., Soto, L., Egoavil, R. M., Breña, P., 2004. Enfermedades de mascotas en humanos. Revisión actualizada. Rev. Soc. Per. Med. Inter. 17 (1) : (17-26).

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.

Magnaval J. F., Glickman L. T., Dorchie P. Morassin B., 2001. Highlights of human toxocariosis. Korean. J. Parasitol. 39(1): 1-11.

Magnaval, J. F., Malard, L., Morassin, B., Fabre, R. 2002. Immunodiagnosis of ocular toxocariosis using western-blot for the detection of specific anti-*Toxocara* IgG and cap for the measurement of specific anti-*Toxocara* IgE. J. Helminthol. 76 (4):335-9.

Maldonado, D. M. C. I. 2014. Prevalencia de anticuerpos a *Toxocara canis* en caballos de la policía montada de Iztapalapa, Distrito Federal. Tesis

- Manson, P., Cook, G. C. y Zumla, A. 2003. *Manson's tropical diseases*. 21^oed. Saunders, London, UK.
- Maizels, R. M., Tetteh, K. K., Loukas, A. 2000. *Toxocara canis*: genes expressed by the arrested infective larval stage of a parasitic nematode. *Int. J. Parasitol.* 30 (4):495-508.
- Maizels, R. M., Shabussova, I., Callister, M. D., Nicoll, G. 2006. Molecular biology and immunology of *Toxocara canis*. *Int. J. Parasitol.* 25 (2):3-17.
- Maizels, R., y Yazdanbakhsh, M. 2008. T-cell regulation in helminth parasite infections: implications for inflammatory diseases. *Chemical Immunology and Allergy.* 94: 112–123.
- Maizels, R. M. 2013. *Toxocara canis*: Molecular basis of immune recognition and evasión. *Vet Parasitol* 193: 365– 374.
- Martínez, B. I., Gutiérrez, Q. M., Fernández, P. A. M., Pérez, L. J., Vázquez, T. O., y García, Y. Y. 1997 Reactividad serológica a antígeno de *Toxocara canis* en una población escolar. *Rev Mex Patol Clin*; 44: 85-89.
- Martínez, B. I., Fernández, A., Vázquez, O. 1998. Frecuencia de *Toxocara canis* en perros y áreas verdes del sur de la ciudad de México, Distrito Federal. *Vet. Mex*: 29 (3):339-244.
- Márquez, N. A. 2008. Actividad antihelmíntica de derivados del bencimidazol sobre *Hymenolepis nana* y *Toxocara canis*. Tesis de Doctorado, Instituto Politécnico Nacional, México.
- Mateo, E., Casal J 2003. Tipo de muestreo *Rev. Epidem. Med. Prev.* 1, 3-7
- McSorley, H. J., Hewitson, J. P., Maizels, R. M. 2013. Immunomodulation by helminth parasites: Defining mechanisms and mediators. *International Journal for Parasitology* 43: 301–310.

- Menocal, L. T. y Chiroles, S. 2004. Consideraciones generales acerca de los huevos de helmintos en aguas residuales. Rev. electrónica de la Agencia de Medio Ambiente. 4(7): 1683-8904.
- Morales, R.O. 1999. Identificación de antígenos de *Toxocara canis* mediante la técnica de western blot en conejos infectados experimentalmente. Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia.
- Morales, O. L., Lopez, M. C., Nicholls, R. S., Agudelo, C. 2002. Identification of *Toxocara canis* antigens by Western blot in experimentally infected rabbits. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 44: 213-216.
- Moreno, S. E., Mendoza, O. M., 2011. Análisis de las condiciones socioeconómicas, territoriales, ambientales y políticas del municipio de San Vicente Chicoloapan en el oriente del estado de México. Redalyc. 13 (1) : (35-62).
- Muñoz, M. A. y Alba F. 2010. Antígenos de secreción-excreción de *Toxocara canis* reconocidos por cachorros del área metropolitana de la Ciudad de México. Rev. Veterinaria México. 41(1): 59-64.
- Okulewicz, A., Perek-Matysiak, A., Bunkowska, K., Hildebrand, J. 2012. *Toxocara canis*, *Toxocara cati* and *Toxascaris leonina* in wild and domestic carnivores. Helminthologia. 49 (1):3 – 10.
- Overgaauw, P. A., Knapen, F. 2013. Veterinary and public health aspects of *Toxocara* spp. Vet Parasitol. 15;193 (4): 398-403.
- Olushola, S. A., Omolola, T. A. y Folashade, B. A. 2010. Intestinal Nematodes: A Revisión. The Pacific Journal of Science and Technology. May 11(1); 466-477.
- Overgaauw, P. A. M., Zutphen, L., Hoek, D., Yaya, F. O., Roelfsema, J., Pinelli, E., Knapen, F. y Kortbeek, L. M. 2009. Zoonotic parasites in fecal samples and fur from dogs and cats in The Netherlands. Rev. Veterinary Parasitology. 3(44): 1-8.

- Pivetti, P. 2009. Ocular toxocariosis. *Int. J. Med. Sci.* 6 (3):129-130.
- Ponce, M., Rodríguez, A., Peralta, G., Martínez, M. 2011. A simplified method for hatching and isolating *Toxocara canis* larvae to facilitate excretory–secretory antigen collection *in vitro*. *Vet Parasitol.* 175 (3-4):382–5.
- Quiroz, R. 2005. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. *Limusa* 2 (2):405.
- Rassier, G. L., Pappen, F. G., Borsuk, S., Scaini, C. J., Gallina, T., Pinto, J, S., Rodrigues, S. & Berne M. E. 2009. Prevalencia de anticuerpos para *Toxocara canis* en ovinos na regio sul do Estado do Rio Grande do Sul. Programa de Pós-Graduacao en Parasitologia.
- Roldán, W., Espinoza, Y. A., Atúncar, A., Ortega, E., Martínez, A. y Saravia, M. 2008. Frequency of eosinophilia and risk factors and their association with *Toxocara* Infection in schoolchildren during a health survey in the north of Lima, Perú. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo.* 50 (5):273-278.
- Roldan, H. W., Espinoza, A. Y., Huapaya, E. P., Jiménez, S., 2010. Diagnóstico de la toxocariosis humana. *Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública.* 27 (4) : 613-620.
- Romero, N. C., García, C. A., Mendoza, M. G., 2009. Contaminación por *Toxocara* spp en parques de Tulyehualco, México. *Rev. Cient. Maracaibo.* 19 (3): 253-256.
- Romero, N. C., Mendoza, G.D., Bustamante, L.P., Crosby, M. M., y Ramirez, N. 2011. Presencia y viabilidad de *Toxocara* spp. en suelos de parques públicos, jardines de casas y heces de perros en Nezahualcóyotl, México. *Revista Científica, FCV-LUZ* 21(3): 195 – 201.
- Rubinsky-Elefant G, Hirata C, Yamamoto J, Ferreira M. 2010. Human toxocariasis: diagnosis, worldwide seroprevalences and clinical

expression of the systemic and ocular forms. *Ann Trop Med Parasitol*; 104:3–23.

- Rubinsky, E. G., Hirata, C. E., Yamamoto, J. H., Ferreira, M. U. 2010. Human toxocariosis: diagnosis, worldwide seroprevalences and clinical expression of the systemic and ocular forms. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 104 (1):3-23.
- Ruíz, F., Palomino, J., Zambrano, R., Llap, C. 2006. Prevalencia, impacto en la productividad y costos totales de las principales enfermedades en los trabajadores de un hospital al sur del Perú en el año 2003. *Rev. Med. Hered.* 17 (1):28-34.
- Sakai, S., Shida, Y., Takahashi, N., Yabuuchi, H., Soeda, H., Okafuji T. 2006. Pulmonary lesions associated with visceral larva *migrans* due to *Ascaris suum* or *Toxocara canis*: Imaging of six cases. *Ajr. Am. J. Roentgenol.* 186 (6):1697-702.
- Sánchez, H. 2005. Coevolución genética de la interacción parásito-hospedero. *Ciencia ergo sum.* 12(2): 144-148.
- Santos, S., Lescano, S., Castro, J. y Chieffi, 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 Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 104(6): 933-934.
- Salem, G. & Schantz P. 1992. Toxocaral visceral larva migrans after ingestion of raw lamb liver. *Clin Infect Dis.* 15: 743-744
- Singh, A., Cunningham, E. T., Stewart, J. M. 2007. Detection and treatment of ocular Toxocariosis. *Rev. Ophthalmol.* 14 (1):55-58.
- Shirangi, A., Fritschi, L., Holman, C. D. 2007. Prevalence of occupational exposures and protective practices in Australian female veterinarians. *Aust Vet.* 85 (1-2):32-8.

- Schnieder, T., Laabs, E. M., y Welz, C. 2011. Larval development of *Toxocara canis* in dogs. *Vet Parasitol.* 175(3-4): 193-206.
- Stangogiannis, D., Marval, H., Moreno, M., Martínez, M., Stangogiannis, C. 2007. Experimental ocular larva *migrans* infection in mice. *Arch. Soc. Esp. Ophthalmology.* 82 (2):89-93.
- Strube C, Heuer L, Janacek E. 2013. *Toxocara* spp. infections in paratenic hosts. *Veterinary Parasitology*; 193:375–389.
- Sommerfelt, I. E., Degregorio, O. J., López, C. M., de Cousandier, A. S. y Franco, A. J. 2002. Inferstividad de huevos de *Toxocara canis* obtenidos de heces de paseos públicos de la ciudad de Buenos Aires. *Rev. Científica FCV-LUZ.* 12(6): 742-746.
- Taylor, M. D., Van der Werf, N. y Maizels, R. M. 2012. T cells in helminth infection: the regulators and the regulated. *Trends in Immunology.* 33(4): 181–189.
- Tinoco, L., Barrera, S., López, V., Tamayo, S., Quiroz, R., Melgarejo, T. 2008. Seroprevalence of larva *migrans* of *Toxocara canis* and evaluation of associated risk factor among children in Mexico – United States border region. *Intern J. Appl Res Vet Medol.* 6 (2):130-136.
- Tortolero L. J., Cazorla, D. J., Morales, P. y Acosta, M. E. 2008. Prevalencia de enteroparásitos en perros domiciliarios de la ciudad de la Vela, Estado Falcón, Venezuela. *Rev. Científica FCV-LUZ.* 18(3): 312-319.
- Tremaine, H. 1999. Dental care in horses. *In Practice.* 19(2):186-199.
- Van Die, I. y Cummings, R. D. 2010. Glycan gimmickry by parasitic helminths: a strategy for modulating the host immune response?. *Glycobiology.* 20(1): 2–12.
- Vargas, C. M., Soto, L., Egoavil, M. y Breña, P. 2004. Enfermedades de mascotas en humanos. Revisión Actualizada. *Rev. Soc. Per. Med. Inter.* 17(1): 17-26.

- Yang, S., Keystone, L., McIntyre, H., Spence, T. 1982. *Toxocara* Antibodies in Vet Personnel. *Can Vet J*, 23 (4):126–128.
- Young, C. C., Yauri, L. R., Yance, C. S., Villavicencio, C. J., Vera, M. K., Villegas, V. J., Zuñiga, V. P., Zari, H. C., Vilchez, P. M., 2010. Frecuencia de *Toxocara spp.* En los parques del distrito de breña, Lima-Perú. *Rev. Peruana de epidemiologia*. 15 (3) : (1-4).
- Watthanakulpanich, D. 2010. Diagnostic Trends of Human Toxocariosis. *J. Trop. Med. Parasitol.* 33 (1):44-52.
- Werner-Becker, M.P., Gallo, C. 2009. Bienestar animal en equinos destinados al sacrificio: transporte, reposo y aturdimiento. *Bienestar Animal y Calidad de la Carne* 50 (4-5):85-11.
- Wickramasinghe, S., Yatawara, L., Rajapakse, P., Agatsuma, T. 2009. *Toxocara canis* and *Toxocara vitulorum*: molecular characterization, discrimination, and phylogenetic analysis based on mitochondrial (ATP synthase subunit 6 and 12S) and nuclear ribosomal (ITS-2 and 28S) genes. *Parásitol. Res.* 104 (3):1425–1430.
- Wolf, A. y Wright, I. P. 2003. Human toxocariasis and direct contact with dogs. *Veterinary Record*. 152: 419-422.
- Won, Y., Kruszon, D., Schantz, M., Jones, L. 2008. National Seroprevalence and Risk Factors for Zoonotic *Toxocara spp.* *Infection. Am. J. Trop. Med. Hyg.* 79 (4):552–557.
- Zevallos S. A., Nakhle, M. C., Ribeiro, M. C. & Chieffie P.P. 2012. IgG antibody responses in mice coinfecting with *Toxocara canis* and other helminths or protozoan parasites. *Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 54 (3): 145-152.

13. ANEXOS.

Anexo 1.

Kit de diagnóstico por ELISA de *Toxocara canis*, **SCIMEDX Toxocara Microwell Serum ELISA**

No existe un método definitivo para diagnosticar infecciones por *Toxocara canis*, por lo tanto la sensibilidad y especificidad de las pruebas serológicas no pueden ser determinada con exactitud.

El diagnóstico se complica aún más por el hecho de que la respuesta de anticuerpos varía dependiendo de la carga de gusanos y la ubicación. Sin embargo, numerosos estudios han demostrado que los inmunoensayos que utilizan un antígeno excretor purificado a partir de la fase larvaria, como ELISA, han demostrado mejora significativa de sensibilidad y especificidad en comparación con los ensayos que usan antígenos.

Principios del procedimiento

Los micropozos de prueba se recubren con un excretor antígeno de larvas de *Toxocara*.

Durante la primera incubación con será de los pacientes diluidos, cualquier anticuerpo que es reactivo con el antígeno se unen a los pozos recubiertos. Después del lavado para quitar el resto de la muestra, la Enzima Conjugado es añadida. Si los anticuerpos han estado destinados a los pozos, la Enzima Conjugado entonces atará a estos anticuerpos.

Después de otra serie se añade lavado, un cromógeno (tetrametilbenzidina o TMB). Si el conjugado de enzima está presente, la peroxidasa cataliza una reacción que consume el peróxido y convierte el cromógeno de claro a azul. La adición de la Solución de Parada termina la reacción y gira el color

azul a un color amarillo brillante. La reacción entonces puede ser leída visualmente o con un lector ELISA.

-Condiciones de almacenamiento

-Reactivos, tiras y componentes embotellados:

-Almacenar entre 2-8 ° C.

-Apretar la botella que contiene tampón de lavado diluido puede conservarse a temperatura ambiente.

La colección y la Preparación del suero

-Coagular la sangre y eliminar el suero.

-Congelar la muestra a -20 ° C o más baja si no se utilizan inmediatamente.

-No inactive por calor suero y evitar los ciclos de congelación y descongelación de las muestras.

Materiales sugeridos.

Lector de placas de ELISA con 450 nm y unos 650 a 620 nm filtro (opcional si los resultados se leen visualmente)

Procedimiento de la prueba

1. Se toma el número de pozos necesario (dos para controles, más el número de muestras) y colocar en soporte de tiras.
2. Añadir dos gotas del control negativo el pocillo n ° 1, dos gotas de él control positivo para el pocillo n ° 2 y dos gotas de la dilución.

Nota: Los controles se suministran ya diluidos. No diluir más.

3. Incubar a temperatura ambiente (15 a 25 ° C) durante 10 minutos.
4. Sacuda el líquido y lavar 3 veces con el tampón de lavado diluido.
5. Agregar 2 gotas de Conjugado Enzimático en cada pocillo.
6. Incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos.
7. Sacuda el líquido y lavar 3 veces con tampón de lavado. Slap placas

contra la toalla de papel para eliminar el exceso de humedad.

8. Añadir 2 gotas de la solución de cromógeno a cada pocillo.

9. Incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos.

10. Agregar 2 gotas de la solución de parada y mezclar tocando soporte de tiras.

Anexo 2. Imágenes del procedimiento.

Figura1. Asepsia en área de la toma de la muestra.



Figura 2. Toma de la muestra.



Figura 3. Kit de diagnóstico por ELISA de *Toxocara canis*.



Figura 4. Suero sanguíneo



Figura 5. Recubrimiento en los micropozos con excretor antígeno de larvas de *Toxocara*.

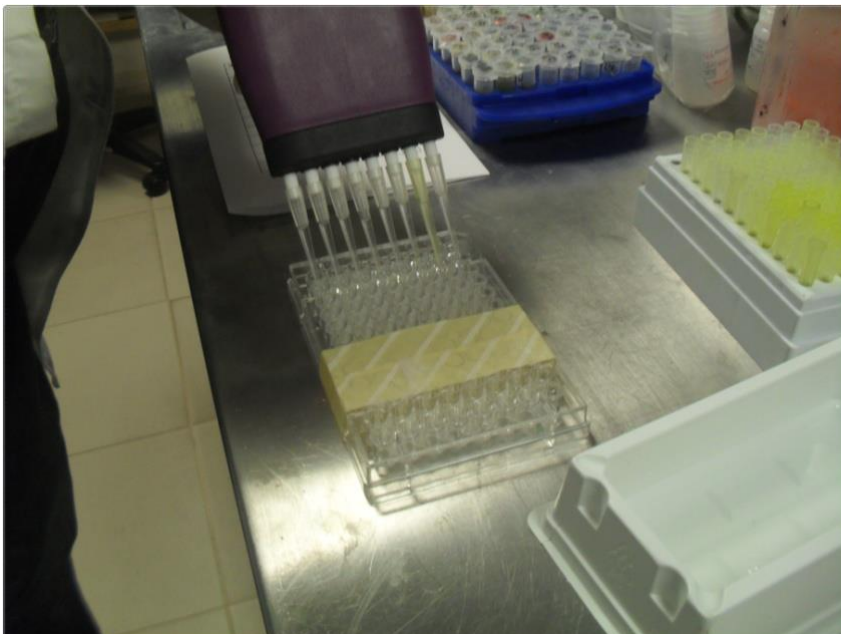


Figura 6. Lavado de alícuota.



Figura 7. Separación de sueros.



Figura 8. Hoja de registro para control del suero ELISA.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1	9	12	25	33	41	47	52	65	73	81	87
B	2	10	12	26	34	43	50	57	65	73	81	87
C	3	11	18	27	36	45	51	58	67	75	83	89
D	4	8	19	28	36	45	51	60	67	75	83	89
E	5	13	21	28	37	45	51	60	67	75	83	89
F	6	14	22	30	37	45	51	60	67	75	83	89

Figura 9. Agregado de gotas de conjugado enzimático en cada pocillo.

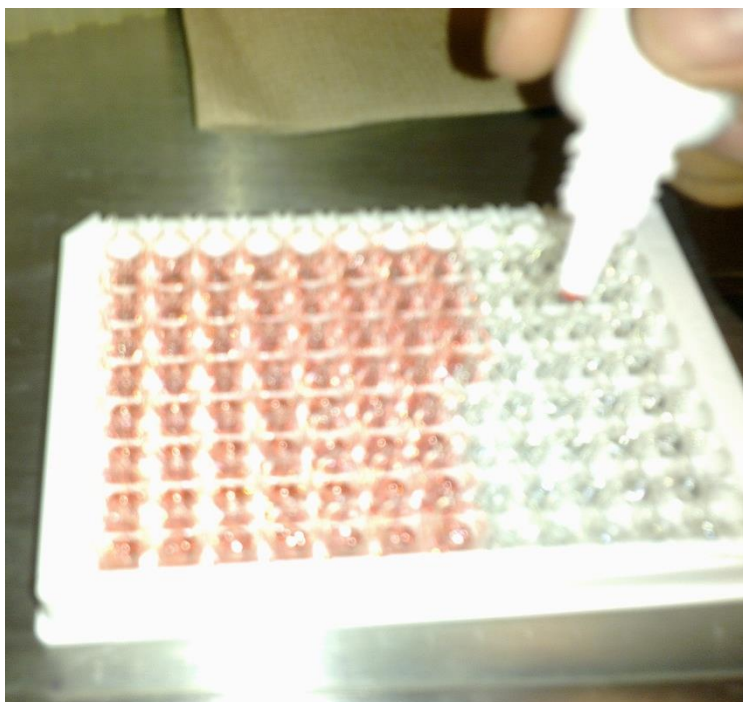


Figura 10. Agregado de gotas de la solución de cromógeno a cada pocillo.

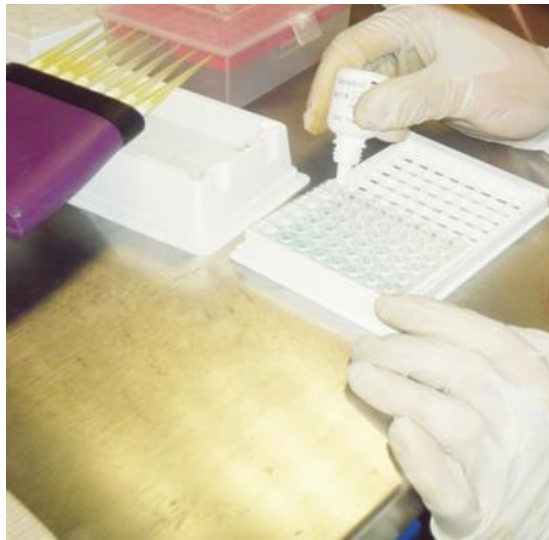


Figura 11. Incubación a temperatura ambiente durante 5 minutos.

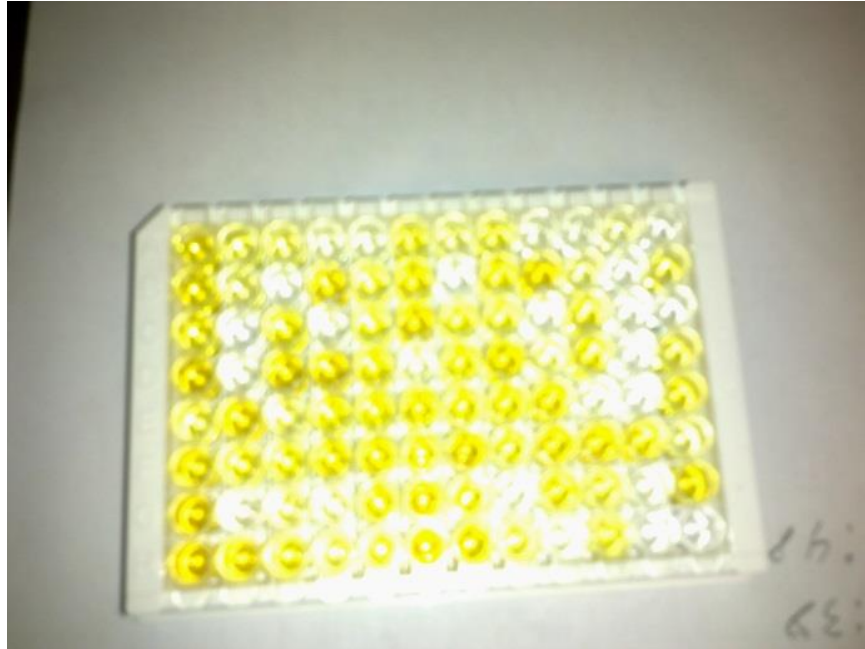


Figura 12. Lectura de resultados.

