

COMUNICACIÓN

EVOLUCIÓN DE HUEVOS DE *TOXOCARA CANIS* A SU ESTADIO INFECTANTE

Oswaldo J. Degregorio (MV, MS), Irma E. Sommerfelt (MV., DSP.), Andre S. de Cousandier (MV.), Clara M. López (MV.), Aníbal J. Franco (MV., DSP.)*

DEVELOPMENT OF *TOXOCARA CANIS* EGGS TO THEIR INFECTIVE STAGE

Eggs of Toxocara canis obtained from adult females of the parasite were studied during a winter and a summer period. Their development through their infective stage was studied in terms of time, temperature, laboratory humidity and lack of light. During winter, with temperatures ranging from 6.4°C to 15.1°C, and humidity levels of 98.5 ± 0.5%, eggs did not develop to their infective stage after 90 days of incubation. During summer, with temperatures ranging between 19.1°C and 29.2°C, and humidity levels of 80.0 ± 0.5%, at 35 days of incubation it was observed that 95.3 ± 2.7% of eggs had reached a larval stage, and 96.1 ± 1.1% of larvae were mobile.

Palabras clave: toxocara canis, evolución, temperatura de laboratorio.

Key words: toxocara canis, evolution, laboratory, temperature.

INTRODUCCIÓN

La toxocarosis es una enfermedad zoonótica causada por los nematodos *Toxocara canis* y *Toxocara cati*, parásitos de alta prevalencia en caninos y felinos (Schantz y Glickman, 1988). Los huevos de estos parásitos eliminados al ambiente con la materia fecal desarrollan en su interior una larva infectante. Para ello se requieren determinadas condiciones de temperatura, humedad y aireación. Las combinaciones de estos factores hacen variar el tiempo de desarrollo de los huevos (Glickman y Schantz, 1981).

El suelo de las plazas de la ciudad de Buenos Aires se encuentra contaminado con huevos de *Toxocara* sp. (Sommerfelt y col., 1992; 1993; 1994), constituyendo áreas de riesgo para la transmisión de la enfermedad.

No todos los trabajos donde se hace referencia a la viabilidad de los huevos de *Toxocara* consideran las mismas variables ecológicas o son suficientemente cuantificados, lo que dificulta la comparación de los resultados (Sprenst, 1952; Bisseru y Woodruff, 1968; Borg y Woodruff, 1973; Kayes y Oaks, 1978; Cypess y col., 1977; Dubey, 1978; Cuéllar de Hoyo y col., 1986; Guillen-Llera y col., 1986; Fenoy-Rodríguez y

col., 1987; Huwer y col., 1989; Nakamura y col., 1991).

Asimismo, la fuente de obtención de los huevos estudiados por distintos autores es variable. Las más utilizadas son la recolección directamente desde el aparato reproductor de las hembras adultas (Sprenst, 1952; Bisseru y Woodruff, 1968; Dubey, 1978; Cuéllar del Hoyo y col., 1986; Guillen-Llera y col., 1986; Fenoy-Rodríguez y col., 1987; Huwer y col., 1989; Nakamura y col., 1991), o de las heces de perros y gatos (Kayes y Oaks, 1978; Cypess y col., 1977) o desde el suelo (Borg y Woodruff, 1973).

El objetivo del presente trabajo será establecer los tiempos necesarios para que en condiciones de humedad constante y temperatura de laboratorio los huevos de *T. canis* evolucionen a su estadio infectante.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en dos períodos: invernal (meses de junio, julio y agosto) y estival (meses de noviembre y diciembre).

En cada período los huevos se obtuvieron de hembras adultas de *T. canis*, recolectadas desde el intestino de perros jóvenes. Los parásitos se seccionaron y trituraron en un mortero con el agregado de 45 ml de solución fisiológica, extrayéndose para su estudio siete fracciones que contenían 2 g de masa parasitaria cada una.

A cada una de las fracciones se le añadió un medio compuesto de 25 ml de solución de formol al 0,5% y

*Área Veterinaria en Salud Pública, Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad de Buenos Aires. Avda. Chorroarín 280 (1427), Buenos Aires, Argentina.

0,01 ml de iodopovidona al 10%. Las mismas se incubaron en cámara húmeda.

Se registraron diariamente las temperaturas mínima y máxima del laboratorio, como así también los porcentajes de humedad en la cámara.

Se efectuó el recuento de huevos al iniciar la incubación y luego cada 7 días. Para ello se extrajeron 2 ml de cada una de las muestras, previamente homogeneizadas, utilizándose la técnica de flotación con solución saturada de sulfato de magnesio (Quinn y col., 1980). El recuento se efectuó en cámara de Mac Master y el factor de dilución empleado fue de 1:100 (Sommerfelt y col., 1996). Los resultados se expresan en número y % de huevos larvados y no larvados por g de material.

Se dispuso concluir ambas experiencias cuando el porcentaje de huevos larvados superara el 85% en total y cada una de las muestras.

Para determinar el estadio potencialmente infectante de cada muestra se tuvo en cuenta que la estructura morfológica de las larvas en el interior de los huevos fuera completa, su motilidad y la presencia de ejemplares eclosionados. Con ese fin, al finalizar el estudio se tomó de cada muestra una gota de material homogeneizado por agitación, observándose con microscopio óptico (100X) entre porta y cubreobjetos.

RESULTADOS

En el *período invernal* el recuento muestral promedio al iniciar la experiencia, fue de 18.414 ± 1.038 huevos por g de material.

Los registros térmicos del laboratorio correspondientes a esta etapa del estudio variaron entre $6,4^{\circ}\text{C}$ de mínima y $15,1^{\circ}\text{C}$ de máxima, siendo el promedio de las variaciones térmicas diarias $4,3 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$. Los registros higrométricos en la cámara húmeda fueron $89,5 \pm 0,5\%$. En estas condiciones no se observaron huevos larvados en las muestras estudiadas.

Con el objeto de verificar la viabilidad de los huevos presentes en estas muestras, se continuó la incubación, en un tiempo complementario, durante el cual la temperatura osciló entre $20,2 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$. Cuando

el porcentaje de huevos larvados superó el 85% ($89,6 \pm 3,0\%$) se concluyó la incubación.

En el *período estival* el recuento muestral promedio al iniciar la experiencia, fue de 15.543 ± 923 huevos por g de material.

Los registros térmicos del laboratorio correspondientes a esta etapa del estudio variaron entre $19,1^{\circ}\text{C}$ de mínima y $29,2^{\circ}\text{C}$ de máxima, siendo el promedio de las variaciones térmicas diarias $5,8 \pm 1,1^{\circ}\text{C}$. Los registros higrométricos fueron $80,0 \pm 0,5\%$.

Los resultados obtenidos en el período estival se presentan en el Cuadro 1.

DISCUSIÓN

En el primer período del trabajo, con temperatura de laboratorio estable cercana a los 10°C , humedad constante y 90 días de incubación no se observaron huevos larvados. Cuando la temperatura superó los 20°C larvó el 85%. Otros estudios señalan que a temperatura de 8°C (Boch y Supperer, 1982) o de 15°C (Glickman y Schantz 1981) los huevos del parásito pueden evolucionar a su estadio larvario.

En el segundo período, a temperatura de laboratorio promedio de 25°C y humedad constante, los huevos comienzan a larvar a partir de los 14 días de incubación. A los 35 días el 95% de los mismos ya había larvado. Diferentes autores, con el objetivo de inocular diversos animales de experimentación, sólo mencionan "temperatura ambiente" sin especificarla y 40 días de incubación (Sprent, 1952) o durante 90 días (Kayes y Oaks, 1978), otros emplean temperaturas entre 22°C y 26°C durante 21 a 42 días (Dubey, 1978), 25°C durante 28 días (Huwer y col., 1989) temperatura ambiente "cercana a 24°C durante 21 días" (Cypess y col., 1977) y "cercana a 26°C durante un tiempo mínimo de 30 días" (Bisseru y Woodruff, 1968), 30°C durante 21 días (Nakamura y col., 1991). Cabe destacar que no mencionan la proporción de huevos que larvaron.

Algunos autores (Cuéllar del Hoyo y col., 1986; Guillen-Llera y col., 1986; Fenoy-Rodríguez y col., 1987) incubaron huevos de *T. canis* a temperatura de

CUADRO 1
PERÍODO ESTIVAL. DESARROLLO DE HUEVOS DE *TOXOCARA CANIS*.
(RESULTADOS EXPRESADOS COMO PROMEDIO DE 7 MUESTRAS).

Día	Nº huevos no larvados	E.E.	Nº huevos larvados	E.E.	% huevos larvados	Var. %
0	15.543	923	0	0	0	—
7	14.766	954	0	0	0	—
14	12.812	567	2.757	452	17,71	1,31
21	7.827	423	7.796	472	49,90	1,30
28	5.440	215	9.443	654	63,45	2,25
35	643	94	13.786	889	95,28	2,67

E.E. = error estándar.

37°C, en presencia y en ausencia de luz, sin hacer referencia a la humedad ambiente. Ellos observaron que el 100% de los huevos embrionaron a los 32 días de incubación expuestos a la luz y que no completaron su desarrollo los que permanecieron en la oscuridad. Si bien nuestros resultados se asemejan a los de estos autores, no hemos observado el fenómeno de fotodependencia mencionado. En nuestro estudio las muestras con huevos de *T. canis* fueron incubadas en cámara húmeda sin exposición a la luz, situación que no inhibió el desarrollo larval.

De acuerdo a los resultados observados, las muestras estudiadas tuvieron un alto potencial infectante. Si bien el criterio empleado en la determinación de este estadio podría ser inadecuado en estudios parasitológicos y/o inmunológicos (Oksanen y col., 1990), puede aplicarse cuando el enfoque es epidemiológico.

Los resultados nos permiten concluir que cuando la temperatura ambiental alcanza valores cercanos a los 25°C, en condiciones de humedad semejantes a los de la cámara húmeda, aumenta el riesgo de infección con *T. canis* para las poblaciones humana y animal que frecuentan lugares públicos de recreación contaminados con huevos de estos parásitos.

RESUMEN

Se estudiaron durante los períodos invernal y estival, muestras de huevos de *Toxocara canis* obtenidos de hembras adultas del parásito. Se observó su evolución al estadio infectante en función del tiempo, temperatura, humedad de laboratorio y ausencia de luz. En el período invernal, con temperaturas que variaron entre 6,4°C y 15,1°C y humedad de 89,5 ± 0,5%, los huevos no evolucionaron a su estadio infectante, luego de una incubación de 90 días. En el período estival, con temperaturas que variaron entre 19,1°C y 29,2°C y humedad de 80,0 ± 0,5%, a los 35 días se observó que el 95,3 ± 2,7% de los huevos habían larvado y el 96,1 ± 1,1% de las larvas eran móviles.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado merced a un subsidio de Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad de Buenos Aires. Programación 1994-1997.

REFERENCIAS

BISSERU, B., A.W. WOODRUFF, 1968. The detection of circulating antibody in human *Toxocara* infections using the indirect fluorescent antibody test. *J. Clin. Path.* 21: 449-455.

- BOCH, J., R. SUPPERER. 1982. Parasitología en Medicina Veterinaria. Buenos Aires, Ed. Hemisferio Sur.
- BORG, O.A., A.W. WOODRUFF. 1973. Prevalence of infective ova of *Toxocara* species in public places. *British Med. J.* 4: 470-472.
- CUÉLLAR DEL HOYO, C., S. FENOY-RODRÍGUEZ, C. ÁGUILA DE LA PUENTE, J.L. GUILLEN-LLERA. 1986. Nuevos datos sobre la fotodependencia del desarrollo de *Toxocara canis*. *Rev. Iber. Parasitol.* 46(4): 409-417.
- CYPRESS, R.H., M.H. KAROL, J.L. ZIDIAN, L.T. GLICKMAN, D. GITLIN. 1977. Larva-specific antibodies in patients with Visceral Larva Migrans. *J. Inf. Diseases*, 135(4): 633-640.
- DUBEY, J.P. 1978. Patent *Toxocara canis* infection in ascarid-naive dogs. *J. Parasit.*, 82: 383-387.
- FENOY-RODRÍGUEZ, S., C. CUÉLLAR DEL HOYO, J.L. GUILLEN-LLERA. 1987. Estudio comparativo de la influencia de la luz en el embionamiento experimental de los huevos de *Toxocara canis* y *Toxascaris leonina*. *Rev. Ibér. Parasitol.* 47(Extr.): 173-177.
- GLICKMAN, L.T., P.M. SCHANTZ. 1981. Epidemiology and Pathogenesis of zoonotic toxocaríasis. *Epid. Rev.* 230-250.
- GUILLEN-LLERA J.L., C. CUÉLLAR DEL HOYO, C. AGUILA DE LA PUENTE. 1986. Fotodependencia del desarrollo embrionario de *Toxocara canis* (Werner, 1782) Stiles, 1905. *Rev. Ibér. Parasitol.* 46(1): 67-74.
- HUWER, M., S. SANFT, J. AHMED. 1989. Enhancement of neutrophil adherence to *Toxocara canis* larvae by the C3 component of complement and Ig G antibodies. *Zbl. Bakt. Hyg. A* 270: 418-423.
- KAYES, S.G., J.A. OAKS. 1978. Development of the granulomatous response in murine *Toxocaríasis*. *Am. J. Pathol.*, 93(2): 277-285.
- NAKAMURA, S., T. SOTOYAMA, S. HAYASAKA, Y. KAMEYAMA, S. MARUYAMA, Y. KATSUBE. 1991. Parasitism of *Toxocara canis* larvae in Japanese Quails by inoculation of the ascarid eggs. *J. Vet. Med. Sci.*, 53(5): 865-872.
- OKSANEN, A., L. ERIKSEN, B. ROEPSTORFF, P. ILSOE, P. NANSEN, P. LIND. 1990. Embryonation and infectivity of *Ascaris suum* eggs. A comparison for eggs collected from worm uteri with eggs isolated from pig faeces. *Acta Vet. Scand.* 31: 393-398.
- QUINN, R., H.V. SMITHE, R.G. BRUCE. 1980. Studies on the incidence of *Toxocara* and *Toxascaris* spp. ova in the environment. 1. A comparison of flotation procedures for recovering *Toxocara* sp. ova from soil. *J. Hyg.*, 84: 83-89.
- SCHANTZ P.M., L.T. GLICKMAN. 1988. *Toxocaral larva migrans*. *J. Am. Vet. Ass.*, 192(1): 28-32.
- SOMMERFELT, I.E., O.J. DEGREGORIO, M. BARRERA, G. GALLO. 1992. Presencia de huevos de *Toxocara* spp. en paseos públicos de la Ciudad de Buenos Aires, Argentina, 1989-1990. *Rev. Med. Vet.*, 73(2): 70-74.
- SOMMERFELT, I.E., A.J. FRANCO, O.J. DEGREGORIO, G. GALLO, A. ÁLVAREZ. 1993. *Toxocaríasis* urbana: factores de riesgo para la salud pública. En: *La Universidad de Buenos Aires y el Medio Ambiente*. Buenos Aires, Argentina, Universidad de Buenos Aires.
- SOMMERFELT, I.E., O.J. DEGREGORIO, M. BARRERA, G. GALLO, A. BETTI. 1994. Contaminación ambiental urbana con huevos de endoparásitos de origen animal. *Vet. Arg.* XII(107): 457-561.
- SOMMERFELT, I.E., O.J. DEGREGORIO, A. ÁLVAREZ, A.J. FRANCO. 1996. Viabilidad de huevos de *Toxocara canis*. *Rev. Med. Vet.*, 77(4): 302-304.
- SPRENT, J.F.A. 1952. On the migratory behavior of the larvae of various ascaris species in white mice. I. Distribution of larvae in tissues. *J. Inf. Dis.*, 90: 165-176.