

ARTÍCULO ORIGINAL

Toxocara canis: migración larval y eosinofilia en el hospedador paraténico

MÓNICA DEL VALLE GUARDIS *, NILDA E RADMAN, LOLA BURGOS,
REINALDO D FONROUGE, y SUSANA M. ARCHELLI

Toxocara canis: LARVAL MIGRATION AND EOSINOPHILIA
IN THE PARATENIC HOST

*The objective of this study was to analyze the migratory behaviour of larvae of **Toxocara canis** related to eosinophilia in paratenic hosts. Mice were used as experimental models. In rodents and humans the migratory route and the pathogenesis of the parasite are similar. Balb/c mice were inoculated intragastrically with 250 (\pm 10) embryonated eggs. Larvae recovery: eyes and encephalon were chosen as reference organs. In the encephalon and the eye, larval recovery began in the fourth and twelfth day post-inoculation respectively. The association measured by the correlation coefficient between time of observation and recovered larvae in each organ was: right eye (RE) $r=0.24$; left eye (LE) $r=0.43$; encephalon (E) $r=0.60$. The recovery of inoculated larvae is significantly higher in the encephalon than in the eyeballs (Chi square: 185; $p < 0.00001$), in 80 % of mice eosinophils exceeded 6% of the formula. The correlation between eosinophilia and larval recovery in the organs observed was: 0.33 for the right eye (RE); 0.21 for the left eye (LE) and 0.44 for the encephalon; these correlation values are considered low, suggesting no association between eosinophilia and the quantity of **T. canis** larvae lodged in the eyes (ocular toxocarosis) or in the encephalon (cerebrospinal toxocarosis).*

Key words: *Toxocara canis*, eosinophilia, experimental model, paratenic host.

INTRODUCCIÓN

Toxocara canis es un enteroparásito de frecuente hallazgo en perros provenientes de áreas urbanas y rurales de la República Argentina.

El hombre se comporta como un hospedador paraténico, ya que al ingerir las formas infectantes (huevo larvado) desarrolla el sín-

drome de larva migrans, cuyas manifestaciones clínicas y gravedad dependen del tejido u órgano afectado. Se reconocen las siguientes formas de presentación: larva migrans visceral (LMV) o toxocarosis sistémica, larva migrans ocular (LMO) o toxocarosis ocular, toxocarosis cerebroespinal o neurológica y toxocarosis encubierta o asintomática. Los signos y síntomas

Cátedra de Parasitología Comparada. Laboratorio de Parasitosis Humanas y Zoonosis Parasitarias. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP, 60 y 118 (1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina

* Corresponding author. E-mail: mguardis@fcv.medvet.unlp.edu.ar

varían de leves a severos y pueden presentarse semanas a meses después de la infección.¹⁻⁵

La eosinofilia periférica y tisular es un signo biológico de migración larval en las helmintiasis ya que los eosinófilos son los mayores efectores frente a los helmintos. En la toxocarosis humana numerosos autores consideran a la eosinofilia de valor predictivo, sin embargo, otros citan casos de parasitosis asociada a cifras normales de eosinófilos circulantes.^{1,2,4-9}

Debido a la similitud en la ruta migratoria y en la patogenia de este parásito en roedores y humanos, los resultados obtenidos de los estudios que utilizan al ratón como modelo experimental podrían tener implicancias concernientes a los desórdenes dados en el hombre.¹⁰⁻¹²

El objetivo de este trabajo fue analizar la relación entre el comportamiento migratorio larval de *T. canis* y la eosinofilia en el hospedador paraténico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las hembras de *T. canis* fueron lavadas y conservadas en formol al 2% a temperatura ambiente durante cinco semanas. Posteriormente, fueron extraídos los úteros para recuperar los huevos larvados. La suspensión de huevos fue lavada tres veces con solución de Cl Na para retirar el formol.

Se utilizaron ratones Balb/c de dos meses de vida, machos y hembras; se infectaron por vía intragástrica con 250 (± 10) huevos larvados.

Grupos de cinco animales se sacrificaron cada 48 horas. Previamente, fueron sangrados para la preparación de frotis sanguíneos que se colorearon con May Grüngwald- Giemsa, para efectuar la fórmula leucocitaria.

Recuperación de larvas: se eligieron como órganos de referencia ojos y encéfalo. Los tejidos y humores de los ojos, y, el encéfalo dividido en submuestras, fueron comprimidos entre dos portaobjetos y observados microscópicamente por 10x, a fin de identificar y cuantificar las larvas recuperadas.

Análisis estadístico: se aplicaron pruebas de correlación para calcular la asociación entre el tiempo post-infección, expresado en días, la cantidad de larvas recuperadas en los órganos de referencia y eosinofilia. Prueba de chi-cuadrado para medir la asociación entre larvas recuperadas y órganos de referencia.^{13,14}

RESULTADOS

Los resultados se presentan en la Tabla 1.

En encéfalo comenzaron a recuperarse larvas al 4º día y en ojo el día 12 post-inoculación, manteniéndose en ambos la positividad hasta el final de la experiencia, día 60. La asociación medida por el coeficiente de correlación, entre el tiempo de observación y larvas recuperadas en cada órgano fue: ojo derecho (OD) $r = 0,24$; ojo izquierdo (OI) $r = 0,43$; encéfalo (E) $r = 0,60$.

La recuperación de larvas inoculadas es significativamente mayor en encéfalo que en

Tabla 1. Distribución temporal y cantidad de larvas de *Toxocara canis* recuperadas en ojos y encéfalo de ratón

Semanas	Nº de ratones	Larvas Inoculadas	Ojo Derecho	Ojo Izquierdo	Encéfalo	% OD	%OI	%E
1	15	3.750	0	0	10	0,00	0,00	0,27
2	20	5.000	2	2	100	0,04	0,04	2,00
3	15	3.750	1	4	168	0,03	0,11	4,48
4	20	5.000	6	7	359	0,12	0,14	7,18
5	15	3.750	6	4	300	0,16	0,11	8,00
6	20	5.000	6	9	715	0,12	0,18	14,30
7	15	3.750	9	3	396	0,24	0,08	10,56
8	20	5.000	1	10	503	0,02	0,20	10,06
9	10	2.500	1	2	210	0,04	0,08	8,40
Totales	150	37.500	32	41	2.761	0,09	0,11	7,25

los globos oculares (chi cuadrado: 185; $p < 0,00001$). Los eosinófilos en el 80% de los ratones superó el 6% de la fórmula (Valor normal = 1% a 5%). La correlación entre eosinofilia y la recuperación de larvas en los órganos observados fue: 0,33 para el OD; 0,21 para el OI y 0,44 para el encéfalo; estos valores de correlación se califican como bajos, sugiriendo la no asociación entre eosinofilia y la cantidad de larvas de *T. canis* que se alojan en ojos (toxocarosis ocular) o encéfalo (toxocarosis cerebroespinal).

DISCUSIÓN

La toxocarosis puede afectar a humanos de diferente sexo y edad, preferentemente niños; en el hospedador paraténico las manifestaciones clínicas son variables y dependen de los siguientes factores: número de huevos infectantes ingeridos, cantidad de larvas migrantes, tejido u órgano afectado, frecuencia de reinfecciones y respuesta inmunológica inducida por el hospedador.

Las helmintiasis tisulares están asociadas en la mayoría de los casos con una eosinofilia elevada; en la toxocarosis el hemograma puede ser normal o presentar eosinofilia con cifras del 20% al 90%, pudiendo mantenerse por años, incluso post-tratamiento.^{4,12}

En el síndrome de larva migrans visceral (LMV) se observan desde afecciones gastrointestinales (anorexia, vómitos, dolor abdominal, hepatitis, etc.), pulmonares (tos, asma, disnea, neumonía eosinofílica severa, etc.), cardíacas (miocarditis, insuficiencia cardíaca, etc.) y cutáneas (eritema, urticaria, edema, etc.), acompañándose usualmente con eosinofilia persistente de moderada a severa.

En la larva migrans ocular (LMO) las lesiones son siempre graves (leucocoria, uveítis, granuloma retinal, endoftalmítis crónica, pérdida de la agudeza visual, estrabismo, etc.) y se acompaña con valores normales de eosinófilos.

La toxocarosis cerebroespinal presenta sintomatología neurológica como encefalitis, meningitis, epilepsia, parestias, parestias, etc. y cursa con una marcada eosinofilia.

La toxocarosis encubierta o asintomática cuando se manifiesta clínicamente la sintoma-

tología es inespecífica y puede cursar con cifras normales o un leve incremento de eosinófilos.^{6,8}

Autores^{1,2}, relacionan la toxocarosis con un alto conteo de eosinófilos circulantes; sin embargo, otros⁵, hallaron una eosinofilia de normal a moderada en el 77% de los pacientes seropositivos estudiados. Sobota et al.⁷, afirman que en la infección ocular no hay aumento de eosinófilos, mientras que las otras presentaciones clínicas de la parasitosis raramente cursan sin eosinofilia, a excepción de la toxocarosis larval múltiple que se caracteriza por una elevada eosinofilia. Gillespi et al.⁹, observaron eosinofilia sanguínea en pacientes con toxocarosis ocular.

Epe et al¹¹, infectaron ratones con 1.000 huevos embrionados de *T. canis*, observando el decrecimiento gradual de la eosinofilia periférica y el retorno a niveles normales a las 21 semanas post-infección.

Nuestro estudio comprobó en ratones y con un inóculo de 250 (± 10) huevos larvados, la no asociación entre eosinofilia y el número de larvas de *T. canis* que se alojan en ojos (LMO) o encéfalo(toxocarosis cerebroespinal).

Coincidentemente con otro autor¹², en el ratón la mayor cantidad de larvas de *T. canis* fue recuperada del encéfalo, lo cual se debería a la afinidad particular que tienen por el tejido nervioso, a que no encapsulan y no son alcanzadas por la respuesta inmunológica del huésped. Contrariamente a lo establecido por otros autores¹⁰, no observamos incremento en la cantidad de larvas recuperadas en relación directamente proporcional al tiempo post-infección.

En la toxocarosis neurológica la patogénesis podría ser similar a la de presentación ocular, debido a que el encéfalo como los ojos constituyen medios cerrados.³

La migración de unas pocas larvas de *T. canis* en el SNC (sistema nervioso central) o en el ojo son suficientes para causar lesión local pero resultarían insuficientes para provocar eosinofilia sanguínea.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue analizar la relación entre el comportamiento migratorio

larval de *Toxocara canis* y la eosinofilia en el hospedador paraténico. Utilizando al ratón como modelo experimental, debido a la similitud en la ruta migratoria y en la patogenia de este parásito en roedores y humanos. Se inocularon ratones Balb/c, por vía intragástrica con 250 (\pm 10) huevos larvados. Recuperación de larvas: se eligieron como órganos de referencia ojos y encéfalo.

En encéfalo comenzaron a recuperarse larvas al 4º día y en ojo el día 12 post-inoculación. La asociación medida por el coeficiente de correlación, entre el tiempo de observación y larvas recuperadas en cada órgano fue: ojo derecho (OD) $r = 0,24$; ojo izquierdo (OI) $r = 0,43$; encéfalo (E) $r = 0,60$.

La recuperación de larvas inoculadas es significativamente mayor en encéfalo que en los globos oculares (χ^2 cuad.: 185; $p < 0,00001$). Los eosinófilos en el 80% de los ratones superó el 6% de la fórmula. La correlación entre eosinofilia y la recuperación de larvas en los órganos observados fue: 0,33 para el OD; 0,21 para el OI y 0,44 para el encéfalo; estos valores de correlación se califican como bajos, sugiriendo la no asociación entre eosinofilia y la cantidad de larvas de *T. canis* que se alojen en ojos (toxocarosis ocular) o encéfalo (toxocarosis cerebroespinal).

REFERENCIAS

- 1.- GLICKMAN L T, MAGNAVAL J F. Zoonotic roundworm infections. Infect Dis Clin North America 1993; 7: 717.
- 2.- GUEGLIO B, GENTILE L, NGUYEN J M et al. Epidemiologic approach to human toxocariasis in western France. Parasitol Res 1994; 80: 531-6.
- 3.- MAGNAVAL J F, GALINDO V, GLICKMAN L T, CLANET M. Human *Toxocara* infection of the central nervous system and neurological disorders: a case-control study. Parasitology 1997; 115: 537-43.
- 4.- SAPUNAR J, FARDELLA P. Larva migrante visceral (toxocarosis humana) causa de hipereosinofilia y granulomas visceral en el adulto. Bol Chil Parasitol 1999; 54: 21-4.
- 5.- RADMAN N E, ARCHELLI S M, FONROUGE R D et al. Human Toxocarosis. Its seroprevalence in the city of La Plata. Mem Inst Oswaldo Cruz 2000; 95: 281-5.
- 6.- GILLESPIE S H. The epidemiology of *Toxocara canis*. Parasitol Today 1988; 4: 180-2.
- 7.- SOBOTA K, KOTULIAKOVÁ M, SOBOTOVÁ O, KRCMĚRY V. Our experiences in the clinic and treatment of larval toxocarosis. Helminthologia 1988; 25: 61-67.
- 8.- GILLESPIE S H. Human toxocarosis. Commun. Dis Rep CDR Rev 1993; 3: 140-3.
- 9.- GILLESPIE S H, DINNING W J, VOLLER A, CROWCROFT N S. The spectrum of ocular toxocarosis. Eye 1993; 7: 415-8.
- 10.- BARDÓN R, CUÉLLAR C, GUILLÉN J L. Larval distribution of *Toxocara canis* in Balb/c mice at nine weeks and one year post-inoculation. J Helminthol 1994; 68: 359-60.
- 11.- EPE C, SABEL T, SCHNIEDER T, STOYE M. The behavior and pathogenicity of *Toxocara canis* larvae in mice of different strains. Parasitology Res 1994; 80: 691-5.
- 12.- OVERGAAUW P A M. Aspects of *Toxocara* epidemiology: human toxocarosis. Crit Rev Microbiol 1997; 23: 215-31.
- 13.- LISON L. Estadística Aplicada a la Biología Experimental. Ed. Universitaria, Buenos Aires, 1976; 357 pp.
- 14.- SOKAL R R, ROHLF F J. Introducción a la Bioestadística. Ed. Reverté, Barcelona, 1984; 362 pp.