

# Prueba de avididad de los anticuerpos IgG en la infección por *Toxocara canis*

## *IgG antibodies avidity test in Toxocara canis infection*

## *O teste de avididade dos anticorpos IgG na infecção por Toxocara canis*

► Gioia Lucia Marino<sup>1a</sup>, María Viviana Bojanich<sup>2b</sup>, María de los Ángeles López<sup>3a</sup>, José Mario Alonso<sup>1a</sup>

---

<sup>1</sup> Bioquímico

<sup>2</sup> Magister en Ciencias Médicas Tropicales

<sup>3</sup> Magister en Biología Molecular e Ingeniería genética

<sup>a</sup> Área de Inmunología, Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste, Resistencia, Argentina.

<sup>b</sup> Área de Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

### Resumen

A fin de evaluar la utilidad de la prueba de avididad de los anticuerpos IgG para el reconocimiento de la fase de infección de la toxocariosis en individuos con alto nivel de exposición al parásito, se estudiaron 142 niños asintomáticos de ambos sexos, de 1-6 años de edad, residentes en la ciudad de Resistencia (NE de Argentina), con eosinofilia > 10% y con exámenes coproparasitológicos negativos para helmintos. Se realizó la prueba de ELISA-IgG en todos los casos y en aquellos con títulos > 1/80 se determinó el índice de avididad de IgG. De los 142 niños estudiados, 82 (57,7%) resultaron positivos a la prueba de ELISA-IgG pero sólo 6 (7,3%) tuvieron Índice de avididad menor al 50%, cinco tenían entre 1 y 2 años de edad y el restante 5 años (mediana: 1,5 años). Cuatro tuvieron títulos moderados de IgG (entre 1/80 y 1/640) y 2 títulos altos (entre 1/1280 y 1/10240). Los otros 76 niños con índice de avididad mayor al 50% tenían entre 18 meses y 5,5 años de edad (mediana: 4 años), 44 tuvieron títulos serológicos moderados y 32, títulos altos. Los resultados hallados en este trabajo reafirman que la población de la ciudad de Resistencia presenta altos niveles de exposición a *T. canis* y que la determinación del índice de avididad de IgG resulta útil para el diagnóstico diferencial entre toxocariosis reciente o tardía, aunque es más efectiva para descartar una infección reciente que para confirmarla.

**Palabras clave:** toxocariosis \* larva *migrans* visceral \* zoonosis \* inmunodiagnóstico

### Summary

In order to evaluate the usefulness of the IgG avidity test to recognize the phase of *T. canis* human infection in individuals highly exposed to the parasite, 142 asymptomatic children of both sexes, 1-6 years old, living in Resistencia (Northeastern Argentina), with eosinophilia > 10% and without helminthic intestinal infestation were studied. ELISA-IgG test was performed in all cases, and in those with serological titers > 1/80 IgG avidity

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

was also measured. Out of 142 children studied, 82 (57.7%) were positive to ELISA test, but only 6 (7.3%) had an IgG avidity index < 50%. Five of them were aged between 1 to 2 years and the other was 5 years old (median 1.5 years). Four had moderate serological titers (between 1/80 and 1/640) and two had high titers (between 1/1280 and 1/10240). The other 76 children with IgG avidity indexes > 50% were between 18 months and 5.5 years old (median 4 years), 44 had moderate serological titers and 32 had high titers. The results found in this study reaffirm that the population in Resistencia city is highly exposed to *T. canis* infection and that the IgG avidity test may be helpful in differential diagnosis of recent and past toxocarosis, though it would be more effective to rule out a recently acquired infection than to confirm it.

**Kew words:** toxocarosis \* visceral larva migrans \* zoonosis \* immunodiagnosis

## Resumo

Com o fim de avaliar a utilidade da prova de avididade dos Acs IgG para o reconhecimento da fase de infecção de toxocaríase em indivíduos com alto nível de exposição ao parasita, foram estudadas 142 crianças assintomáticas de ambos os sexos de 1 a 6 anos de idade, residentes na cidade de Resistencia (noreste argentino) com eosinofilia > 10% e com exames coproparasitológicos negativos para helmintos. Foi realizada a prova Elisa-IgG em todos os casos e naqueles com títulos > 1/80 foi determinado o índice de avididade de IgG. Das 142 crianças estudadas, 82 (57,7%) resultaram positivas à prova de Elisa-IgG porém só 6 (7,3%) tiveram índice de avididade < a 50%, 5 tinham entre 1 e 2 anos de idade e as outras 5 anos (média: 1,5 anos). Quatro tiveram títulos moderados de IgG (entre 1/80 e 1/640) e 2 títulos altos (entre 1/1280 e 1/10240). As outras 76 crianças com índice de avididade maior a 50% tinham entre 18 meses e 5,5 anos de idade (média: 4 anos), 44 tiveram títulos sorológicos moderados e 32 títulos altos. Os resultados encontrados neste trabalho reafirmam que a população da cidade de Resistencia apresenta altos níveis de exposição à *T. canis* e que a determinação do índice de avididade de IgG resulta útil para o diagnóstico diferencial entre toxocaríase recente ou tardia, embora seja mais efetiva para descartar uma infecção recente que para confirmá-la.

**Palavras chave:** toxocaríose \* larva migrans visceral \* zoonoses \* imunodiagnóstico

## Introducción

La toxocarosis es una de las zoonosis helmínticas más comúnmente informadas en todo el mundo. Su agente etiológico principal es el nemátodo ascarídeo *Toxocara canis*, y menos frecuentemente *Toxocara cati*, cuyos huéspedes definitivos son respectivamente el perro y el gato y que ingresan al hombre y lo infectan en forma accidental (1).

Aunque la infección está presente en todo el mundo, es más frecuente en las poblaciones de las regiones tropicales y subtropicales, y particularmente en aquellas con carencias graves en sus condiciones sanitarias de vida (2). La región noreste de Argentina presenta los mayores índices de pobreza y exclusión social del país y presenta también altas tasas de infección por *T. canis* en su población adulta e infantil, particularmente en las ciudades de Corrientes y Resistencia (3-5).

Existen tres expresiones clínicas principales de esta infección: el síndrome de larva *migrans* visceral (LMV), el síndrome de larva *migrans* ocular (LMO) y la toxocarosis encubierta, aunque también fueron descritas otras formas clínicas como la toxocarosis neurológica, la asmátiforme, la subclínica y la asintomática. Sin embargo, en el período inicial la infección siempre se presenta con

pocos signos y síntomas y éstos son inespecíficos, por lo cual es difícil estimar claramente el tiempo de evolución de la infección mediante los indicadores clínicos (6).

La confirmación del diagnóstico clínico presuntivo se basa en procedimientos serológicos, empleándose el ensayo inmunoenzimático y el *Western blot* (7). Los métodos de ELISA actualmente utilizados detectan anticuerpos de clase IgG, que permanecen con títulos elevados por largos períodos de tiempo, meses o años después de la infección. Por esto no resulta posible discriminar entre fases reciente y tardía de la infección mediante el dosaje de los anticuerpos. En cuanto a las inmunoglobulinas de clase IgM, a diferencia de lo que ocurre en otras enfermedades infecciosas, también permanecen elevadas durante varios meses y hasta más de un año, siendo ésta la razón por la cual el reconocimiento de las clases de anticuerpos presentes en el suero de un individuo infectado tampoco es una variable útil para discriminar la etapa evolutiva de la infección (8).

La avididad de un anticuerpo ha sido definida como la fuerza de unión entre la molécula de inmunoglobulina y un antígeno multivalente. Como regla general, la avididad de la IgG es inicialmente baja luego del primer contacto con el antígeno, o sea en la fase temprana de la infección, incrementándose durante las semanas y meses

posteriores como resultado del desarrollo de moléculas con mayor afinidad por los sitios activos de unión al antígeno (9).

Se ha demostrado que la medida de la avidéz de las IgGs tiene utilidad diagnóstica y ha sido recomendada para diferenciar entre infección reciente y antigua en diversas enfermedades infecciosas de etiología viral y parasitaria, incluida la toxocariosis (10-13).

En este trabajo se midió el Índice de avidéz de los anticuerpos IgG específicos contra el antígeno de excreción/secreción de *Toxocara canis* (Ags TES) en niños de la ciudad de Resistencia, con el fin de evaluar su utilidad para el reconocimiento de la fase de infección en poblaciones con alto nivel de exposición al parásito.

## Materiales y Métodos

### POBLACIÓN

Se estudiaron 142 niños de ambos sexos, con edades comprendidas entre 1 y 6 años, que fueron atendidos en los consultorios externos del Hospital Pediátrico "Dr. Avelino L. Castelán", de la ciudad de Resistencia, que presentaban eosinofilia > 10% y exámenes coproparasitológicos negativos en relación a helmintos. Por esta razón fueron derivados al Instituto de Medicina Regional de la Universidad Nacional del Nordeste con diagnóstico presuntivo de infección por *T. canis* para la ejecución de los estudios serológicos específicos.

### PRUEBA DE ELISA-IgG

A todos los niños se les realizó la prueba de ELISA con Ags E/S para reconocer la presencia de anticuerpos IgG, según técnica ya descripta (5).

### DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE AVIDEZ DE LAS IgGs

En los casos con serología positiva - título de IgG > 1/80 - (14), se efectuó la determinación del índice de avidéz siguiendo la técnica de Prince y Leber (15), con las siguientes modificaciones: Los sueros se diluyeron 1/80 con *buffer* TRIS-Tween 20 - pH 7,3, con 1% de leche descremada, se ensayaron por duplicado sobre policubetas Maxisorb™ sensibilizadas con Ag E/S y se incubaron durante 45 min a 37 °C. Luego se realizaron tres lavados de 5 min cada uno con agitación, de la siguiente manera: un pocillo del par de cada suero se lavó con *buffer* fosfato salino - Tween 20 - pH 7,2 y el otro pocillo se lavó con una solución de urea 8M. Se lavaron todos los pocillos una vez más con PBS-Tween y se continuó con la técnica de ELISA como está descripta. La absorbancia se leyó a 450 nm. El índice de avidéz se calculó como la razón entre la absorbancia a 450 nm del pocillo tratado con la solu-

ción de urea y la absorbancia del pocillo sin ese tratamiento, multiplicada por 100. Los Índices de hasta 50% se consideraron como indicadores de la presencia de IgG de baja avidéz y, por ende, de infección reciente (13).

## Resultados

De los 142 niños estudiados, 82 resultaron positivos a la prueba de ELISA-IgG, lo que significa una prevalencia global de infección por *T. canis* del 57,7%. Sólo 6 de los 82 niños seropositivos (7,3%) presentaron un Índice de avidéz menor al 50%. Cuatro de ellos tuvieron títulos moderados de IgG (entre 1/80 y 1/640) y 2 tuvieron títulos altos (entre 1/1280 y 1/5120). De estos 6 niños, 5 tenían entre 1 y 2 años de edad y el restante 5 años (mediana: 1,5 años).

Las edades de los otros 76 niños que presentaron índice de avidéz mayor al 50% estuvieron uniformemente distribuidas entre los 18 meses y los 5 años y 6 meses, con una mediana de 4 años. La distribución de los títulos serológicos en este grupo de niños fue: 44 con títulos moderados (1/80 - 1/640) y 32 con títulos altos (entre 1/1280 - 1/10240).

Al comparar la cantidad de niños seropositivos con índices de avidéz alto y bajo en sus IgGs se encontró diferencia significativa sólo en la franja etaria de 1-2 años (Tabla I).

Tabla I. Índices de avidéz de Acs IgG en niños infectados con *T. canis*, según franja etaria.

Franja etaria (años)	Índice de Avidéz de IgGs			p
	< 50%	> 50%	Total	
1 - 2	5	20	25	0,009
3 - 4	0	27	27	> 0,05
5 - 6	1	29	30	> 0,05
Total	6	76	82	> 0,05

## Discusión y Conclusiones

La toxocariosis es una enfermedad infecciosa que no se notifica habitualmente en Argentina, por lo cual no existen registros oficiales que permitan disponer de información fehaciente sobre la magnitud del problema en los distintos escenarios socio-geográficos del país. Aunque habitualmente se define que la infección humana se adquiere en forma accidental, los determinantes socio-económicos de las poblaciones y las condiciones de contaminación ambiental imperantes en muchas regiones de Argentina, así como de otros países desarrollados y no desarrollados, permiten considerarla como endémica (16).

Los altos valores de prevalencia hallados eran esperados, ya que investigaciones anteriores demostraron valores similares en niños de la misma región geográfica (4) (8), y además, son también similares a los descriptos en otras poblaciones latinoamericanas (17) (18). Esto permite reiterar que la población de la ciudad de Resistencia (Noreste de Argentina) presenta altos niveles de exposición a *T. canis*.

Si bien la toxocariasis es una infección que se adquiere mayormente durante la primera infancia porque el riesgo aparece en el momento en que el niño comienza a tomar contacto con el suelo y con los perros, los síntomas iniciales son poco específicos y con frecuencia también poco evidentes (1). Por ello, en la mayoría de los casos el hallazgo de la infección es el resultado de exámenes de laboratorio practicados por variados motivos y en los que aparecen algunos indicadores que alertan sobre su posible presencia. Cuando esto ocurre, la infección se encuentra generalmente en una etapa avanzada o tardía, por lo que la posibilidad de una detección temprana es baja. Esto explicaría que los índices de avidéz más altos se encontrarían mayormente en los niños de las franjas etarias superiores; en el 73,7% de los niños mayores de 2 años, o dicho de otra forma, en el 98,2% de los niños seropositivos mayores de 3 años de edad. Por la misma razón se puede explicar que el porcentaje de niños con índices de avidéz menores al 50% en esta serie sea bajo, aunque similar al informado por Hubner *et al.*, quienes refieren un 5,09% (19), o al 6,6% informado por Rychlicki (20).

Si bien no se pudo disponer de datos que señalaran con seguridad el tiempo transcurrido desde el momento de la infección, como los seis niños encontrados con bajos índices de avidéz en sus anticuerpos IgG fueron todos menores de 2 años, cabe suponer que fuesen casos de infección reciente. Esta franja es la única en la que se encuentra una diferencia estadísticamente significativa entre casos con índices altos y bajos. Por el contrario, la mediana de edad de los niños con índice de avidéz mayor al 50% se ubicó en los 4 años, lo cual supone que la infección puede tener una mayor antigüedad.

Los resultados obtenidos muestran que la determinación del índice de avidéz de los anticuerpos IgG puede ayudar para el reconocimiento entre toxocariosis reciente o tardía, aunque en concordancia con lo afirmado por Dziemian (13) resultaría más útil para descartar una infección reciente que para confirmarla. Este comportamiento ya fue descripto por Ashburn *et al* (21) y por Lappalainen *et al* (22) para el caso de la infección por *Toxoplasma gondii*.

#### AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue realizado con recursos provistos por la Secretaría General de Ciencia y Técnica y por el Instituto de Medicina Regional, ambos de la Universidad Nacional del Nordeste.

#### CORRESPONDENCIA

BIOQ. GIOIA L. MARINO  
Instituto de Medicina Regional  
Av. Las Heras 727  
3500, RESISTENCIA, Argentina  
E-mail: gioiamarino2@hotmail.com

#### Referencias bibliográficas

1. Magnaval JF, Glickman L, Dorchie P, Morassin B. Highlights of human toxocariasis. Korean J Parasitol 2001; 39 (1): 1-11.
2. Despommier D. Toxocariasis: clinical, epidemiology, medical ecology and molecular aspects. Clin Microbiol Rev 2003; 16 (2): 265-72.
3. Bojanich MV, López MA, Fernández G, Azula L, Alonso JM. Infección por *Toxocara canis* en población infantil vulnerable del noreste de Argentina. Enf Emerg 2008; 10 (2): 84-7.
4. Alonso JM, Bojanich MVI, Chamorro M, Gorodner JO. *Toxocara* seroprevalence in children from a subtropical city in Argentina. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2000; 42 (4): 235-7.
5. Alonso JM, López MA, Bojanich MV, Marull J. Infección por *Toxocara canis* en población adulta sana de un área subtropical de Argentina. Parasitol Latinoam 2004; 59 (1-2): 61-4.
6. Minvielle M, Niedfeld G, Ciarmela M, Basualdo J. Toxocariosis causada por *Toxocara canis*: aspectos clínico-epidemiológicos. Enf Infecc Microbiol Clin 1999; 17 (6): 300-6.
7. López MA, Bojanich MV, Alonso ME, Alonso JM. Immunoblotting para diagnóstico de toxocarosis humana en un área subtropical. Parasitol Latinoam 2005; 60 (3-4): 127-31.
8. López MA, Martín G, Chamorro MC, Alonso JM. Toxocariosis en niños de una región subtropical. Medicina (B Aires) 2005; 65 (3): 226-30.
9. Lappalainen M, Hedman K. Serodiagnosis of Toxoplasmosis. The impact of measurement of IgG avidity. Ann Ist Super Sanita 2004; 40 (1): 81-8.
10. Hedman K, Rousseau SA. Measurement of avidity of specific IgG for verification of recent primary rubella. J Med Virol 1989; 27 (4): 288-92.
11. Meurman O, Waris M, Hedman K. Immunoglobulin G antibody avidity in patients with respiratory syncytial virus infection. J Clin Microbiol 1992; 30 (6): 1479-84.
12. Kneitz RH, Schubert J, Tollmann F, Zens W, Hedman K, Weissbrich B. A new method for determination of varicella-zoster virus immunoglobulin G avidity in serum and cerebrospinal fluid. BMC Infect Dis 2004; 4: 33.
13. Dziemian E, Zarnowska H, Kolodziej-Sobocinska M, Machnicka B. Determination of the relative avidity of the specific IgG antibodies in human toxocariasis. Parasite Immunol 2008; 30 (3): 187-90.
14. Bojanich MV, Alonso JM, Chamorro M. Enzimoinmu-

- noensayo para el diagnóstico de toxocariosis. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas de la UNNE, Año 2000. Ciencias. Médicas 14. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/cyt/2000/cyt.htm>. (Fecha de acceso: 15-05-2010).
15. Prince HE, Leber AL. Validation of an in-house assay por cytomegalovirus immunoglobulin G (CMV IgG) avidity and relationship of avidity to CMV IgM levels. *Clin Diag Lab Immunol* 2002; 9 (4): 824-7.
  16. Martin U, Machuca P, Demonte M, Contini L. Estudio en niños con diagnóstico presuntivo de Toxocariosis en Santa Fe, Argentina. *Medicina (B Aires)* 2008; 68 (5): 353-7.
  17. Agudelo C, Villareal E, Cáceres E, López C, Eljach J, Ramirez N. Human and dogs *Toxocara canis* infection in a poor neighborhood in Bogotá. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1990; 85 (1): 75-8.
  18. Aguiar Santos AM, Andrade LD, Medeiros Z, Chieffi PP, Lescano SZ, Perez EP. Human toxocariosis. Frequency of anti-*Toxocara* antibodies in children and adolescents from an outpatient clinic for lymphatic filariasis in Recife, Northeast Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2004; 46 (2): 81-5.
  19. Hubner J, Uhlíková M, Leissová M. Diagnosis of de early phase of larval toxocariosis using IgG avidity. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2001; 50 (2): 67-70.
  20. Rychlicki W. Use of specific immunoglobulin G antibody avidity in the differential diagnosis of active and chronic *Toxocara canis* infections. *Wiad Parazytol* 2004; 50 (2): 229-36.
  21. Ashburn D, Joss AW, Pennington TH, Ho-Yen DO. Do IgA, IgE and IgG avidity tests have any value in the diagnosis of *Toxoplasma* infection in pregnancy ? *J Clin Pathol* 1998; 51 (4): 312-5.
  22. Lappalainen M, Kostela P, Koskiniemi M, Ammälä P, Hilesmaa V, Teramo K *et al.* Toxoplasmosis acquired during pregnancy: Improved serodiagnosis based on avidity of IgG. *J Infect Dis* 1993; 167 (3): 691-7.

**Aceptado para su publicación el 4 de enero de 2011**