

TÉCNICA RÁPIDA DE DOT-ELISA PARA INMUNODIAGNÓSTICO DE TOXOCARIOSIS HUMANA

Alumna: Caliva, Florencia A.
Directora: Mgter. López María de los A.
Carrera: Bioquímica

ÍNDICE



PÁGINA

+ RESUMEN	2
+ INTRODUCCIÓN	3
+ OBJETIVOS	6
+ MATERIALES Y MÉTODOS	7
+ RESULTADOS	8
+ DISCUSIÓN	10
+ CONCLUSIÓN	11
+ ANEXO	11
+ BIBLIOGRAFÍA	12

AGRADECIMIENTOS

Sinceramente quiero agradecer a mi directora del proyecto, la Dra. María de los Ángeles López por encaminarme en el área, por brindarme sus conocimientos y experiencias. Al equipo de investigación del Área de Inmunología del Instituto de Medicina Regional por recibirme con los brazos abiertos y hacerme parte, cada día compartido ha sido enriquecedor.

Muchas gracias a mis padres, su apoyo todos estos años, por depositar la confianza en mí, por el sacrificio que hicieron para que pueda estudiar esta gran carrera. También, a mis tíos y abuelas que siempre estuvieron predispuestos a ayudarme durante toda mi estadía.

Asimismo, dar las gracias a las personas que debo mis años de carrera junto a ellos, mis amigos, que hicieron más ameno este camino.

Cada uno de los que he mencionado, han sido importante durante toda mi etapa académica como así también personal.

RESUMEN

La Toxocariasis humana es una zoonosis producida por larvas de nematodos del género *Toxocara*. Se puede presentar como Síndrome de Larva Migrans Visceral (SLMV) o como Síndrome de Larva Migrans Ocular (SLMO), según el tejido afectado. La infección humana por este parásito ocurre de forma accidental, como consecuencia de convivir con perros y gatos, siendo considerada una enfermedad cosmopolita. Las poblaciones con condiciones socio-sanitarias deficientes son candidatas a contraer la infección debido a que poseen todos los factores favorables para su desarrollo, destacándose la región del noreste argentino (NEA). Una forma precisa de confirmar esta enfermedad es mediante los métodos serológicos como ELISA, inmunoblotting o Dot-ELISA, siendo una limitación el acceso a los kits comerciales. El objetivo de este trabajo es desarrollar un test rápido basado en la técnica de Dot-ELISA para que pueda ser aplicada como un test de tamizaje en el diagnóstico serológico de la Toxocariosis humana, y para estudios de vigilancia epidemiológica. Primeramente, se obtuvieron los Antígenos secreción/excreción de larvas de segundo estadio de *Toxocara* (TES) autóctonos, luego se utilizaron para la sensibilización tanto de placas para la técnica de ELISA, como así también para tiras de nitrocelulosa del Dot-ELISA. Posteriormente se bloquearon con TBS-Tween leche descremada 5%. Las muestras, además de los controles negativo y positivo, se diluyeron con TBS-Tween leche 1% y se agrega anti-IgG humana conjugada con peroxidasa y 4-cloro-1-naftol como sustrato revelador. Para estandarizar el Dot-ELISA se fueron combinando diferentes volúmenes de reactivos, soportes, tiempos de incubación y concentraciones. Los diversos ensayos permitieron encontrar las condiciones óptimas para esta técnica. Las tiras de almacenamiento prolongado, dieron reacciones positivas más débiles. El grado de concordancia con el método ELISA estándar demuestra una resolución buena ($k = 0,72$). Adicionalmente, la alta sensibilidad y especificidad obtenidas permite destacar al dot-ELISA como un método adecuado para ser utilizado como test de screening en la detección de anticuerpos anti-*Toxocara*. La seropositividad obtenida con la técnica estandarizada sobre 41 muestras procedentes de Basail, Chaco fue de 39%. La seroprevalencia fue levemente mayor en adultos que en niños. Los elevados valores de seroprevalencia reflejan la necesidad de contar con herramientas diagnósticas accesibles y de fácil realización, siendo útil implementar la prueba Dot-ELISA como herramienta rápida para el diagnóstico de toxocariasis, particularmente en poblaciones con condiciones socio-sanitarias deficientes.

Palabras Claves: Dot-Elisa, *Toxocara canis*, Serodiagnóstico, Toxocariasis, Antígeno TES.



INTRODUCCIÓN

TOXOCARIASIS

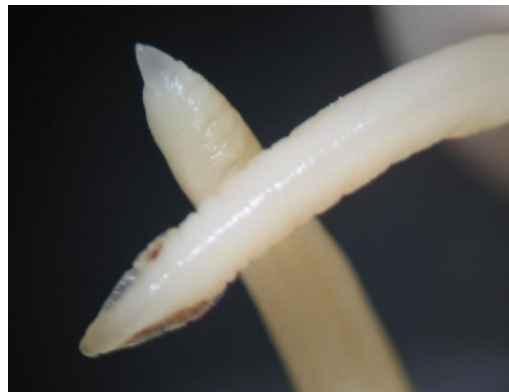
La toxocarasis es una zoonosis parasitaria causada por nemátodos ascarideos del género *Toxocara*. *Toxocara canis* y *Toxocara cati*, son parásitos intestinales del perro y gato respectivamente, considerados hospedadores definitivos (Botero & Restrepo, 2003; Manson et al., 2003). En perros cachorros la larva logra desarrollarse hasta el estadio adulto y completar su ciclo. En los perros mayores a seis meses, debido a la inmunidad desarrollada, las larvas permanecen quiescentes pudiendo reactivarse. En perras gestantes, la larva puede atravesar la placenta e infectar al feto. Luego del nacimiento, el gusano puede alcanzar su estadio adulto maduro en el cachorro. Los cachorros infectados liberan gran cantidad de huevos del parásito en las heces, contaminando el suelo. (Glickman & Schantz, 1981; Fialho & Corrêa, 2016) (ver Anexo Figura 6).

Figura 1. *Gusanos adultos de Toxocara spp.*



Nota: Los gusanos están depositados en una placa de Petri luego de haber estado en formol. Los machos y hembras se distinguen por su tamaño variable entre ambos (la hembra es más grande que el macho).

Figura 2. *Gusano adulto de Toxocara observadas con lupa electrónica.*



Nota: Se observa aletas cervicales y labios característicos del parásito.

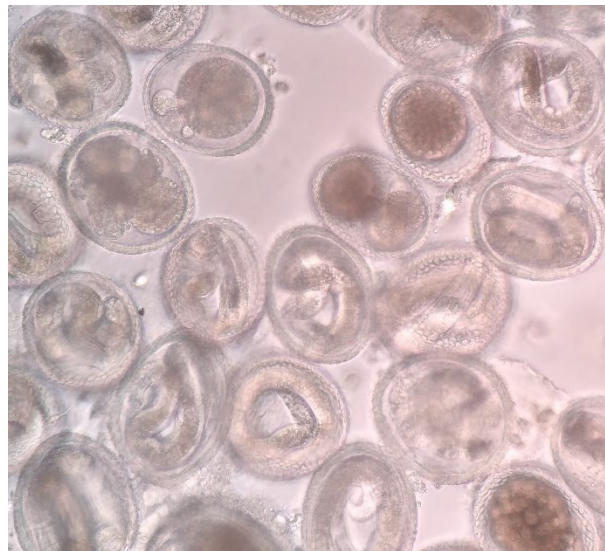


Toxocariasis humana

La infección humana ocurre de forma accidental al ingerir huevos embrionados de *Toxocara* presentes en suelos contaminados, siendo los niños los más afectados debido a sus hábitos de juegos en parques y patios donde pueden hallarse los huevos infectantes (Despommier, 2003; Delgado & Rodríguez, 2009). La infección puede darse también al ingerir carne contaminada de los huéspedes paraténicos que contienen las larvas encapsuladas.

Una vez ingeridos, los huevos embrionados eclosionan por acción de los jugos gástricos, liberando las larvas que invaden la pared intestinal. Entran en las vénulas mesentéricas o por los vasos linfáticos y son transportadas a tejidos periféricos como al hígado, pulmón, cerebro, globo ocular, musculatura etc. El recorrido que hacen las larvas se acompaña de hemorragias, necrosis y reacción inflamatoria. En los órganos y tejidos, las larvas son encapsuladas por una reacción celular del hospedador, de naturaleza granulomatosa con infiltración eosinofílica. Pueden ser destruidas o permanecer en estado quiescente por meses o años. Es importante destacar que estas larvas no se desarrollan en parásitos adultos en el hombre (Despommier, 2003; Delgado & Rodríguez, 2009; Biology of Soil-transmitted Helminths: The Massive Infection, 1975).

Figura 3. Huevos de *Toxocara spp* en distintos estadios.



Manifestaciones clínicas

Según el órgano que se encuentre comprometido, las manifestaciones clínicas asociadas se conocen como Síndrome de Larva Migrans Visceral (SLMV) o Síndrome de Larva Migrans Ocular (SLMO) en el caso que afecte al globo ocular (Despommier, 2003; Delgado & Rodríguez, 2009).

El SLMV comprende un espectro clínico que va desde una infección casi asintomática hasta la migración de larvas a órganos blanco específicos (Despommier, 2003). Se asocia principalmente al hígado, donde pueden causar pocas o muchas lesiones constituidas por granulomas, así como también se evidencia un aumento del volumen hepático en estudios por imágenes. En otros órganos blancos, se puede observar que las lesiones son similares a



las descritas a nivel hepático (Despommier, 2003; Manson et al., 2003). Suele estar acompañado de fiebre y síntomas respiratorios inferiores con eosinofilia e hipergammaglobulinemia (IgM, IgG e IgE) (Pinelli et al., 2007). En los pulmones, puede manifestarse como un cuadro de asma, bronquitis, pulmonitis; puede causar desórdenes dermatológicos (urticaria crónica o eczema), linfadenopatía, miositis y síndromes pseudoreumáticos como artralgias (Pawloski, 2001). Se ha descrito también una forma más leve de manifestación clínica, llamada toxocariasis encubierta o inaparente (Pawloski, 2001). El SLMO o también llamada Toxocariasis ocular, resulta de la migración de las larvas al tejido ocular pudiendo dañar la retina al inducir reacciones inflamatorias granulomatosas, ocasionando disminución o pérdida de la visión (Despommier, 2003; Manson et al., 2003). Este síndrome se presenta en niños entre los 5-10 años. Comúnmente el compromiso visual es unilateral (Molk, 1983; Taylor, 2001).

Epidemiología

A nivel mundial la infección humana por este nematodo está presente como una consecuencia del hábito humano de convivir en compañía de perros y gatos, lo que favorece la persistencia del parásito en el ambiente y su transmisión (Mizgajski 2001, Delgado & Rodríguez Morales 2009).

Los valores de seroprevalencia son elevados en los países latinoamericanos, particularmente en poblaciones con condiciones socio-sanitarias deficientes. Esto se debe a la existencia de factores de riesgo tanto en zonas rurales como suburbanas, la presencia de perros y gatos, sumado a la falta de control veterinario y precarias condiciones de higiene. Adicionalmente, las condiciones del clima subtropical cálido y húmedo favorece el embrionado de los huevos en el suelo propiciando la transmisión (Rodríguez Morales A. et al, 2011).

En Argentina los valores de seroprevalencia son variables, y en general elevados. Se puede mencionar un trabajo realizado en donantes de sangre de la ciudad de Guallequaychú donde se encontró una seropositividad del 10% (Minvielle et al., 2000). Otra investigación señala un 39% de seropositivos en la población general de la ciudad de La Plata (Radman et al., 2000). En un estudio efectuado entre 2008 y 2011 en las provincias de Santa Fe y Entre Ríos, se halló que entre los niños de zonas urbanas la prevalencia fue de 28.3% y de 46.6% en los adultos. En la zona rural, en niños fue de 59.2% y en los adultos de 53.3%; en la población aborigen la prevalencia alcanzó el 78.5% en niños y el 80.0% en los adultos (Martín U., 2017). En la región NEA se han realizado diversos estudios de seroprevalencia en diferentes poblaciones. En el año 2000, en la ciudad de Resistencia (Chaco), se estudiaron al azar niños en aparente buen estado de salud, pertenecientes a un nivel socioeconómico medio-bajo a bajo, encontrándose una seroprevalencia de 37,9%. (Alonso et al, 2000). En 2004, los mismos investigadores realizaron un estudio en sueros de donantes de sangre de la ciudad de Resistencia. Se halló una seroprevalencia para toxocariosis de 38,9% (Alonso et al., 2004). Durante 2008, se analizaron niños de la ciudad de Corrientes procedentes de barrios carenciados hallándose una seroprevalencia del 50.0% (Bojanich M. V. et al, 2008). En 2017 se realizó un estudio de seroprevalencia en población rural de Corrientes, observándose una seroprevalencia global de 48.8%, siendo en adultos de 55.1%, y en los niños 44.0% (López, M. et al, 2017).

Una investigación reciente sobre la seroprevalencia llevado a cabo en la era "Post-pandemia Covid" reveló valores del 13,1% en niños de Resistencia y del 24,4% en niños de Corrientes. Los mismos fueron significativamente menores a los encontrados en estudios previos, y



consecuentes a las campañas de concientización sobre la importancia de la higiene y el lavado de manos impulsadas por la pandemia (López, M. et al, 2023).

Diagnóstico

El diagnóstico de la toxocariasis humana se basa en datos clínicos, epidemiológicos y serológicos (MagnaVal et al. 2001, Despommier 2003). Sin embargo, resulta dificultoso debido a que la sintomatología es poco específica, el parásito adulto no se encuentra en las heces ni tampoco sus huevos y el hallazgo de las larvas en los tejidos mediante biopsias de los granulomas es un hecho excepcional (Delgado & Rodríguez, 2009).

Lo único que garantiza que la enfermedad está presente es la demostración de los anticuerpos específicos, teniendo como desventaja la variación en sensibilidad y especificidad de las técnicas utilizadas, ya que dependen de la calidad del antígeno (Morales, 1999). En la actualidad, la prueba inmunológica más empleada para determinar los anticuerpos circulantes contra el parásito es el ELISA (Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay), con antígenos de excreción/secreción de larvas de segundo estadio de *T. canis* (Antígeno TES), que aporta mayor sensibilidad y especificidad a la técnica (Delgado et al., 1995; Despommier, 2003). Se han descrito otras pruebas inmunológicas, como los métodos dot-ELISA e inmunoblotting, usualmente aplicado como método confirmatorio (Camargo et al. 1992, Magnaval et al. 2001, Roldán et al. 2006).

Generalmente el serodiagnóstico se realiza en laboratorios de referencia o de investigación, como el Instituto ANLIS-MALBRÁN en Buenos Aires, y el Instituto de Medicina Regional (UNNE), o en laboratorios de alta complejidad. Los kits comerciales son costosos y requieren de aparatología compleja. Debido a lo anteriormente expuesto, el objetivo principal del presente trabajo fue lograr la estandarización de la técnica Dot-ELISA como una alternativa sencilla y económica para el diagnóstico de la infección por *Toxocara spp* y que pueda ser empleada en laboratorios de baja complejidad y en estudios epidemiológicos.

OBJETIVOS

Objetivo general:

- Desarrollar un test rápido basado en la técnica de DOT-ELISA para su aplicación como test de tamizaje en el diagnóstico serológico de la Toxocariosis humana, y para estudios de vigilancia epidemiológica.

Objetivos particulares:

- Desarrollar un test de DOT ELISA con antígenos de excreción/secreción a partir de cepas locales de *Toxocara canis*.
- Validar el método frente al ELISA estándar.
- Evaluar su aplicabilidad para la detección de anticuerpos específicos anti-*Toxocara* en una población de alta prevalencia.



MÉTODOS Y MATERIALES

Muestras

Se evaluaron 41 muestras de suero de niños y adultos procedentes de la localidad de Basail, Provincia del Chaco (noreste argentino).

Las muestras pertenecen al banco de sueros del Instituto de Medicina Regional de la Universidad Nacional del Nordeste. Los sueros fueron evaluados por ELISA y Dot-ELISA, de acuerdo a lo que se describe más adelante.

Antígenos

Los antígenos TES se obtuvieron según la técnica descrita por Gillespie (1995), por mantenimiento en cultivo de larvas de *Toxocara canis* del segundo estadio. Las larvas L2 se mantuvieron a 37°C con una atmósfera de 5% de CO₂ y un pH ajustado de 6,4-6,5 en medio de cultivo de Dulbecco modificado por Iscove suplementado con tampón HEPES y una solución de penicilina-estreptomicina (St. Louis, MO, EE. UU.). El sobrenadante del cultivo se recolectó semanalmente formando un pool, conservado a -70°C. Posteriormente se concentró mediante ultrafiltración a través de membranas de polietersulfona (PM10-Millipore Corp, EE. UU.) y se purificó mediante diálisis; Luego se determinó el contenido de proteína mediante el método de Bradford empleando albúmina bovina como proteína estándar (Bradford 1976).

Prueba ELISA-IgG

Los anticuerpos anti-*Toxocara* se detectaron mediante una prueba ELISA-IgG utilizando antígenos TES, según el procedimiento original descrito por De Savigny et al. (1979) y con modificaciones realizadas por Alonso et al. (2004).

Prueba Dot-ELISA IgG

A partir de la técnica descrita por Bojanich M V et al (2012), se optimizaron las condiciones para realizarla en el menor tiempo posible.

Sensibilización, bloqueo y almacenamiento de tiras: se prepararon tiras de papel de nitrocelulosa (NC) (Bio-Rad Labs, Hercules, EE. UU.) de 0,2 µm de espesor, 2 cm de largo y 0,5 cm de ancho. Se sensibilizaron con 2 µl y 4µl de antígeno TES de concentraciones: 4,34 µg/mL, 6,36 µg/mL, 9,01 µg/ml, 128 µg/ml formando una pequeña gota (dot) en cada tira. Se dejó reposar 15 min, y posteriormente se bloquearon las tiras con una solución de leche descremada (en polvo) al 5% en buffer salino tamponado con TRIS (TBS) (pH 7,3) durante 2 horas a temperatura ambiente en agitación constante. Posteriormente, se lavaron tres veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS) y se almacenaron a 4°C envueltas en papel de aluminio.

Procedimiento Dot ELISA: Se incubaron las tiras previamente sensibilizadas con los sueros y controles diluidos 1/80 y 1/160 con buffer TBS-Tween-20 al 0,2% (TBS-T) con 1% de leche descremada en polvo, a temperatura ambiente en agitación constante. Luego se lavaron tres veces durante 2 min con TBS-T. Se adicionó el anticuerpo conjugado IgG antihumana conjugada con peroxidasa (Sigma-Aldrich Co, Saint Louis, EE. UU.) en una dilución 1/2.500 de en buffer TBS, y se incubó en agitación constante. Las tiras se lavaron tres veces con buffer TBS durante 2 min. Finalmente se añadió el sustrato cromógeno 4-cloro-α-naftol (Pierce Inc, Rockford, EE. UU.) activado con peróxido de hidrógeno. De este último se emplearon volúmenes de 20 µl y 50µl.



La reacción se detuvo realizando lavados con agua destilada. Todos los procedimientos se realizaron a temperatura ambiente. Las tiras se secaron sobre papel de filtro y la aparición de puntos azules (o grises) se consideró evidencia de un resultado positivo, que se pudo visualizar a simple vista.

En cada etapa de incubación, se probaron tiempos de 15 min, 20 min, 30 min y 40 min.

La técnica se puso a prueba con diferentes soportes (tubos, eppendorf, canaletas), teniendo en cuenta tanto agitaciones verticales y horizontales durante el proceso.

Con el fin de economizar los reactivos, se ensayaron volúmenes de reactivos de 1000 μL y de 500 μL para la muestra y/o control.

Evaluación de la estabilidad del antígeno en la membrana

Se sensibilizaron tiras de nitrocelulosa con una concentración de antígeno de 2 $\mu\text{g}/\text{dot}$. Las membranas se mantuvieron almacenadas como se mencionó anteriormente a temperatura de 4°C envueltas en papel aluminio. Para poder determinar la estabilidad del antígeno en la membrana se realizaron ensayos Dot-ELISA con sueros controles positivo fuerte, positivo débil y negativo. Se emplearon tiras almacenadas a 4°C por períodos de 2, 3 y 10 meses después de la adsorción del antígeno en la membrana.

Cálculo de sensibilidad, especificidad e índice kappa

El método de Dot-Elisa se comparó con el método ELISA estándar, empleando sueros controles positivos y negativos, procesados en paralelo por ambos métodos.

Se determinaron los valores de sensibilidad y especificidad del Dot Elisa, considerando al ELISA estándar como método de referencia.

Se compararon los resultados obtenidos por ambos métodos y se determinó el índice de concordancia kappa.

El cálculo del índice kappa se realizó mediante una calculadora online SAMIUC (<https://www.samiuc.es/estadisticas-variables-binarias/la-tabla-2x2/>) para determinar el índice de correlación entre las dos pruebas efectuadas.

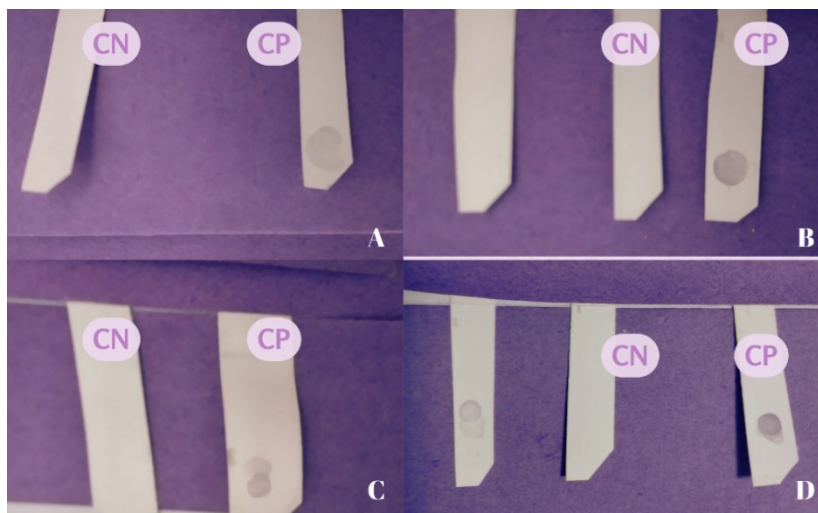
RESULTADOS

Estandarización del Dot ELISA

Se ensayaron diferentes tiempos de incubación y diferentes soportes, junto con diferentes métodos de agitación. Los resultados óptimos se consiguieron con las siguientes condiciones de trabajo: spot de 2 μL , concentración de antígenos TES de 9,01 $\mu\text{g}/\text{ml}$, soporte de canaletas con agitación horizontal, 500 μL de los distintos reactivos por suero, la primera incubación de 30 min, segunda incubación de 20 min, tiempo de reacción del revelado de 10 min resguardado de la luz, volumen del peróxido de hidrógeno de 50 μL para la activación del cromógeno, acotando los tiempos de lavado a 2 minutos. La prueba de Dot-ELISA empleó un tiempo total de 60 minutos. La reacción transcurrió por completo a temperatura ambiente. La interpretación del resultado se realizó a ojo desnudo sin necesidad de instrumentos de medición.



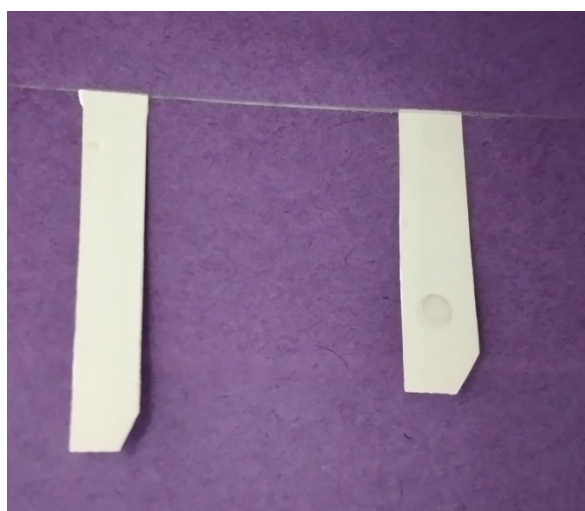
Figura 4. Tiras de controles positivos y negativos en diferentes condiciones.



Nota: **A.** Soporte canaletas, antígeno TES 6,32 $\mu\text{g}/\text{ml}$, spot de 2 μl , peróxido de hidrógeno 10 μL , duración total 60 min, sin resguardo de la luz. **B.** Soporte canaletas, antígeno TES 9,01 $\mu\text{g}/\text{ml}$, spot de 4 μl , peróxido de hidrógeno 50 μL , duración total 65 min, sin resguardo de la luz. **C.** soporte canaletas, antígeno TES 9,01 $\mu\text{g}/\text{ml}$, spot de 2 μl , peróxido de hidrógeno 50 μL , duración total 65, sin resguardo de la luz. **D.** soporte canaletas, antígeno TES 9,01 $\mu\text{g}/\text{ml}$, spot de 2 μl , peróxido de hidrógeno 50 μL , duración total 60 min en oscuridad.

La estabilidad del antígeno en la membrana se prolongó por al menos 3 meses conservado a 4°C. Las tiras conservadas por más de 10 meses arrojaron resultados más débiles; los dots presentaron una coloración más tenue, en contraste con lo observado usando tiras recién sensibilizadas.

Figura 5. Estabilidad de tiras de nitrocelulosa sensibilizada luego de 10 meses.



Nota: Tira del lado izquierdo: control negativo. Tira del lado derecha: Control positivo, color débil del cromógeno.



Validación frente al ELISA estándar

El método de Dot-ELISA estandarizado tuvo una sensibilidad del 100% y una especificidad del 83%, al ser contrastado con el ELISA estándar.

De las 41 muestras de suero estudiadas, 11 fueron positivas para el ELISA-IgG, 30 fueron negativas; para la prueba del Dot-ELISA IgG se obtuvieron 16 positivas y 25 negativas.

Del total de muestras analizadas 36 de ellas arrojaron resultados coincidentes: 11 seropositivos y 25 seronegativos, logrando una coincidencia del 88% entre ambos métodos. El índice de concordancia k obtenido fue de 0.73 (intervalo de confianza 95% = 1,02-0,43)

Estudio de seroprevalencia

Se estudiaron en total 41 sueros de niños y adultos procedentes de la localidad de Basail (Chaco) Empleando el método de Dot Elisa se obtuvo una seroprevalencia global de 39%.

Entre los pacientes de 1-15 años hubo un 33% de seropositivos y la población adulta (> 15 años) arrojó un valor de 44%.

DISCUSIÓN

La Toxocariosis es una enfermedad de difícil diagnóstico. No existe un método serológico de referencia ni tampoco un método parasitológico para diagnosticar definitivamente la enfermedad (Chieffi et al. 2009). En virtud a esto, en el presente trabajo se utilizó como referencia la prueba ELISA-IgG, ya que se ha demostrado que posee un alto grado de correlación con el método de Western Blot (López et al. 2005a, Roldán & Espinoza 2009), considerada una prueba serológica confirmatoria (MagnaVal et al. 2001).

El método ELISA-IgG que emplea antígenos TES de larvas de *T. canis*, resulta hoy en día la prueba diagnóstica internacionalmente aceptada para confirmar la toxocariasis (MagnaVal et al., 2001). No obstante, el método es laborioso, extenso y sólo puede realizarse si el laboratorio cuenta con un lector de microplacas. Esto limita su empleo en poblaciones remotas o rurales, dificultando el diagnóstico.

Una alternativa a esta prueba es el ELISA de punto o también conocido como Dot-ELISA, que, a diferencia del primer método, resulta ser de bajo costo, se puede aplicar simultáneamente a un gran número de muestras sin requerir una alta capacitación (Roldán et al. 2006, Chieffi et al. 2009) y es de fácil interpretación sin requerir de equipamientos sofisticados.

El índice de concordancia kappa describe una forma de analizar comparativamente la concordancia entre dos pruebas diagnósticas con resultados cualitativos. El grado de concordancia que se demuestra en este trabajo, al comparar el Dot-Elisa con el ELISA estándar, resulta bueno ($k = 0,72$) (ver Anexo Tabla 1). Además, debido a la alta sensibilidad y especificidad obtenidas, podemos señalar al Dot-ELISA como un método adecuado para ser utilizado como test de screening en la detección de anticuerpos anti-*Toxocara*.

Al disminuir los tiempos de incubación en comparación al empleado en la prueba de Dot-ELISA previamente estandarizada (Bojanich M. et al, 2012), se logra un ensayo más rápido, de fácil realización y sencilla interpretación, arrojando resultados confiables en 60 minutos. Además, el empleo de cepas autóctonas de *Toxocara* en la obtención de antígenos, garantiza que el método sea adecuado para su empleo en poblaciones del NEA en donde la infección es altamente prevalente.

La técnica diseñada en esta investigación fue aplicada a una población de la localidad de Basail (interior de la provincia del Chaco). La seropositividad obtenida (39%) es mayor a la reportada en población infantil de la ciudad de Resistencia, en el período post-pandemia López M et al (2023), pero es comparable a la obtenida en estudios anteriores por el mismo grupo de trabajo (Alonso et al, 2000; Alonso et al., 2004; Bojanich M. V. et al, 2008; López, M. et al, 2017). La seroprevalencia fue levemente mayor entre los adultos que entre los niños.



La Toxocariosis es una zoonosis frecuentemente desatendida en muchos países, que puede ser controlada mediante medidas básicas de higiene, concientización y cuidado de las mascotas. Dada la naturaleza de la misma, es importante abordar políticas de salud pública bajo el enfoque de “Una Salud”, teniendo en cuenta todas las variables que influyen en la salud humana, animal y del medio ambiente.



Tabla 1. Índice concordancia Kappa Cohen

Kappa	
<0	No acuerdo
0.0-0.2	Insignificante
0.2-0.4	Bajo
0.4-0.6	Moderado
0.6-0.8	Bueno
0.8-1.0	Muy bueno

Nota: Adaptado de Rubiales, E. (2018). *Kappa de Cohen*. SAMIUC. (<https://www.samiuc.es/estadisticas-variables-binarias/medidas-de-concordancia/kappa-de-cohen/>)

BIBLIOGRFÍA

- Botero D., Restrepo M. (2012) Parasitosis Humanas. (5ta Ed) Corporación para Investigaciones Biológicas
- Manson P., Cook G. C. & Zumla A. (2003). Manson's tropical diseases. 21st Edn. Saunders, London, UK.
- Glickman L. T. & Schantz P. M. (1981). Epidemiology & pathogenesis of zoonotic Toxocariasis. Epidemiol. Rev. 3: 230-250
- Fialho PM, Corrêa CR. (2016). A systematic review of toxocariasis: a neglected but high prevalence disease in Brazil. Am J Trop Med Hyg.;94(6):1193-9.
- Despommier, D. D. (2003). Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. Clinical Microbiology Reviews, 16(2), 265–272.
- Delgado O., Rodríguez M., Alfonso J. (2009). Aspectos clínico-epidemiológicos de la toxocariasis: una enfermedad desatendida en Venezuela y América Latina. Bol Mal Salud Amb. Vol.49
- Biology of soil-transmitted helminths: the massive infection. (1975, April 1). PubMed.
- Pinelli E., Brandes S., Dormans J., Fonville M., Hamilton C. M. & Der Giessen J. (2007). *Toxocara canis*: Effect of inoculum size on pulmonary pathology and cytokine expression in Balb/C mice. Exp. Parasitol. 115: 76-82.
- Pawlowski Z. (2001). Toxocariasis in humans: Clinical expression and treatment dilemma. J. Helminthol. 75: 299-305
- Molk R. (1983). Ocular Toxocariasis: A review of the literature. Ann. Ophthalmol. 15: 216-219, 222- 217, 230-211.
- Taylor M. R. (2001). The epidemiology of ocular Toxocariasis. J. Helminthol. 75: 109-11.
- Mizgajska H. (2001). Eggs of *Toxocara spp.* in the environment and their public health implications. J Helminthol;75(2):147-51. PMID: 11520438.
- Rodríguez-Morales, A. J., Echeverri-Cataño, L. F., & Delgado, O. (2011). Necesidad de consenso en el diagnóstico de la toxocariasis humana: implicaciones en la salud



pública latinoamericana. Revista Peruana De Medicina Experimental Y Salud Pública, 28(1), 161–162.

- Minvielle M, Taus M, Raffo M, Ciarmela L, Basualdo J. (2000). Seroprevalence of toxocariasis in blood donors of Gualeguaychú, Argentina. Trans Roy Trop Med Hyg; 94: 373-375.
- Radman N E, Archelli S M, Fonrouge R D, et al. (2000). Human Toxocarosis. Its seroprevalence in the city of La Plata. Mem Inst Oswaldo Cruz; Vol 95(3): 281-285.
- Martín UO, Demonte ME, Contini L, Giraldez E, Mendicino D, Del Barco M. (2017). Toxocariosis en diferentes poblaciones infantiles vulnerables de la Argentina. Medicina para y por Residentes 6(2):7-12
- Alonso, J. M., Bojanich, M. V. I., Chamorro, M., Gorodner, J. O. (2000). *Toxocara* seroprevalence in children from a subtropical city in Argentina. Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo, 42(4), 235–237. <http://doi.org/10.1590/S0036-46652000000400010>
- Alonso, J. M., López, M. A., Bojanich, M. V. (2004). Infección por *Toxocara canis* en población adulta sana de un área subtropical de Argentina. Parasitol Latinoam, 61–64. <http://doi.org/10.4067/S0717-77122004000100012>
- Bojanich, M. V., De Los Angeles López, M., Fernández, G., Azula, L; Alonso, J. M. (2008). Infección por *Toxocara canis* en población infantil vulnerable del Noreste de Argentina. Enfermedades Emergentes, 10(2), 84–87.
- López MA, Cenoz Coni MJ, Bojanich MV, Medina MG, Fernández GJ, Balbachan SE. (septiembre 2017) Toxocariosis humana en áreas rurales de la provincia de Corrientes, Argentina. RAZyEIE 2016; 11(3): 29-33 ISSN 1851-3638
- López, M.A., Medrano, P., Pellegrini J., Medina M., Bojanich, MV. (2023). Prevalencia de toxocariosis humana en niños hospitalarios de corrientes y resistencia en la era post pandemia. XII Congreso Internacional de Infectología Pediátrica y Vacunas.
- Magnaval, J., Glickman, L. T., Dorchie, P., & Morassin, B. (2001). Highlights of human toxocariasis. Korean Journal of Parasitology, 39(1).
- Morales O. (1999). Identificación de antígenos de *Toxocara canis* mediante la técnica de Western Blot en conejos infectados experimentalmente. Tesis para optar al título de Magister en Infecciones y Salud en el Trópico, Universidad Nacional de Colombia.
- Delgado O., Coraspe V., Fuenmayor J., Simonovic E., Silva S. & Payares G. (1995). Detección de anticuerpos específicos en pacientes con sospecha de infección por *Toxocara canis*. Acta Cient. Venez. 46 (Supl. 1): 163-164
- Camargo ED, Nakamura PM, Vaz AJ 1992. Standardization of dot-ELISA for the serological diagnosis of toxocariasis and comparison of the assay with ELISA. Rev Inst Med Trop São Paulo 34: 55-60.
- Roldán, W. H., Cornejo, W., & Espinoza, Y. (2006). Evaluation of the dot enzyme-linked immunosorbent assay in comparison with standard ELISA for the immunodiagnosis of human toxocariasis. Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz, 101(1), 71–74.
- Chieffi, PP; Santos, S.; Zevallos Lescano S. (2009). Human toxocariasis: contribution by Brazilian researchers. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo [online]. V. 51, n. 6, pp. 301-308.
- López MA, Martín G, Chamorro MC, Alonso JM. (2005). Toxocariosis en niños de una región subtropical. Medicina (B. Aires); 65 (3): 226-30.
- Roldán, William H and Espinoza, Yrma A. (2009). Evaluation of an enzyme-linked immunoelectrotransfer blot test for the confirmatory serodiagnosis of human toxocariasis. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz [online]. V. 104, n. 3
- Bojanich, M. V., Marino, G., López, M. R., & Alonso, J. (2012). An evaluation of the dot-ELISA procedure as a diagnostic test in an area with a high prevalence of human *Toxocara canis* infection. Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz, 107(2), 194–197.



- Cerda, J., & Del P, L. V. (2008). Evaluación De La Concordancia Inter-Observador En Investigación Pediátrica: Coeficiente De Kappa. Revista Chilena De Pediatría.
- Beaver PC. (1975). Biology of soil transmitted helminths: the massive infection. Health Laboratory Science; 12: 116-25.

