

Frecuencia de toxocarosis ocular en menores de edad remitidos al servicio de parasitología intestinal

Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia; 2000-2001. Estudio piloto.

**Jorge Botero, Martha Hurtado, Norma Ocampo, Liliam Cañas,
Juan D. Bravo, Mónica Lopera · Medellín**

La toxocarosis ocular es una infección producida por la migración de larvas de *Toxocara canis* y *T. cati* al tejido ocular, que se adquieren al ingerir huevos provenientes de materia fecal de perros y gatos infectados con el estadio adulto del parásito. Diferentes neoplasias oculares, particularmente el retinoblastoma, presentan manifestaciones clínicas oculares indistinguibles de la toxocarosis ocular; por lo tanto, es necesario realizar el diagnóstico diferencial entre estas dos entidades.

Debido a que en la mayoría de los casos no se puede establecer un diagnóstico parasitológico, éste debe basarse en criterios clínicos, epidemiológicos y serológicos, como el *ELISA* para detectar anticuerpos IgG contra el antígeno de secreción-excreción de la larva L2 de *Toxocara* spp,

Objetivo: Determinar la frecuencia de toxocarosis ocular en pacientes menores de 18 años remitidos a la Sección de Parasitología Intestinal, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia; 2000-2001.

Métodos: Estudio prospectivo descriptivo de corte, en un año; se estudió una muestra intencional de 30 pacientes, remitidos por diferentes centros de atención oftalmológica de Medellín, a la dependencia anteriormente mencionada.

Resultados: La seropositividad de anticuerpos contra *Toxocara canis* fue de 63.3% (19/30), pero la frecuencia de toxocarosis ocular de acuerdo a criterios clínicos, epidemiológicos y serológicos fue de 20%.

Conclusión: La frecuencia de toxocarosis fue más alta que la informada por diferentes investigadores en el ámbito mundial y el contacto estrecho con perros fue el factor de riesgo más importante. (*Acta Med Colomb* 2001 ; 26: 290-294).

Palabras clave: *Toxocarosis ocular*, *Toxocara canis*, *Toxocara cati*, *Larva migrans ocular*.

Introducción

La toxocarosis es una infección parasitaria cuyo agente etiológico es un nemátodo perteneciente al género *Toxocara*, orden *Ascaridida*. Las especies más frecuentemente implicadas en los Síndromes de Migración Larvaria Visceral (MLV) y Síndromes de Migración Larvaria Ocular (MLO), son en su orden el *Toxocara canis* y el *T. cati* que parasitan al perro y al gato, respectivamente (1-3).

El hombre adquiere la infección al ingerir huevos embrionados que se encuentran en la tierra o alimentos contaminados con la materia fecal de los perros; al llegar al intestino los huevos eclosionados pasan a circulación sanguínea o linfática y así migran a cualquier sitio del

organismo, especialmente hígado, pulmón, cerebro y ojos (4-6).

El Síndrome de Migración Larvaria Ocular cursa con endoftalmitis; la retina es el sitio más afectado, allí puede

Jorge Botero Garcés: Inmunología, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina; Lic. Martha Hurtado Mejía: Bacterióloga, Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico; Lic. Norma Ocampo Rodas: Bacterióloga, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina; Lic. Liliam Cañas Rodríguez: Bacterióloga, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina; Dr. Juan D. Bravo Acosta: Oftalmólogo, Retinólogo, Sección de Oftalmología, Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Universidad de Antioquia. Clínica Oftalmológica de San Diego; Lic. Mónica Lopera Medina: Bacterióloga, Departamento de Microbiología y Parasitología, Sección de Parasitología Intestinal. Corporación de Patologías Tropicales, Universidad de Antioquia. Medellín.

causar ulceración e inflamación, con formación de un granuloma eosinofílico, compuesto por fibrina, linfocitos, células epiteliales, células gigantes y numerosos eosinófilos (6-8).

La enfermedad ocular, presenta varias formas clínicas (6-8):

1. Endoftalmitis aguda o subaguda. Con una marcada opacidad vítrea que oscurece el granuloma eosinofílico primario. Puede ocasionar lesiones mixtas exudativas en retina y sinequias posteriores.

2. Granuloma periférico. Confinado principalmente a la retina, se puede acompañar de inflamación vítrea.

3. Otras presentaciones son la endoftalmitis crónica difusa y el granuloma solitario del polo posterior (mácula y nervio óptico). En las formas crónicas, el proceso puede evolucionar hasta el desprendimiento de retina, atrofia del nervio óptico y pérdida de la visión (3, 6-8).

La toxocosis ocular es clínicamente similar a algunas entidades nosológicas, entre ellas el retinoblastoma; por ello se hace necesario el uso de pruebas como la serología, que facilite establecer el diagnóstico diferencial y así evitar procedimientos que lleven a la enucleación innecesaria del ojo (7).

El diagnóstico de certeza de la toxocosis sólo puede hacerse cuando se identifica la larva en biopsia, autopsia o en ojos enucleados. Sin embargo, una historia clínica sugestiva de toxocosis ocular, riesgos epidemiológicos y positividad en la prueba de *ELISA* (Inmunoensayo Enzimático Ligado a una Enzima) para la determinación de anticuerpos contra el antígeno de Secreción-Excreción (TES), son altamente indicativos de esta enfermedad. No obstante, los resultados deben ser analizados con precaución debido a que en ocasiones presenta reacciones cruzadas con otros parásitos como *Ascaris lumbricoides* y *Strongyloides stercoralis*, entre otros (4, 9, 10).

Debido a los factores epidemiológicos que rodean la transmisión de la toxocosis, esta se constituye en un problema de salud pública en el ámbito mundial (1, 11). Hasta el momento sólo existen datos seroepidemiológicos aislados del problema con los cuales se ha estimado que afectaría a más de 20% de la población infantil de diferentes países (11-13).

Por consiguiente, nuestro grupo se propuso conocer la frecuencia de toxocosis ocular de los niños remitidos a la Sección de Parasitología Intestinal, Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia, provenientes de los diferentes centros de atención oftalmológica del área urbana del Municipio de Medellín, durante ocho meses y con base en los resultados hallados se pretende establecer en futuro mediante el estudio detallado de esta grave enfermedad.

Material y métodos

Tipo de estudio

Estudio prospectivo descriptivo de cohorte, durante un año; febrero 15 de 2000 a febrero 14 de 2001.

Población de estudio

Se estudió una muestra intencional, es decir, por conveniencia en donde se incluyeron todos los pacientes menores de 18 años con manifestaciones oculares específicas e inespecíficas con relación a toxocosis ocular, remitidos de los centros oftalmológicos de Medellín, a quienes se les realizó prueba de Snellen, examen biomicroscópico con lámpara de hendidura, evaluación de fondo de ojo mediante oftalmoscopia indirecta con lente de 20 dioptrías.

Las variables evaluadas incluyeron edad, sexo, procedencia, manifestaciones clínicas oculares, contacto con perros y anticuerpos contra TES.

Preparación del antígeno. Para la preparación del TES, se realizó el protocolo de Savigny (1975) (13) con algunas modificaciones: los parásitos adultos de *Toxocara* se recolectaron de materia fecal de cachorros, que fueron desparasitados con albendazol 15 mg y praziquantel 5 mg por cada 5 kg de peso. Las hembras recolectadas se lavaron con abundante solución tamponada de fosfatos (PBS:Na₂HPO₄ 0.03M/K₂HPO₄) Ca₂ con pH 7.2, se hizo histerectomía para extraer los huevos, los cuales se mantuvieron en cajas de Petri con formol 1% en PBS durante 60 días en una cámara de seguridad a temperatura ambiente y bajo la exposición permanente de una lámpara de luz de neón, hasta alcanzar más de 80% del embrionamiento de los huevos.

Los huevos embrionados se sometieron a tres lavados con solución salina estéril al 0.85% a 2.500 rpm/2 min cada vez, se agregó hipoclorito de sodio al 10% con agitación constante durante 30 minutos a 37°C con el fin de facilitar la decorticación. Después, se procedió a repetir los lavados con solución salina, bajo las condiciones anteriormente descritas, posteriormente las larvas se pusieron en medio RPMI 1640 con penicilina 100 U/ml y estreptomycin 100 mg/ml suplementado con HEPES y glutamina, se sonicaron cuatro segundos a 60 Watts para liberar las larvas. Estas se incubaron durante un mes en el mismo medio a una concentración de 10.000/ml en una estufa de CO₂ 5% a 37°C. El sobrenadante que contenía el TES fue recolectado todos los días y las proteínas fueron concentradas por liofilización en un equipo Labconco y cuantificadas por el método de Bradford (14).

Técnica de ELISA. Se realizó la técnica de Matsuda y colaboradores (15) modificada: Los platos de 96 pozos (Polysorp™) se sensibilizaron con 10 mg/ml de TES por pozo, en buffer de carbonatos (Na₂CO₃/NaHCO₃ pH 9.6), los cuales fueron incubados inicialmente una hora a 37°C y luego toda la noche a 4°C.

Para la determinación de anticuerpos séricos, se depositaron en cada plato sueros control, tres positivos y tres negativos (resultado determinado por el CDC de Atlanta), además de los sueros problema. Se hicieron tres diluciones en Blotto-PBS/leche 3% (1:20, 1:80, 1:320), con el propósito de determinar la dilución óptima de los sueros, de

acuerdo a los resultados se decidió continuar las pruebas con la dilución 1:20 (datos no mostrados),

La fase siguiente fue la incubación de la reacción con el segundo anticuerpo anti-IgG humana conjugada con peroxidasa (Sigma) a dilución 1:500, durante una hora a 37°C, luego se lavó con PBS, se adicionó ortofenildiamina (OPD) y se adicionó la solución de parada de la reacción (una mezcla de ácido fosfórico-ácido clorhídrico-0.3M H₃PQ₄-0.5M HCL), la absorbancia se leyó a 490 nm en un espectrofotómetro (Power Wave BIOTEK Instrument). El volumen final de cada reacción fue de 100 ml/pozo excepto la solución de parada cuyo volumen fue de 50 ml/pozo. Después de cada reacción los platos se lavaron tres veces con PBS durante dos minutos.

El punto de corte se obtuvo tomando en cuenta dos desviaciones estándar por encima del promedio de la absorbancia de los sueros negativo en cada ensayo.

Resultados

Durante 8 meses se evaluaron 30 pacientes, entre 0 y 17 años de edad, 60% hombres (18/30), 40% mujeres (12/30), 19 fueron seropositivos para Ac anti-*Vqzqectc* (63.3%) y 11 seronegativos (36.7%). En el grupo de 6-12 años, se concentró el mayor número de casos seropositivos, estos datos fueron estadísticamente significativos al compararlos con los de los grupos de edad restantes (p< 0.001) (Tabla 1).

Del total de pacientes evaluados, 53.3% eran del área metropolitana del Valle del Aburrá, 46.7% no pertenecían a esta zona. La seropositividad fue mayor en niñas que en niños, 57.9% (11/19) y 42.1% (8/19) respectivamente; sin embargo, esta diferencia no presentó significancia estadística.

De los 19 pacientes seropositivos, seis tenían criterios clínicos y epidemiológicos de toxocarosis, que corresponde a 20% del total de los menores evaluados; 13 tenían sintomatología ocular inespecífica como: dolor ocular, disminución de agudeza visual, ojo rojo, leucocoria, entre otros. De estos signos o síntomas los más frecuentes fueron la disminución de agudeza visual en 73.7% (14/19) y el ojo rojo en 47.4% (9/19) (Figura 1).

Los signos y síntomas oculares más comunes en los pacientes seropositivos fueron disminución de la agudeza

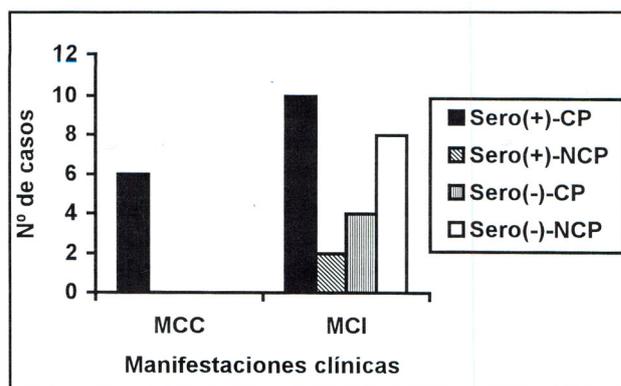


Figura 1. Distribución de los resultados de ELISA de acuerdo a las manifestaciones clínicas compatibles (MCC) con toxocarosis ocular y manifestaciones clínicas inespecíficas (MCI), y el contacto estrecho con perros (CP).

Sero(+)-CP: Seropositivos con antecedente de contacto estrecho con perros
Sero(+)-NCP: Seropositivos sin antecedente de contacto estrecho con perros
Sero(-)-CP: Seronegativo con antecedente de contacto estrecho con perros
Sero(-)-NCP: Seronegativo sin antecedente de contacto estrecho con perros

visual y el ojo rojo, seguido de dolor ocular y leucocoria. (Tabla 2). Algunos pacientes presentaron una o más de las manifestaciones clínicas mencionadas en la tabla anterior.

Con relación a los hallazgos en el fondo de ojo de los pacientes seropositivos, las presentaciones clínicas oculares más comunes fueron el granuloma periférico, el desprendimiento de retina traccional, la fibrosis posterior con membranas fibróticas (Tabla 3).

En este estudio se observó una asociación estadísticamente significativa entre el antecedente de contacto con un perro y la presencia de anticuerpos anti-*Toxocara*, al comparar a los pacientes seronegativos con los seropositivos (p<0.05); Ta-

Tabla 2. Frecuencia absoluta de signos y síntomas de los pacientes seropositivos.

Signos y síntomas	Número
Disminución de agudeza visual	14
Ojo rojo	9
Dolor ocular	5
Leucocoria	1

Tabla 1. Distribución de la población estudiada según grupo de edad, sexo, contacto estrecho con perro y resultado del ELISA para la detección de anticuerpos IgG contra antígenos TES.

Grupo de edad	Sexo (n)		Contacto con perro (n)		ELISA Toxocara (n)		Total G. (edad)
	M	F	+	-	+	-	N
0-6	6	3	4	5	3	6	9
7-12	12	7	15	4	15	4	19
13-17	0	2	0	2	1	1	2
Total	18	12	19	11	19	11	30

n= número absoluto de pacientes. M= Masculino, F= Femenino
 Edad en años cumplidos
 Contacto con perro, sólo se consideró cuando existía un contacto estrecho (convivencia)

Tabla 3. Hallazgos a la evaluación del fondo de ojo en pacientes seropositivos.

Cuadro clínico ocular	Número
Granuloma periférico	2
Desprendimiento de retina	2
Fibrosis posterior y membranas fibróticas	2
Uveítis	1
Banda en retina	1

Tabla 4. El total de pacientes que convivían en contacto estrecho con perros fue de 19; sin embargo, cuatro de éstos fueron negativos para anticuerpos cpw *Toxocara*.

Discusión

A pesar de que la toxocarosis ocular ha sido considerada de distribución cosmopolita debido a sus características epidemiológicas, se conocen pocos datos sistematizados que establezcan la magnitud global del problema, existiendo sólo reportes aislados; sin embargo, éstos permiten estimar un alto grado de infección en la población, principalmente en niños (11, 12). Se han informado cifras de seroprevalencia hasta de 86% en la población pediátrica seleccionada al azar (11). Estudios de toxocarosis en diferentes países (16-20), realizados en condiciones similares, han informado frecuencias que oscilan entre 4.6 y 39%.

Como se describió en Material y métodos, este estudio se trató de una muestra intencional (no aleatorizada ni representativa de la población de Medellín); sin embargo, es importante relacionar este estudio con diferentes trabajos en esta área, realizados en el ámbito nacional y mundial.

En Bogotá, la Fundación Oftalmológica Nacional de Colombia, FUNDONAL, realizó un estudio de toxocarosis en un grupo de 185 escolares asintomáticos, encontrando una seroprevalencia de 13.5%. Este estudio concluyó que las condiciones socioeconómicas y culturales de la población favorecen la presencia de esta infección (21). Agudelo y colaboradores (1) realizaron un estudio en una población pediátrica de la ciudad de Bogotá seleccionada al azar, encontrando seropositividad de 47.5%. Estos datos reflejan un alto grado de infección en la población general y de alguna forma explican las tasas altas de seropositividad encontrada por nuestro grupo (63.3%).

Distintos estudios han revelado que la infección con *Toxocara*, demostrada a través de datos seroepidemiológicos es más frecuente que la enfermedad clínica, y que de alguna manera la falta de acceso a otras pruebas complementarias para el diagnóstico han contribuido al subregistro de esta parasitosis. Estas observaciones fueron corroboradas en nuestro caso por la relativa baja frecuencia de toxocarosis ocular (20%) cuando se comparó con las tasas de seropositividad (63.3%). Sin embargo, esta frecuencia es alta con relación a datos de diferentes investigadores en el ámbito mundial (2, 3, 7, 8). Además, el hallazgo de 14/19 (73.7%) pacientes seropositivos con manifestaciones oculares inespecíficas y

Tabla 4. Relación entre el contacto estrecho con perros y la presencia de anticuerpos anti-*Toxocara*.

Contacto estrecho con perros	
Seropositivos n (%)	Seronegativos n (%)
15 (78.9)	4 (21.1)

10/19 (52.63%) que no presentaron al examen de fondo de ojo ningún signo clínico de daño tisular, refleja tanto el grado de infección como el pleomorfismo de la toxocarosis en general.

Las manifestaciones y los hallazgos clínicos más frecuentemente encontrados en los pacientes seropositivos fueron: pérdida de la agudeza visual, ojo rojo, dolor ocular, granuloma periférico, desprendimiento de retina, fibrosis y uveítis. Estas características han sido repetidamente descritas por diferentes estudios (7, 8). Sin embargo, algunos autores han señalado que el estrabismo y la leucocoria son bastante comunes en esta entidad; en nuestro caso obtuvimos un paciente seropositivo con leucocoria y tres con estrabismo, lo que representa 5.2% y 16%, respectivamente.

Con respecto al sexo de los pacientes estudiados no hubo diferencia significativa entre esta variable y las tasas de seropositividad, lo que concuerda con diferentes estudios en el contexto nacional y mundial (1, 17, 18).

Este estudio corrobora las observaciones de otros investigadores en cuanto a la importancia del contacto estrecho con perros como un factor de riesgo para la transmisión del parásito (1). No obstante, la infección también puede ser adquirida a partir de fuentes externas como parques y sitios públicos donde normalmente los cachorros hacen sus deposiciones (6, 22-24), lo que implica que deben tomarse medidas de saneamiento ambiental encaminadas a la prevención y el control de la diseminación de la enfermedad.

Casi la totalidad de los niños estudiados pertenecieron a estratos socioeconómicos bajos o medio bajos, lo que no permitió establecer ninguna asociación entre éste y la seropositividad.

La seropositividad contra antígeno de *Toxocara* en individuos afectados por otras helmintosis ha sido repetidamente informada (25). En nuestro estudio no se evaluó este parámetro.

Varios estudios han mostrado que los anticuerpos anti-toxocara pueden reaccionar de forma cruzada con antígenos de *Ascaris* y otros nemátodos por su gran homología antigénica. Para evitar este tipo de reacciones, algunos investigadores han sugerido la absorción de los sueros problema con antígeno de *Ascaris suum*. Sin embargo, Camargo y colaboradores informan para la técnica de ELISA con antígeno no absorbido, sensibilidad y especificidad de 100% y 90.5% respectivamente (25). Nuestro grupo utilizó para el estudio sueros no absorbidos, obteniendo resultados comparables a los informados por el CDC de Atlanta (datos no mostrados).

Diversos estudios han mostrado que la sensibilidad del ELISA para el diagnóstico de la toxocarosis ocular es menor a la que se presenta en los casos de toxocarosis visceral debido a que la respuesta inmune humoral se produce con menor intensidad y a la posible barrera mecánica de los capilares oculares (7); además puede estar relacionada con el período transcurrido entre la infección y la presentación de las manifestaciones clínicas. Para el caso de la toxocarosis ocular, se ha visto que los pacientes consultan mucho tiempo después de haber adquirido la infección (3, 5).

En conclusión, en este estudio la frecuencia de toxocarosis ocular de acuerdo a criterios clínicos, epidemiológicos y serológicos fue más alta que la reportada por diferentes investigadores en el ámbito mundial (6) y además corrobora que el antecedente de contacto estrecho con perros es un factor de riesgo para la infección con *Toxocara*.

Agradecimientos

El presente estudio fue financiado por el Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI), Universidad de Antioquia. A la Unidad de Oftalmología, Hospital Universitario San Vicente de Paúl (HUSVP), a la Clínica Oftalmológica de San Diego, al Hospital Pablo Tobón Uribe y a todos los centros oftalmológicos de atención de pacientes de la ciudad de Medellín, por la oportuna remisión de pacientes. A todos los pacientes participantes en el estudio y al doctor Kevin Arango S., oftalmólogo.

Summary

The ocular toxocarosis is an infection produced by the migration of larvae of *Toxocara canis* and *T. cati* to the ocular tissue, they are acquired when ingesting eggs coming from dog and cats feces infected with the mature state of the parasite. Different ocular cancers as retinoblastoma, have similar ocular clinical manifestations like ocular toxocarosis, therefore, it is necessary to carry out the differential diagnosis among these two entities.

Because in most of the cases the parasitologic diagnosis can not be made, it should be based on clinical, epidemiological and serological approaches, as the ELISA to detect antibodies IgG against the antigen of secretion-excretion of the larva L2 of *Toxocara* spp.

Objective: to determine the frequency of ocular toxocarosis in patients younger than 18 years remitted to the section of Intestinal Parasitology, School of Medicine, University of Antioquia; 2.000-2.001.

Methods: cross sectional study during one year. We studied an intentional sample of 30 patients, remitted by different centers of ophthalmologic attention from Medellín, to the previously mentioned dependence.

Results: the seropositivity of antibodies against *Toxocara canis* was 63.3% (19/30), but the frequency of ocular toxocarosis according to clinical, epidemiological and serological approaches was 20%.

Conclusion: the toxocarosis frequency was higher than the are reported by different investigators in the world and the narrow contact with dogs was the most important risk factor.

Key words: ocular larva migrans, ocular toxocarosis, *Toxocara canis*, *Toxocara cati*.

Referencias

1. Agudelo E, Villareal E, Caceres E, Lopez C, Eljach J, Ramirez N, Hernández C, Corredor A. Human And Dogs *Toxocara canis* infection in a poor neighborhood in Bogotá. Mem Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 1990; **85**: 75-78.
2. Jacob CM, Pastorino AC, Peres BA, Mello EO, Okay Y, Oselka GW. Clinical and laboratorial features of visceral Toxocarosis in infancy. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1994; **36**: 19-26.
3. Sapunar J, Verdaguier J, Centeno J, Centeno E. Larva migrans Ocular por *Toxocara*. Análisis de 31 casos. *Parasitología al Día* 1989; **13**: 21-33.
4. Nunes CM, Tundisi RN, Heinemann MB, Ogassawara S, Richtzenhain LJ. Toxocarosis: serological diagnosis by indirect antibody competition elisa. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1999; **41**: 95-100.
5. Yamasaki H, Araki K, Kim Coi Lim P, Zasmy N, Wah M Ak J, Taib R, Aoki T. Development of a Highly Specific Recombinant *Toxocara canis* Second-Stage Larva Excretory-Secretory Antigen for Immunodiagnosis of Human Toxocarosis. *J Clin Microbiol* 2000; **38**: 1409-1413.
6. Noemi I, Viovy A, Cerva J, Gottlieb B, Ronconee, Quera R, y col. Perfil clínico de la Toxocarosis en Pediatría. *Parasitología al Día* 1992; **16**: 91-97.
7. Petithory JC, Chaumeil C, Liotet S, Rousseau M, Bisognani A. Immunological studies on Ocular Larva Migrans. En: Lewis JM, Maizels RM eds. *Toxocara and Toxocarosis* 1993: 82-89.
8. Rodriguez A, Salazar L, Bechara R. Toxocarosis ocular, Endofalmitis crónica y vitrectomía pars plana. *Arch Soc Ojal Optom* 1984; **18**: 287-300.
9. Jacob CM, Pastorino AC, Peres BA, Mello EO, Okay Y, Oselka GW. Clinical and laboratorial features of visceral Toxocarosis in infancy. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1994; **36**: 19-26.
10. Portus M, Riera C, Prats G. A Serological survey of Toxocarosis in Patines and Healthy Donors in Barcelona (Spain). *European Journal of Epidemiology* 1989; **5**: 224-227.
11. Thompson DE, Bundy DAP, Cooper ES, Schantz PM. Epidemiological characteristics of *Toxocara canis* zoonotic infection of children in a Caribbean community. *Bulletin of the Health Organization* 1986; **62**: 283-290.
12. Holland CV, O'lorcaín P, Taylor MR, et al. Seroprevalence of toxocarosis in School children. *Parasitology* 1995; **110**: 535-545.
13. Savigny DH, Voller A, Woodruff AW. Toxocarosis: serological diagnosis by enzyme immunoassay. *J Clin Pathol* 1979; **32**: 284 - 288.
14. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analyt Biochem* 1976; **72**: 248-254.
15. Matsuda H, Tanaka H, Bayani L, Julian S, Tokawa T, Ohsawa S. Evaluation of ELISA with ABTS, 2-2'-azino-di-(3-ethylbenzthiazolina sulfonic acid), as the substrate of peroxidase and its application to the diagnosis of schistosomiasis *Jpn J Exp Med* 1984; **54**:131-138.
16. Ajalyi O, Duhlinska D, Agwale SM, Njoku M. Frequency of Human Toxocarosis in Jos, Plateau State Nigeria. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 2000; **95**:147-149.
17. Radman NE, Archelli SM, Fonrouge RD, Guardis M del V, Linzitto OR. Human Toxocarosis, Its seroprevalence in The City of La Plata. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 2000; **95**: 281-285.
18. Moreira-Silva SF, Leao ME, Mendoca HF, Pereira F. Prevalence of anti-*Toxocara* antibodies in a random sample of inpatients at a children's hospital in vitória, Espírito Santo, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1998; **40**: 259-261.
19. Luo Z, Wang G, Yang C, Luo C, Cheng S, Liao L. Detection of Circulating antigens and antibodies in *Toxocara canis* infection among children in Chengdu. *China J Parasitol* 1999; **85**: 252-256.
20. Schant PM. Improvements in the serodiagnosis of Helminthic zoonoses. *Veterinary Parasitology* 1987; **25**: 95-120.
21. Rodriguez A, Silva JC, Corredor A. Toxocarosis en la población asintomática. *Cirugía* 1986; **1**: 79-80.
22. Shoji U, Kataoka N. Measures to control *Toxocara* egg contamination in sandpits of public parks. *Am J Trop Med Hyg* 1995; **52**: 21-24.
23. Angulo MR, Aguila de la PC, Guillen JL. Contaminación de suelos de parques públicos por *Toxocara canis*. *Rev Ibér Parasitol Vol extraordinario* 1987; **47**: 165-171
24. Costa Cruz JM, Núñez R, Buso AG. Presença de ovos de *Toxocara* spp em pracas publicas da cidade de Uberlandia, Mina Gérais, Brasil. *Revista del Instituto de Medicina tropical de Sao Paulo* 1994; **36**:39-42.
25. Camargo ED, Nakamura P, Vaz AJ, Silva M, Chieffi P, Meló E. Standardization of Dot-Elisa for the serological diagnosis of Toxocarosis and comparison of the assay with ELISA. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1992; **34**: 55-60.