

Caracterización de casos atendidos de toxocariasis visceral y ocular en el Instituto de Medicina Tropical, Caracas, Venezuela, 2011-2016

Olinda Delgado¹,
María Ana Rivas¹,
Virginia Coraspe¹,
Sylvia Silva¹,
María Laura Dos Santos¹,
Yalitz Centeno¹,
Alfonso J. Rodríguez-Morales^{1,2,3,4}

¹ Sección de Inmunoparasitología,
Instituto de Medicina Tropical,
Universidad Central de Venezuela,
Caracas, DC, Venezuela.
olinda.delgado@gmail.com

² Grupo de Investigación Salud Pública e
Infección, Facultad de Ciencias de la Salud,
Universidad Tecnológica de Pereira,
Pereira, Risaralda, Colombia.

³ Comité de Zoonosis y Fiebres
Hemorrágicas, Asociación Colombiana de
Infectología, Bogotá, DC, Colombia.

⁴ Working Group on Zoonoses,
International Society for Chemotherapy,
Aberdeen, United Kingdom.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La toxocariasis es una zoonosis prevalente en muchas regiones tropicales y subtropicales. En Venezuela existe un número relativamente bajo de investigaciones, pese a su alta frecuencia, cuando es buscada. En este estudio se revisó el comportamiento en 6 años de los pacientes atendidos en el Instituto de Medicina Tropical (IMT) para esta patología.

MÉTODOS: Se realizó un estudio observacional, en el período 2011-2016, evaluando los diagnósticos y las principales características de los casos atendidos con toxocariasis en el IMT, por técnicas inmunológicas como ELISA, Western-bloty ELISA-Avidez-IgG.

RESULTADOS: Se atendieron 2.750 casos (408 casos por año ± 184); 69,5% correspondieron a toxocariasis visceral. La edad promedio de los pacientes fue 20,43 años (IC95% 19,5-21,27), 54,9% del género masculino; 51,47% refirió la posesión de mascotas, 40,46% eran del Distrito Capital (resto de los 24 estados). Del total, 53,02% fueron positivos por ELISA, en estos la mediana de Avidez de anticuerpos IgG anti-Toxocara fue de 86%. En cuanto a la eosinofilia, los valores promedios fueron de 22,6% (IC95% 21,1-24,1%), mayores en aquellos con ELISA positiva (promedio 23,9%) ($p=0,0268$), también significativamente mayores en pacientes con toxocariasis visceral (22,9%) ($p=0,0364$).

DISCUSIÓN: La toxocariasis sigue siendo un importante problema de salud pública que requiere mayor estudio y evaluación, ejemplo estudios trasversales y prospectivos para precisar mejor su comportamiento epidemiológico, así como en el conocimiento de su impacto clínico. El desarrollo de mejores técnicas de diagnóstico, y en particular de biología molecular, son una clara necesidad en Venezuela y otros países de la región.

Palabras Clave: toxocariasis; *Toxocara canis*; *Toxocara cati*; epidemiología; inmunodiagnóstico; Venezuela.

CHARACTERIZATION OF CASES TREATED FOR VISCERAL AND OCULAR TOXOCARIASIS OF THE TROPICAL MEDICINE INSTITUTE, CARACAS, VENEZUELA, 2011-2016.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Toxocariasis is a zoonosis, prevalent in many tropical and subtropical regions. In Venezuela, there are a relatively low number of investigations, despite its high frequency, when it is sought. For these reasons

we reviewed the trends and features in 6 years, of the patients attended in the Tropical Medicine Institute for this pathology.

METHODS: An observational study was carried out in the period 2011-2016, evaluating the diagnoses and main characteristics of the cases treated with toxocariasis in IMT, using immunological techniques such as ELISA, Western-blot and ELISA-avidity-IgG.

RESULTS: 2,750 cases were attended (408 cases per year \pm 184); 69.5% were visceral toxocariasis. The mean age of the patients was 20.43 years (95% CI 19.5-21.27), 54.9% of the male gender; 51.47% referred to the possession of pets, 40.46% were from the Capital District (rest of the 24 states). Of the total, 53.02% were positive by ELISA, in these, the median avidity of anti-Toxocara IgG antibodies was 86%. As for eosinophilia, the mean values were 22.6% (CI95% 21.1-24.1%), higher in those with positive ELISA (mean 23.9%) ($p=0.0268$), as well significantly higher in patients with visceral toxocariasis (22.9%) ($p=0.0364$).

DISCUSSION: Toxocariasis remains a major public health problem, requiring further study and evaluation. Cross-sectional and prospective studies are needed to better define its epidemiological behavior, as well as its clinical impact. The development of better diagnostic techniques and molecular biology in particular, is a clear need in Venezuela and other countries in the region.

Keywords: toxocariasis; *Toxocara canis*; *Toxocara cati*; epidemiology; immunodiagnosis; Venezuela.

INTRODUCCIÓN

La toxocariasis continúa siendo un importante problema de salud pública en muchos países, incluida Venezuela¹⁻⁴. Esta zoonosis tiene múltiples implicaciones epidemiológicas⁵⁻¹¹, así como clínicas¹²⁻¹⁷, por lo cual cobra gran importancia una mayor investigación de la misma. Sin embargo, aún el número de estudios publicados en el país, así como en otros de América Latina, es limitado¹⁸. También es importante mencionar que se requiere mejorar la disponibilidad de técnicas de diagnóstico inmunológico y molecular que permitan una mejor identificación de los casos^{1, 2, 4, 19}, especialmente aquellos que pueden considerarse agudos y que ameritan tratamiento para evitar las múltiples consecuencias, que tanto la toxocariasis visceral como la ocular pueden tener^{20, 21}.

Los estudios transversales de seroprevalencia, fundamentalmente basados en pruebas como la ELISA, han encontrado en América Latina una variación de 1 a 67%^{3, 22}. En el caso de Venezuela, en el mismo rango, donde además de la prevalencia de infección en perros, se ha encontrado alrededor de

12% y 65% en suelos en algunos lugares^{3, 22}.

La mayoría de los estudios de toxocariasis en América Latina están basados en pequeñas muestras, poco representativas, y fundamentalmente limitadas a lugares puntuales, en tiempo y espacio^{3, 22}. Por estas razones, el presente estudio, caracteriza el comportamiento de la toxocariasis en más de 2.750 casos evaluados en un período de 6 años, con pacientes procedentes de todo el territorio nacional, mostrando la importancia de esta zoonosis parasitaria y de su alta prevalencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional sobre la base de sujetos atendidos en el Instituto de Medicina Tropical en el período 2011-2016 (para el año 2016 solo se presentan resultados obtenidos durante el período enero-marzo), con una muestra no aleatoria, en la Sección de Inmunoparasitología, procedentes de diferentes lugares de Venezuela.

Todos los participantes fueron entrevistados para determinar la presencia de factores asociados a la infección (como tenencia de mascotas) y se realizó examen clínico general. Asimismo, se obtuvo una muestra de sangre de cada individuo, para la obtención de suero (para ELISA y ELISA-Avididad-Ig G) y con anticoagulante para realizar el conteo relativo de eosinófilos (%).

Las muestras de suero fueron procesadas mediante la técnica de ELISA para detectar anticuerpos específicos contra *Toxocara*, mediante el método estandarizado en el IMT en estudios previos.

Los resultados fueron almacenados en una base de datos elaborada con la hoja de cálculo Excel y el análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico Stata v.14.0 ® (licenciado para la UTP). Las variables cuantitativas se resumieron como promedios, con desviaciones estándar y/o intervalos de confianza del 95% (IC95%). Se analizaron frecuencias absolutas y relativas (con rangos intercuartiles para dispersión), se buscaron diferencias en la distribución de individuos en cada factor estudiado, tanto clínico como epidemiológico, con respecto al resultado de la

prueba inmunológica; estas diferencias fueron verificadas mediante la prueba de X² y t de Student, luego de verificar supuestos (normalidad con la prueba de Shapiro-Wilks), con un nivel de confianza de 95%, p significativa <0,05.

RESULTADOS

Durante el período de estudio (6 años) se atendieron un total de 2.750 casos evaluados inmunológicamente, para un promedio de 408 casos por año (± 184 /año, mínimo 90 en 2016, máximo 616 en 2012) (Figura 1). Del total de casos, 69,5% correspondieron a toxocariasis visceral y 30,5% a toxocariasis ocular.

La edad promedio de los pacientes fue 20,43 años (IC95% 19,5-21,27), siendo mayores las pacientes del género femenino, 22,5 años (IC95% 21,2-23,8) que las

de pacientes del género masculino, 18,8 años (IC95% 17,6-20,0) ($p=0,0001$). En cuanto al género, 54,9% correspondió al género masculino y 45,1% al femenino. Del total de casos, 51% correspondió a menores de 10 años de edad (Figura 2).

Los casos de toxocariasis visceral ocurrieron en pacientes de edad promedio 16,74 años (IC95% 15,8-17,7), en tanto los de toxocariasis ocular con edad promedio 28,7 años (IC95% 27,2-30,2) ($p<0,0001$).

De los pacientes, en 51,47% refirió la posesión de mascotas (48,53% no). Sin diferencias significativas según fuese toxocariasis visceral o toxocariasis ocular ($p=0,537$).

En cuanto a la procedencia 40,46% eran del Distrito Capital, seguidos por 35,9% del estado Miranda, seguidos por otros estados (Figura 3), en total 24

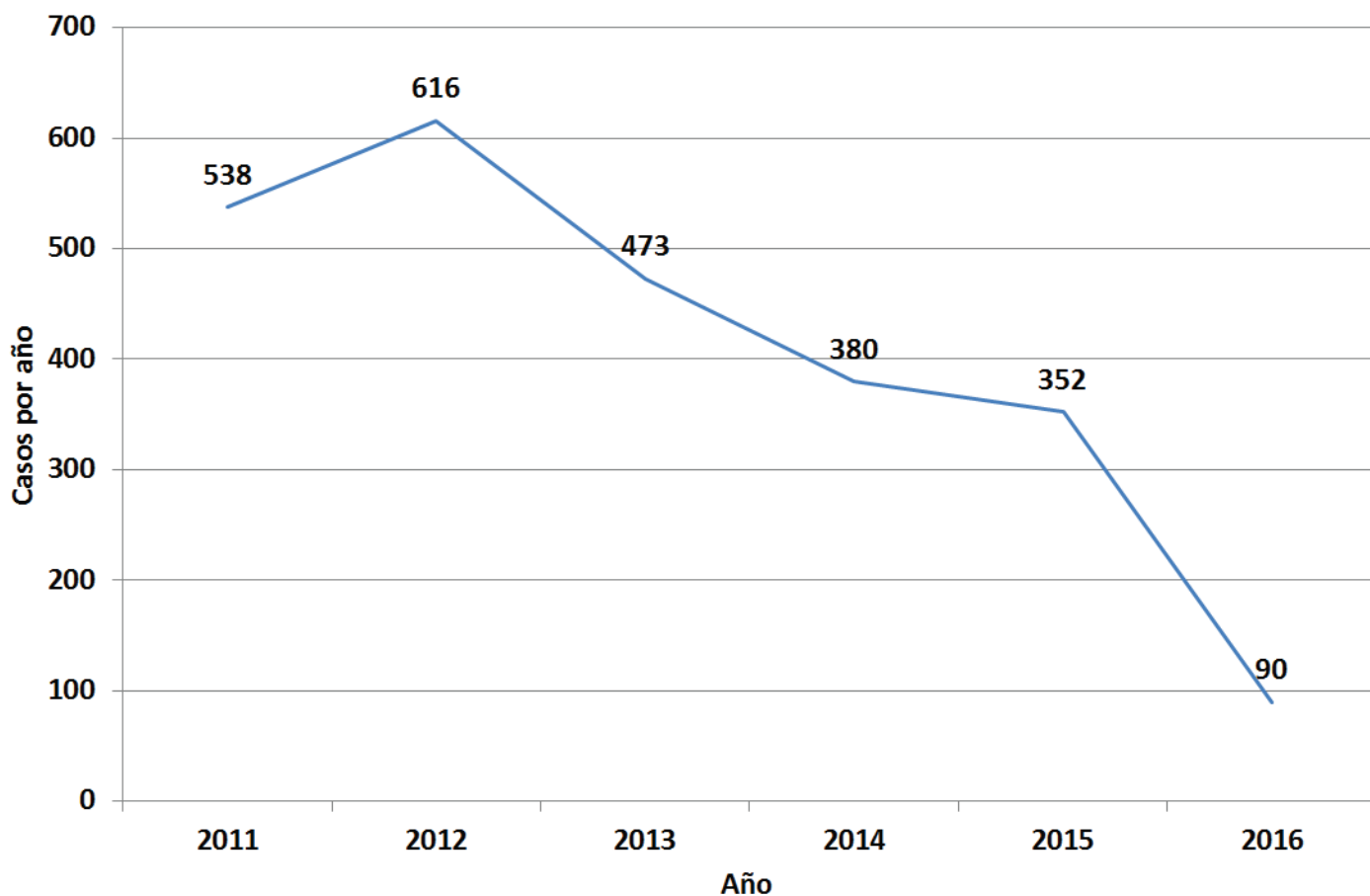


Figura 1

Número de casos atendidos por año, toxocariasis, Instituto de Medicina Tropical, 2011-2016 (para el año 2016 solo se presentan resultados obtenidos durante el período enero-marzo)

estados. También se identificaron 2 casos importados, uno de Colombia y otro de Perú (países donde la toxocariasis es una patología presente también).

Del total de pacientes evaluados, 53,02% fueron positivos por ELISA para anticuerpos anti-*Toxocara*. En los casos positivos por ELISA, la mediana de Avidéz de anticuerpos IgG anti-*Toxocara* fue de 86% (rango intercuartil 62-100), correspondiendo 82,6% a un valor >50%, 11,6% a 30-50% y 5,8% a valores <30%.

En cuanto a la eosinofilia, los valores promedios fueron de 22,6% (IC95% 21,1-24,1%), mayores en aquellos con ELISA positiva (promedio 23,9%) en comparación con ELISA negativa (promedio 20,8%) ($p=0,0268$). De igual forma, siendo significativa-

mente mayores en pacientes con toxocariasis visceral (22,9%) en comparación con aquellos con toxocariasis ocular (14,4%) ($p=0,0364$).

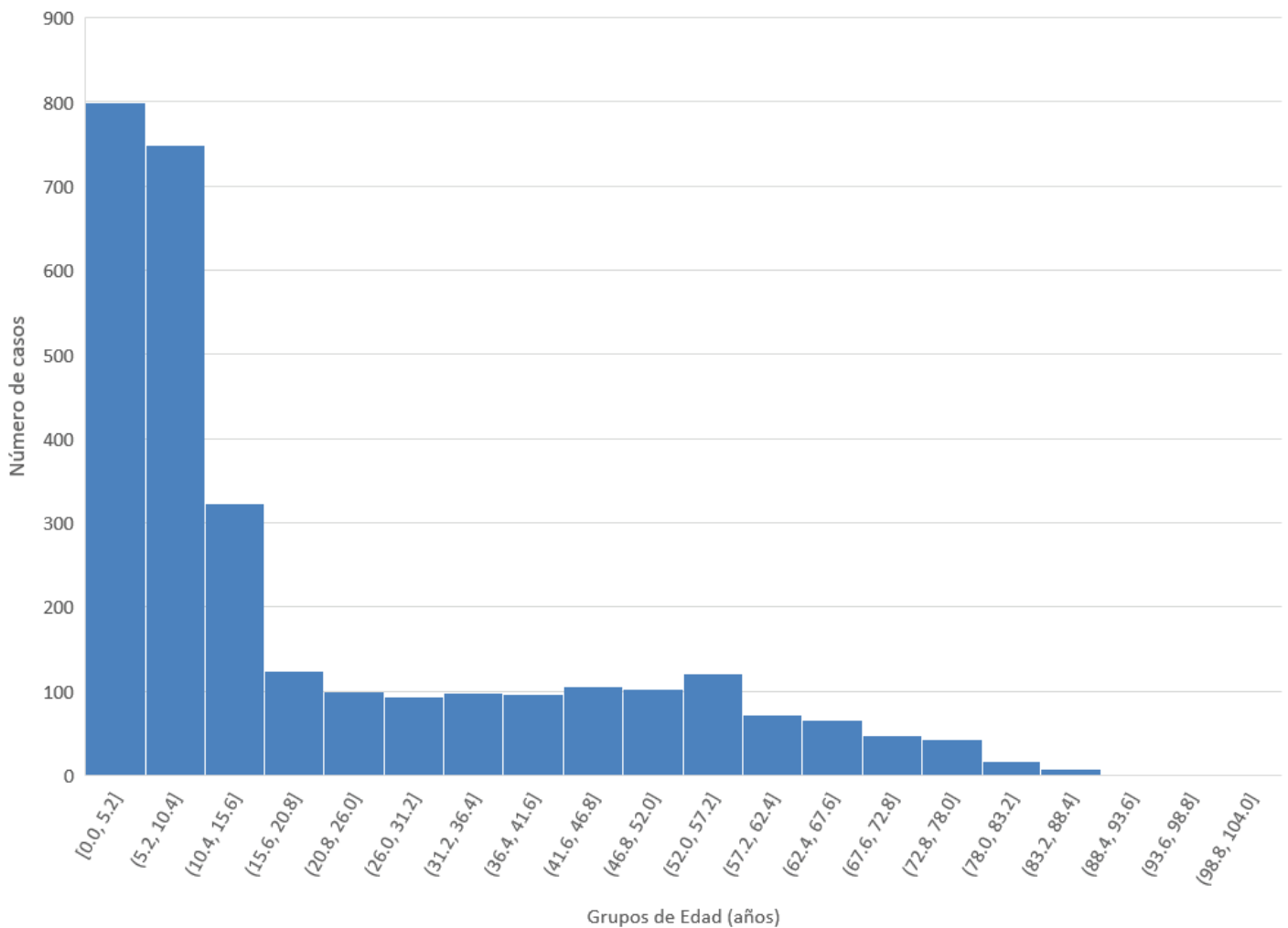


Figura 2

Distribución automática por grupos de edad (años) de los casos evaluados, toxocariasis, Instituto de Medicina Tropical, 2011-2016

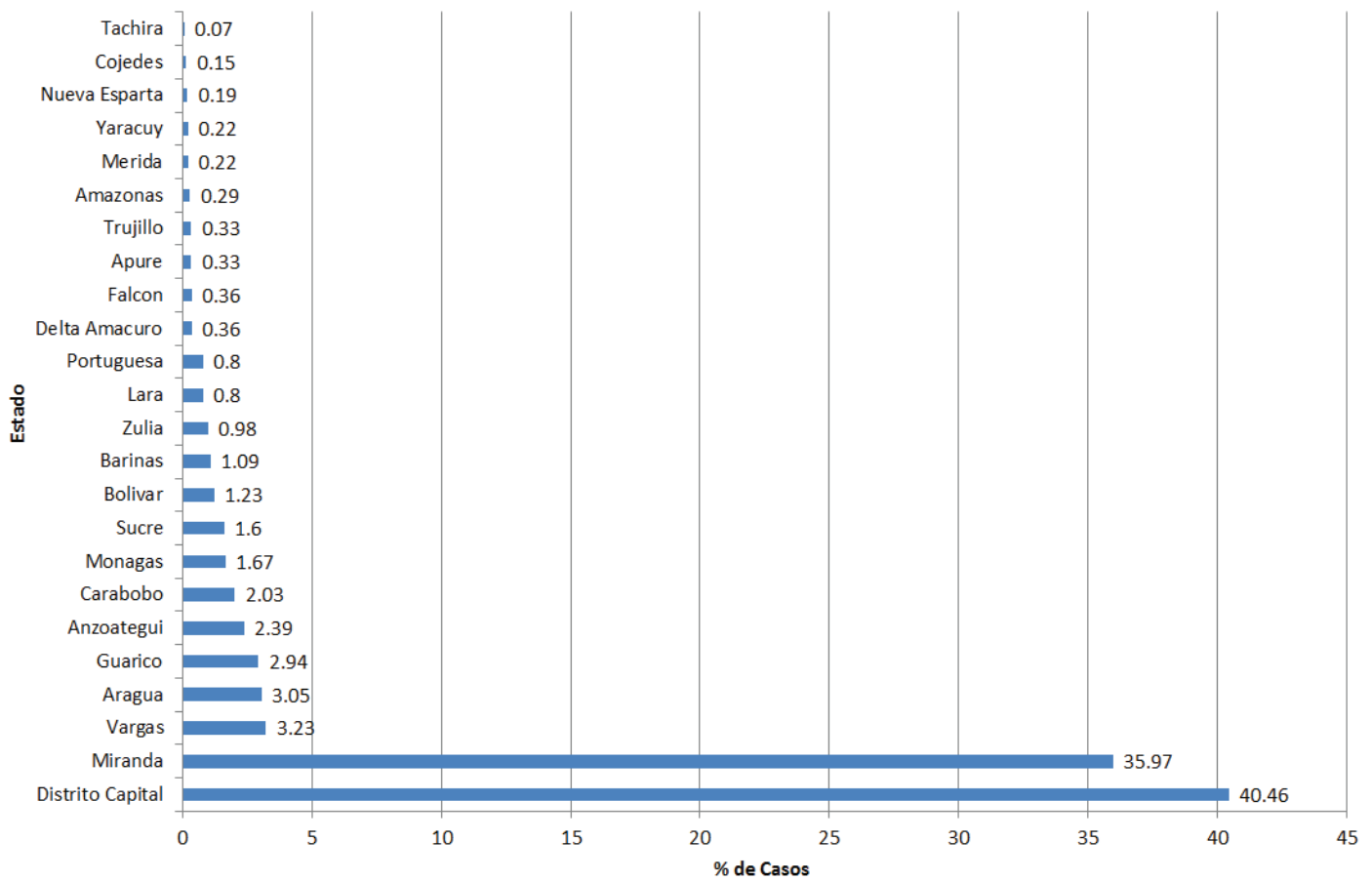


Figura 3
Procedencia de los casos de toxocariasis por estados del país, Instituto de Medicina Tropical, 2011-2016.

DISCUSIÓN

La toxocariasis continúa siendo un importante problema de salud pública²³⁻²⁶. Como agente causal del síndrome de *larva migrans visceral* y del síndrome de *larva migrans ocular*^{18, 21, 27, 28}, *Toxocara canis* y *Toxocara cati*, producen un amplio espectro clínico que aún precisa ser mejor clarificado. Esta infección zoonótica representa un considerable reto diagnóstico para el clínico y en tal sentido, las técnicas de diagnóstico inmunológico proveen en los actuales momentos el único medio para poder identificar casos especialmente agudos y crónicos^{4, 29-32}.

El presente estudio representa un importante esfuerzo en cuanto al número de casos incluidos, más de 2500 evaluados inmunológicamente durante 6 años en el principal centro de referencia para el diagnóstico de esta patología en el país. Consistente con lo reportado en la literatura científica internacional, la edad promedio de los casos en este trabajo, estuvo

por debajo de 21 años de edad, siendo más de la mitad de los casos menores de 10 años^{21, 33}.

En el Instituto de Medicina Tropical se pudo llevar a cabo el diagnóstico a través de ELISA así como, Western-blot y de la técnica de avidez de anticuerpos IgG1, 2. De acuerdo con las características clínicas y de laboratorio de la infección, los valores promedios de eosinofilia estuvieron alrededor del 22%, siendo significativamente mayores en aquellos que fueron ELISA positivos^{2, 33}. Es de notar que el número de casos atendidos en el tiempo ha disminuido considerablemente desde el año 2011 y 2012 hasta el año 2015. Finalmente, es de destacar los resultados, que a pesar de corresponder más del 40% de los casos a pacientes que proceden del Distrito Capital, existe una amplia variedad de procedencias de prácticamente todos los estados en el territorio nacional^{1-3, 34-41}.

Para la toxocariasis, existe actualmente un importante esfuerzo en incrementar las técnicas serológicas

para la detección de anticuerpos anti-*Toxocara canis*^{1, 3, 4, 19, 20, 22, 35, 42}, que se basen en antígenos de excreción y secreción (TES) con ELISA y Western-blot (Cuadro 1), entre otros²¹.

En este contexto existe una clara necesidad de incrementar los estudios serológicos tanto en Venezuela, como en otros países de la región donde revisiones recientes indican que existe una carencia de datos que permitan estimar con mayor precisión la seroprevalencia en humanos así como la prevalencia en suelos y en animales^{1, 3, 4, 18, 21, 22, 34, 38, 39}.

Cuadro 1.

Técnicas serológicas para la detección de anticuerpos anti-*T. canis*²¹.

Técnica	Propósito y desempeño
IgG-TES-WB	Detección específica de IgG total en suero humano, con alta especificidad y menor reacción cruzada.
IgG-TES-ELISA	Detección específica de IgG total en suero humano, con sensibilidad de 97% y especificidad de 36%
IgG1-TES-ELISA	Detección específica de subclase IgG1 en suero humano, con sensibilidad de 60% y especificidad de 76%
IgG2-TES-ELISA	Detección específica de subclase IgG2 en suero humano, con sensibilidad de 98% y especificidad de 71%
IgG3-TES-ELISA	Detección específica de subclase IgG3 en suero humano, con sensibilidad de 78% y especificidad de 81%
IgG4-TES-ELISA	Detección específica de subclase IgG4 en suero humano, con sensibilidad de 64% y especificidad de 71%
IgG4-rTES-ELISA (rTES-30USM, rTES-120)	Detección específica de subclase IgG4 en suero humano, con sensibilidad de 93% y especificidad incrementada
IgM/G-TES-ELISA (TES-58 and TES-68)	Detección específica de IgG o IgM en suero humano, con sensibilidad de 100% y especificidad de 100%
IgG-TCLA-ELISA	Detección específica de IgG total en suero humano, con sensibilidad de 92% y especificidad de 87%
IgG-dTES-ELISA	Detección específica de IgG total en suero humano, con sensibilidad de 100% y especificidad de 100%

IgG-dTES-WB	Detección específica de IgGtotal en suero humano, sin reacción cruzada con las fracciones 32 kDa, 55 kDa, y 70 kDadel dTES
Avidez de IgG	Medición del índice de avidéz IgGen suero humano, con sensibilidad de 44% y especificidad de 83%
IgG-DiM-BSA-ELISA	Detección específica de IgGtotal en suero humano, con sensibilidad de 92% y especificidad de 95%

Se requiere desarrollar consensos para el diagnóstico de la toxocariasis en humanos⁴, seguir mejorando la disponibilidad de pruebas diagnósticas y precisar en cuanto al espectro de manifestaciones clínicas^{1, 3, 19, 20}, no solamente aquellos de presentación visceral sino también de presentación ocular y finalmente continuar en el desarrollo de nuevas opciones terapéuticas para el tratamiento^{22, 35, 42}. Como se ha venido adelantando en años recientes, es importante también mencionar a la luz de estos resultados y dado al gran volumen de casos reportados en 6 años que se necesita incrementar el conocimiento por parte del personal de salud sobre esta enfermedad. Estudios recientes han reportado que menos de la mitad de los especialistas conocen correctamente cómo hacer el diagnóstico clínico y de laboratorio de esta patología⁴³.

La toxocariasis puede considerarse una patología desatendida y como tal deben profundizarse los estudios a nivel epidemiológico, clínico, terapéutico y también preventivo. A nivel diagnóstico, particularmente la biología molecular, con el uso de la PCR⁴⁴⁻⁵⁹, para la identificación de las infecciones por *Toxocara*, son una clara necesidad en Venezuela y otros países de la región.

REFERENCIAS

1. DELGADO O, ROSAS-BUSTAMANTE J, ORTEGOZA J, DUARTE E, CORASPE V, RIVAS M, SILVA S, RODRIGUEZ-MORALES AJ. Acute cases of toxocariasis classified by IGG antibodies avidity in Venezuela. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* 2011;41:611-4.
2. MARTINEZ M, GARCIA H, FIGUERA L, GONZALEZ V, LAMAS F, LOPEZ K, MIJARES V, CORRALES Y, LARES M, FERRER E. Seroprevalence and risk factors of toxoca-

- riasis in preschool children in Aragua state, Venezuela. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2015;109:579-88.
3. DELGADO O, RODRIGUEZ-MORALES AJ. Aspectos clínico-epidemiológicos de la toxocariasis: una enfermedad desatendida en Venezuela y América Latina. *Bol Malarial Salud Ambient* 2009;49:1-33.
 4. RODRIGUEZ-MORALES AJ, ECHEVERRI-CATANO LF, DELGADO O. Need for a consensus in the diagnosis of human toxocariasis: implications for the Latin American public health. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública* 2011;28:161-2.
 5. FILLAUX J, SANTILLAN G, MAGNAVAL JF, JENSEN O, LARRIEU E, SOBRINO-BECARIA CD. Epidemiology of toxocariasis in a steppe environment: the Patagonia study. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 2007;76:1144-7.
 6. GILLESPIE SH. The epidemiology of *Toxocara canis*. *Parasitology today* 1988;4:180-2.
 7. HALSBY K, SENYONJO L, GUPTA S, LADBURY G, SUVARI M, CHIODINI P, MORGAN D. Epidemiology of Toxocariasis in England and Wales. *Zoonoses and public health* 2016;63:529-33.
 8. O'LORCAIN P. Epidemiology of *Toxocara* spp. in stray dogs and cats in Dublin, Ireland. *Journal of helminthology* 1994;68:331-6.
 9. OVERGAAUW PA. Aspects of *Toxocara* epidemiology: human toxocarosis. *Critical reviews in microbiology* 1997;23:215-31.
 10. OVERGAAUW PA. Aspects of *Toxocara* epidemiology: toxocarosis in dogs and cats. *Critical reviews in microbiology* 1997;23:233-51.
 11. TAYLOR MR. The epidemiology of ocular toxocariasis. *Journal of helminthology* 2001;75:109-18.
 12. CELLA W, FERREIRA E, TORIGOE AM, MACCHIAVERNI-FILHO N, BALARIN V. Ultrasound biomicroscopy findings in peripheral vitreoretinal toxocariasis. *European journal of ophthalmology* 2004;14:132-6.
 13. CLARKE HM, HINDE FR, MANNS RA. Case report: hepatic ultrasound findings in a case of toxocariasis. *Clinical radiology* 1992;46:135-6.
 14. GEORGIU C, EFSTATHIADES Y, DIMITRIOU N, THEOPHANOUS M, VOROS D. An unusual case of *Toxocara canis* of the ascending colon. *European journal of gastroenterology & hepatology* 2007;19:1149-53.
 15. SAKAI S, SHIDA Y, TAKAHASHI N, YABUUCHI H, SOEDA H, OKAFUJI T, HATAKENAKA M, HONDA H. Pulmonary lesions associated with visceral larva migrans due to *Ascaris suum* or *Toxocara canis*: imaging of six cases. *Ajr* 2006;186:1697-702.
 16. TEMPLETON PA, RAO KC. Computed tomography of *Toxocara canis* endophthalmitis. *The Journal of computed tomography* 1987;11:99-101.
 17. WAN WL, CANO MR, PINCE KJ, GREEN RL. Echographic characteristics of ocular toxocariasis. *Ophthalmology* 1991;98:28-32.
 18. ZYOUD SEH. Global toxocariasis research trends from 1932 to 2015: a bibliometric analysis. *Health Research Policy and Systems* 2017;15:14.
 19. MARTINEZ-PULGARIN DF, MUNOZ-URBANOM, GOMEZ-SUTA LD, DELGADO OM, RODRIGUEZ-MORALES AJ. Ocular toxocariasis: new diagnostic and therapeutic perspectives. *Recent patents on anti-infective drug discovery* 2015;10:35-41.
 20. BOLÍVAR-MEJÍA A, RODRÍGUEZ-MORALES AJ, PANIZ-MONDOLFI AE, DELGADO O. [Cardiovascular manifestations of human toxocariasis]. *Archivos de cardiología de México* 2013;83:120-9.
 21. MA G, HOLLAND CV, WANG T, HOFMANN A, FAN CK, MAIZELS RM, HOTEZ PJ, GASSER RB. Human toxocariasis. *The Lancet Infectious diseases* 2017.
 22. BOLÍVAR-MEJÍA A, ALARCÓN-OLAVE C, CALVO-BETANCOURT LS, PANIZ-MONDOLFI A, DELGADO O, RODRÍGUEZ-MORALES AJ. Toxocariasis in the Americas: Burden and Disease Control. *Current Tropical Medicine Reports* 2014;1:62-8.
 23. FISHER M. *Toxocara cati*: an underestimated zoonotic agent. *Trends Parasitol* 2003;19.
 24. SCHANTZ PM. *Toxocara larva migrans* now. *Am J Trop Med Hyg* 1989;41.
 25. NICOLETTI A. Toxocariasis. In: García HH, Tanowitz HB, Brutto OH, editors. *Neuroparasitology and Tropical Neurology*; 2013.
 26. LEE RM, MOORE LB, BOTTAZZI ME, HOTEZ PJ. Toxocariasis in North America: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis* 2014;8.
 27. HOLLAND CV. Knowledge gaps in the epidemiology of *Toxocara*: the enigma remains. *Parasitology* 2017;144.
 28. SHIELDS JA. Ocular toxocariasis. A review. *Surv Ophthalmol* 1984;28.
 29. MAGNAVAL JF, FABRE R, MAURIERES P, CHARLET JP, LARRARD B. Application of the western blotting procedure for the immunodiagnosis of human toxocariasis. *Parasitol Res* 1991;77.
 30. RUBINSKY-ELEFANT G, HIRATA CE, YAMAMOTO JH, FERREIRA MU. Human toxocariasis: diagnosis, worldwide seroprevalences and clinical expression of the systemic and ocular forms. *Ann Trop Med Parasitol* 2010;104.
 31. JACQUIER P, GOTTSTEIN B, STINGELIN Y, ECKERT J. Immunodiagnosis of toxocarosis in humans: evaluation of a new enzyme-linked immunosorbent assay kit. *J Clin Microbiol* 1991;29.
 32. SAVIGNY DH, VOLLER A, WOODRUFF AW. Toxocariasis: serological diagnosis by enzyme immunoassay. *J Clin Pathol* 1979;32.
 33. BEAVER PC, SNYDER CH, CARRERA GM, DENT JH, LAFERTY JW. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans; report of three cases. *Pediatrics* 1952;9.
 34. LYNCH NR, HAGEL I, VARGAS V, ROTUNDO A, VARELA MC, DI PRISCO MC, HODGEN AN. Comparable seropositivity for ascariasis and toxocariasis in tropical slum children. *Parasitology research* 1993;79:547-50.
 35. DELGADO O, BOTTO C, MATTEI R, ESCALANTE A. Effect of albendazole in experimental toxocariasis of mice. *Annals of tropical medicine and parasitology* 1989;83:621-4.

36. GARCÍA-PEDRIQUE ME, DÍAZ-SUÁREZ O, ESTEVEZ J, CHENG-NG R, ARAUJO-FERNÁNDEZ M, CASTELLANO J, ARAUJO J, CABRERA L. [Prevalence of infection by *Toxocara* in schoolchildren in the community of El Mojan, Zulia state, Venezuela]. *Investigación clínica* 2004;45:347-54.
37. ARAUJO Z, BRANDES S, PINELLI E, BOCHICHIO MA, PALACIOS A, WIDE A, RIVAS-SANTIAGO B, JIMÉNEZ JC. Seropositivity for ascariasis and toxocarosis and cytokine expression among the indigenous people in the Venezuelan Delta region. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 2015;57:47-55.
38. LYNCH NR, EDDY K, HODGEN AN, LÓPEZ RI, TURNER KJ. Seroprevalence of *Toxocara canis* infection in tropical Venezuela. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1988;82:275-81.
39. LYNCH NR, WILKES LK, HODGEN AN, TURNER KJ. Specificity of *Toxocara* ELISA in tropical populations. *Parasite immunology* 1988;10:323-37.
40. GIULIARI GP, RAMÍREZ G, CÓRTEZ RT. Surgical treatment of ocular toxocarosis: anatomic and functional results in 45 patients. *European journal of ophthalmology* 2011;21:490-4.
41. DEVERA R, BLANCO Y, HERNÁNDEZ H, SIMOES D. [*Toxocara* spp. and other helminths in squares and parks of Ciudad Bolívar, Bolívar State (Venezuela)]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* 2008;26:23-6.
42. DELGADO OM, FERNÁNDEZ G, SILVA S, RAMÍREZ O, ROMERO J, RODRÍGUEZ-MORALES AJ. Preliminary evidence of nitazoxanide activity on *Toxocara canis* in a mouse model. *International journal of antimicrobial agents* 2008;31:182-4.
43. WOODHALL DM, GARCÍA AP, SHAPIRO CA, WRAY SL, SHANE AL, MANI CS, STIMPERT KK, FOX LM, MONTGOMERY SP. Assessment of U.S. Pediatrician Knowledge of Toxocarosis. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 2017.
44. BORECKA A, GAWOR J. Modification of gDNA extraction from soil for PCR designed for the routine examination of soil samples contaminated with *Toxocara* spp. eggs. *Journal of helminthology* 2008;82:119-22.
45. DEMELER J, RAMUNKE S, WOLKEN S, IANIELLO D, RINALDI L, GAHUTU JB, CRINGOLI G, VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G, KRUCKEN J. Discrimination of gastrointestinal nematode eggs from crude fecal egg preparations by inhibitor-resistant conventional and real-time PCR. *PloS one* 2013;8:e61285.
46. DURANT JF, IRENGE LM, FOGT-WYRWAS R, DUMONT C, DOUCET JP, MIGNON B, LOSSON B, GALA JL. Duplex quantitative real-time PCR assay for the detection and discrimination of the eggs of *Toxocara canis* and *Toxocara cati* (Nematoda, Ascaridoidea) in soil and fecal samples. *Parasites & vectors* 2012;5:288.
47. EPE C, MEUWISSEN M, STOYE M, SCHNIEDER T. Transmission trials, ITS2-PCR and RAPD-PCR show identity of *Toxocara canis* isolates from red fox and dog. *Veterinary parasitology* 1999;84:101-12.
48. JACOBS DE, ZHU X, GASSER RB, CHILTON NB. PCR-based methods for identification of potentially zoonotic ascaridoid parasites of the dog, fox and cat. *Acta tropica* 1997;68:191-200.
49. JEFFERIES R, MORGAN ER, HELM J, ROBINSON M, SHAW SE. Improved detection of canine *Angiostrongylus vasorum* infection using real-time PCR and indirect ELISA. *Parasitology research* 2011;109:1577-83.
50. KHADEMVATAN S, RAHIM F, TAVALLA M, ABDIZADEH R, HASHEMITABAR M. PCR-based molecular characterization of *Toxocara* spp. using feces of stray cats: a study from Southwest Iran. *PloS one* 2013;8:e65293.
51. KNAPP J, UMHANG G, POULLE ML, MILLON L. Development of a Real-Time PCR for a Sensitive One-Step Coprodiagnosis Allowing both the Identification of Carnivore Feces and the Detection of *Toxocara* spp. and *Echinococcus multilocularis*. *Applied and environmental microbiology* 2016;82:2950-8.
52. KRAMER F, VOLLRATH T, SCHNIEDER T, EPE C. Improved detection of endoparasite DNA in soil sample PCR by the use of anti-inhibitory substances. *Veterinary parasitology* 2002;108:217-26.
53. LI MW, LIN RQ, CHEN HH, SANI RA, SONG HQ, ZHU XQ. PCR tools for the verification of the specific identity of ascaridoid nematodes from dogs and cats. *Molecular and cellular probes* 2007;21:349-54.
54. MIKAEILI F, MATHIS A, DEPLAZES P, MIRHENDI H, BARAZESH A, EBRAHIMI S, KIA EB. Differentiation of *Toxocara canis* and *Toxocara cati* based on PCR-RFLP analyses of rDNA-ITS and mitochondrial *cox1* and *nad1* regions. *Acta parasitologica* 2017;62:549-56.
55. NAKANO S, SUGITA S, TOMARU Y, HONO A, NAKAMURO T, KUBOTA T, TAKASE H, MOCHIZUKI M, TAKAHASHI M, SHIMIZU N. Establishment of Multiplex Solid-Phase Strip PCR Test for Detection of 24 Ocular Infectious Disease Pathogens. *Investigative ophthalmology & visual science* 2017;58:1553-9.
56. NORHAIDA A, SUHARNI M, LIZA SHARMINI AT, TUDA J, RAHMAH N. rTES-30USM: cloning via assembly PCR, expression, and evaluation of usefulness in the detection of toxocarosis. *Annals of tropical medicine and parasitology* 2008;102:151-60.
57. PINELLI E, ROELFSEMA JH, BRANDES S, KORTBEEK T. Detection and identification of *Toxocara canis* DNA in bronchoalveolar lavage of infected mice using a novel real-time PCR. *Veterinary parasitology* 2013;193:337-41.
58. UMHANG G, BASTIEN M, RENAULT C, FAISSE M, CAILLOT C, BOUCHER JM, HORMAZ V, POULLE ML, BOUE F. A flotation/sieving method to detect *Echinococcus multilocularis* and *Toxocara* spp. eggs in soil by real-time PCR. *Parasite* 2017;24:28.
59. YU H, HUANG B, ZHUO X, CHEN X, DU A. Evaluation of a real-time PCR assay based on the single-copy *SAG1* gene for the detection of *Toxoplasma gondii*. *Veterinary parasitology* 2013;197:670-3.