



Universidad
Católica de
Valencia
San Vicente Mártir

TFG

TRABAJO FIN DE GRADO

**GRADO EN
VETERINARIA**

Estudio de las zoonosis parasitarias en
parques públicos de Valencia con enfoque
a *Toxocara* spp., ¿un problema para la
Salud Pública?

Alumno: Belinda Rosa Köchle
Tutor: Jose Sansano Maestre
2018/2019



Facultad de Veterinaria
y Ciencias Experimentales
Universidad Católica de Valencia
San Vicente Mártir

ANEXO I

CENTRO	Facultad de Veterinaria y Ciencias Experimentales
TITULACIÓN	Grado en Veterinaria
TÍTULO DEL TRABAJO FIN DE GRADO	Estudio de las zoonosis parasitarias en los parques públicos de Valencia con enfoque a <i>Toxocara</i> spp., ¿un problema para la Salud Pública?
ALUMNO (Apellidos y Nombre)	Belinda Rosa Köchle

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR

D. José Sansano Maestre, profesor del
 Departamento de Producción Animal y Salud Pública, de la
 Facultad de Veterinaria y Ciencias Experimentales del campus de Santa Úrsula,
 AUTORIZA a Dña. BELINDA ROSA KÖCHLE, a presentar la
 propuesta de TRABAJO FIN DE GRADO, que será defendida en castellano_ (indicar idioma).

Valencia , 08 de julio de 2019.

EL DIRECTOR

Fdo.: D. José Sansano Maestre.

SR. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE EVALUACIÓN

Agradecimientos

Con el presente Trabajo Fin de Grado, al fin ha llegado el día de poder dar gracias a todas aquellas personas que a su manera han hecho posible estudiar y estar a un paso de acabar la carrera de medicina veterinaria, que con tanta ilusión he empezado desde el primer día.

Mis primeras palabras de agradecimiento van a mi tutor, el Dr. Jose Sansano Masetre, que a pesar de su ajetreada agenda me ha aceptado como alumna para poder llevar a cabo este Trabajo Fin de Grado. Después de éste intenso periodo de aprendizaje y horas en el laboratorio, quiero agradecerle por haberme guiado en este estudio, por sus consejos y palabras de ánimo y sobre todo por haber confiado en mi.

En segundo lugar, pero por ello no menos importante, agradecerles a mis padres y decirles que sin su apoyo y cariño, todo esto no había sido posible. En especial quiero dar gracias a mi madre, que me ha enseñado que, con esfuerzo y dedicación, los sueños se consiguen si se persiguen, aunque esto signifique acabar incluso en otro país.

Quiero agradecerles también a todos los profesores que he tenido durante la carrera en la Universidad Católica de Valencia, por haberme enseñado las bases de cómo ser una buena veterinaria el día de mañana.

Este apartado de agradecimientos no puede acabar sin mencionar a mi perro, Milo, que me ha acompañado a todos y a cada unos de los parques para coger las muestras necesarias.

¡Gracias a todos!

Índice

Resumen.....	1
1. Introducción	2
1.1. Ciclo biológico.....	6
1.2. Signos clínicos en animales.....	8
1.3. Toxocariasis humana o síndrome de <i>larva migrans</i>	9
1.4. Signos clínicos en humanos	10
1.5. Estudios de prevalencia de <i>Toxocara</i> spp. a nivel mundial.....	13
1.6. Estudios de prevalencia de <i>Toxocara</i> spp. y otros geohelminfos llevados a cabo en diferentes ciudades en España	13
2. Objetivos	16
3. Materiales y métodos	16
3.1 Área de estudio	16
3.2 Recogida de muestras	18
3.3 Análisis fecal.....	18
3.4 Análisis del suelo.....	20
3.5 Análisis estadístico.....	21
4. Resultados	22
5. Discusión	25
6. Conclusiones	30
7. Bibliografía y webgrafía	31
8. Anexo I.....	35

Índice de figuras

Figura 1. Área de socialización canina sucia.....	3
Figura 2. Animales registrados en la Comunidad Valenciana durante el periodo 2010-2015.....	4
Figura 3. Tendencia positiva en el número de perros registrados en los últimos años.....	5
Figura 4. Adultos de <i>Toxocara canis</i>	5
Figura 5. Huevo de <i>Toxocara canis</i>	6
Figura 6. Ciclo biológico de <i>Toxocara canis</i>	8
Figura 7. Abdomen péndulo en un cachorro de menos de tres meses de edad	9
Figura 8. Vermes adultos de <i>Toxocara canis</i> en heces.....	9
Figura 9. Paso de <i>Toxocara</i> spp. por el organismo del ser humano.....	11
Figura 10. LMV: TAC mostrando nódulos multifocales no cavitarios.....	12
Figura 11. LMO: Flecha mostrando larva en el ojo de un paciente.....	12
Figura 12. Prevalencia de contaminación del suelo con huevos de <i>Toxocara</i> spp. a nivel mundial.....	13
Figura 13. Geohelmintosis en suelo de los diversos estudios en España	15
Figura 14. Geohelmintosis en heces de los diversos estudios en España.....	15
Figura 15. Mapa de Valencia donde se marcan las zonas de recogida de muestra.....	17
Figura 16. Centrífuga Nahita utilizada en este estudio.....	19
Figura 17. Muestra obtenida una vez centrifugada. Obsérvese las cuatro fases bien delimitadas.....	19
Figura 18. Tamiz (CISA) con mallas de diferente diámetro de poro utilizado para filtrar la tierra.....	21

Figura 19. Técnica de flotación.....	21
Figura 20. Mapa de Valencia donde se marca la distribución de las zonas positivas (círculo rojo) y negativas (círculo verde) a <i>Toxocara</i> spp. Nota: el número dentro de cada círculo se corresponde al código de referencia del parque	24
Figura 21. Huevos de <i>Toxocara</i> spp. encontrados en las muestras de tierra.....	25
Figura 22. Medición de un huevo de <i>Toxocara</i> spp. obtenido de tierra en la zona de socialización del tramo VI del Turia.....	25
Figura 23. Zona de juegos infantiles en calle Afahuir con el cartel de prohibición de entrada para perros, cercado completo y suelo de caucho.....	27
Figura 24. Pipican para perros con gran contaminación fecal.....	28
Figura 25. Jardines del Real (Viveros). Zona de socialización para perros, donde a la entrada se puede ver el cartel explicativo, bolsas, escoba y recogedor	29
Figura 26. Esporas de hongos micorrízicos aisladas de las muestras de tierra. Nótese el tubo de germinación en aquellas que han empezado a ramificarse	35
Figura 27. Diferentes tipos de granos de polen.....	35
Figura 28. Larvas de vida libre.....	36
Figura 29. Ácaros del suelo.....	37
Figura 30. Huevos de ácaros de suelo.....	38
Figura 31. Huevo de ácaro de suelo con medida	38

Índice de tablas

Tabla 1. Parques muestreados con sus respectivas zonas sanitarias caninas, zonas de socialización y zonas infantiles17

Tabla 2. Contaminación de la tierra y de las heces con huevos de *Toxocara* spp. en los parques públicos de Valencia.....23

Tabla 3. Tierra contaminada con *Toxocara* spp. por zonas y parques afectados23

Tabla 4. Presencia de huevos de ácaro en muestras de tierra de los parques públicos de Valencia.....39

RESUMEN

La toxocarosis es una enfermedad parasitaria zoonótica que se transmite de animales de compañía al ser humano. El agente etiológico principal es *Toxocara canis*, siendo el suelo contaminado con huevos embrionados y la geofagia la mayor fuente de infección para humanos. El presente Trabajo Fin de Grado estudió la contaminación ambiental por huevos de *Toxocara* spp. en tierra y muestras fecales obtenidos de diversos parques públicos de la ciudad de Valencia, España. Se obtuvieron un total de 64 muestras de tierra y 44 muestras fecales de 14 parques públicos, durante un periodo desde noviembre 2018 hasta junio 2019. Las muestras de tierra fueron analizadas con una técnica de tamizado combinado con sedimentación, centrifugación y flotación mientras que las heces se analizaron con el método Telemann modificado. La contaminación total de los parques públicos que entraron en el estudio era del 35,7% (5/14). Todos los resultados positivos se obtuvieron de muestras de tierra, con una prevalencia total del 10,9% (7/64), mientras que los análisis coprológicos eran negativos (0/44). Se concluye que existe contaminación ambiental con huevos de *Toxocara* spp. en los parques públicos de Valencia y que el suelo contaminado es la principal fuente de infección para contraer geohelminths.

Palabras clave: *Toxocara*, prevalencia, contaminación ambiental, zoonosis, salud pública, España

ABSTRACT

Toxocariasis is a zoonotic parasitic disease transmitted from companion animals to humans. The major agent who causes the disease is *Toxocara canis*, being the main source of infection the ingestion of embryonated eggs from contaminated soil by geophagia. The present Final Degree Project studies the environmental contamination with *Toxocara* spp. eggs in soil and fecal samples collected from different public parks in the city of Valencia, Spain. A total of 64 soil samples and 44 fecal samples were collected from 14 public parks, during a period ranging from November 2018 to June 2019. Soil samples were analyzed with a sieving technique combined with sedimentation, centrifugation and flotation while fecal samples were analyzed with the modified Telemann technique. Overall, 35,7% (5/14) of the public parks were contaminated with *Toxocara* spp. eggs. All the positive results were obtained from soil samples, with a total prevalence of 10,9% (7/64), while fecal samples remained negative (0/44). In conclusion, it exists environmental contamination with *Toxocara* spp. eggs in public parks of Valencia and the major source of getting geohelminths is contaminated soil.

Key words: *Toxocara*, prevalence, environmental contamination, zoonosis, public health, Spain.

1. INTRODUCCIÓN

Teniendo en cuenta que de cada diez casos de enfermedades infecciosas en humanos, seis son de origen animal ⁽⁹⁾ y que la mayoría (60,3%) de las enfermedades emergentes a nivel mundial son zoonosis, se trata de un campo a investigar muy importante de cara a conservar la salud de las personas. El término zoonosis viene del griego, donde “zoon” significa animal y “noses” se refiere al estado de enfermedad. Según la organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) abarca “aquellas enfermedades e infecciones que se transmiten de forma natural entre animales vertebrados y el hombre y viceversa”. También existen otros términos como “zooantroponosis” o “zoonosis reversa” (del hombre a otros vertebrados) y “antropozoonosis” (del animal al hombre) ⁽²³⁾. Los animales domésticos, especialmente el perro, tienen una estrecha relación con el ser humano y juegan un papel fundamental en el mantenimiento y la transmisión de enfermedades parasitarias. A nivel mundial, se conocen 40 enfermedades infecciosas que los perros pueden transmitir al ser humano. Concretamente, se han reportado 19 géneros de parásitos entéricos de perros, de los cuales el 73% pueden ser transmitidos al hombre ⁽²²⁾. La principal vía de transmisión de los enteroparásitos con potencial zoonótico es la ruta fecal-oral por ingestión de huevos infectantes del medio (saprozoonosis). También existe la vía oral por ingestión de alimentos contaminados o la penetración transcutánea por larvas que se pueden hallar en tierras húmedas y climas cálidos ⁽²⁶⁾.

De los casi 1500 agentes infecciosos conocidos para los humanos, 287 (19,1%) son del grupo de los helmintos ⁽³³⁾. Dentro de las helmintozoonosis parasitarias caninas en general se incluyen los siguientes agentes ⁽⁶⁾:

- Nematodos
 - Toxocarosis (*Toxocara canis*) → larva migratoria visceral
 - Anquilostomosis (*Ancylostoma* spp., *Uncinaria stenocephala*) → larva migratoria cutánea
 - Estrongiloidosis (*Strongyloides stercoralis*, *Strongyloides fülleborni*)
- Cestodos
 - Equinococosis (*Equinococcus* spp.)
 - Cenurosis y cisticercosis (*Taenia* spp.)
 - Dipilidiosis (*Dipylidium caninum*)

La infección por geohelminthos es una de las parasitosis más prevalentes en el mundo, afectando a más de 2 billones de personas ⁽³⁵⁾. De la clasificación general anterior, se consideran geohelminthos zoonóticos *Toxocara* spp., *Ancylostoma* spp., *Strongyloides* spp., *Equinococcus* spp., y *Taenia* spp ⁽⁶⁾. El ciclo biológico de los geohelminthos normalmente está bien adaptado a una determinada especie, sin embargo, algunos parásitos han logrado cerrarlo en más de una especie para aumentar su posibilidad de éxito, apareciendo así los hospedadores accidentales y los hospedadores paraténicos, incluyendo al hombre. Especialmente niños suelen verse afectados al jugar en parques públicos donde el suelo puede estar contaminado con huevos infectantes. Un factor de riesgo que aumenta la posibilidad de infección es que el 10% de los niños suelen tener deficiencia de hierro o zinc y desordenes comportamentales, lo que resulta en pica geofágica ⁽³⁵⁾. Aunque las personas están cada vez mas concienciadas sobre la importancia de una desparasitación regular de sus mascotas debido a la orden 3/2016, por el que se regulan los tratamientos sanitarios obligatorios para animales de compañía en la Comunidad Valenciana, se deben contemplar también otras medidas preventivas básicas, como es el mantenimiento de la higiene de los parques públicos. A muchos propietarios, por simple comodidad, no les resulta necesario retirar las heces de sus mascotas del suelo (Figura 1).



Figura 1. Área de socialización canina sucia (Elaboración propia).

Pero, ¿qué tan grande es la probabilidad de que un animal pueda transmitir alguna enfermedad parasitaria por contaminación ambiental a través de sus heces? Aparte de los factores mencionados anteriormente, como la correcta desparasitación y la conducta del

propietario respecto a la retirada de los excrementos de su mascota, también dependerá del censo de perros que exista. En España el último informe sobre el censo de animales domésticos registrados entre los años 2010 a 2015 a nivel nacional fue realizado por el MAPAMA (Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente) y cuyos resultados abarcan 7.438.689 perros registrados. De estos datos quedan excluidas seis comunidades autónomas, Ceuta y Melilla, ya que el registro de animales domésticos es una actividad autonómica, donde cada comunidad autónoma posee diferentes criterios de recopilación de datos, lo que hace casi imposible elaborar un censo nacional común. En la Comunidad Valenciana se registraron en ese mismo periodo un total de 1.013.235 de perros por parte del RIVIA (Registro informático Valenciano de Identificación de Animales) (Figura 2) y existe una tendencia positiva en el censo canino (Figura 3) ⁽³⁾. También hay que tener en cuenta el número de perros callejeros que no se contemplan en el anterior registro. Estudios indican que en España se abandonan alrededor de unos 275 perros al día (100 000 al año) ⁽¹⁵⁾. Según la ONG ESDAW (European Society of Dog and Animal Welfare), se estima una cifra de 800.000 perros callejeros en España, ocupando el quinto lugar en el ranking entre los países europeos (después de Rusia, Turquía, Rumanía y Ucrania) ⁽²⁸⁾.

COMUNIDAD VALENCIANA

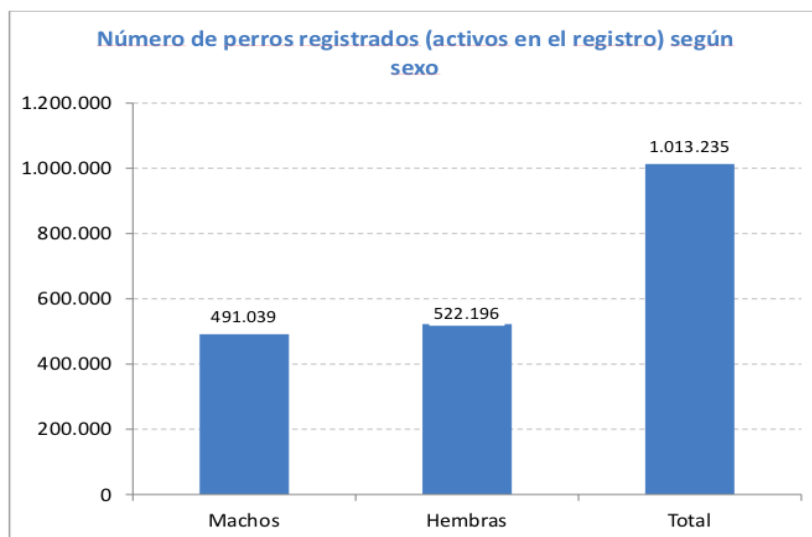


Figura 2. Animales registrados en la Comunidad Valenciana durante el periodo 2010- 2015 (<http://mapama.gob.es>, 2015).

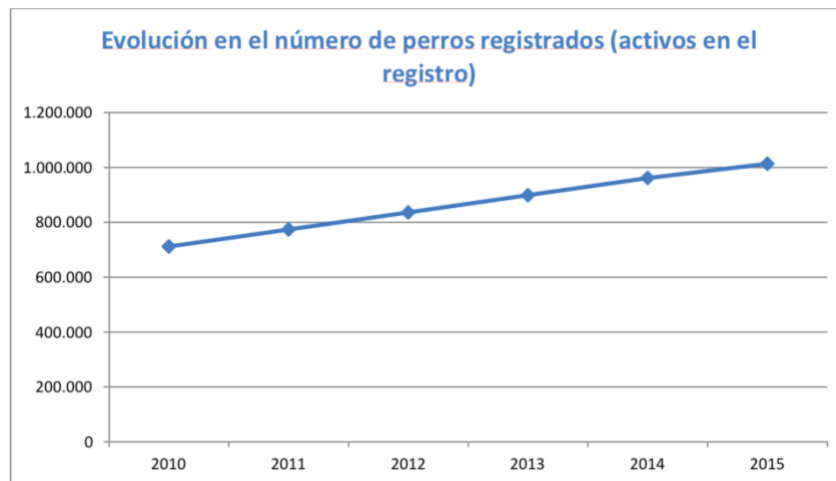


Figura 3. Tendencia positiva en el número de perros registrados en los últimos años (<http://mapama.gob.es>, 2015).

Dentro de las geohelminosis, las parasitosis causadas por helmintos de la familia Ascarididae y, concretamente, las especies del género *Toxocara* spp. (*T. canis* y *T. cati*) son las más frecuentes. Se trata de nematodos blancos y gruesos, dotados con una boca con tres labios y una longitud que puede llegar hasta 10 cm para los machos y 18 cm para las hembras ⁽²⁹⁾ (Figura 4).

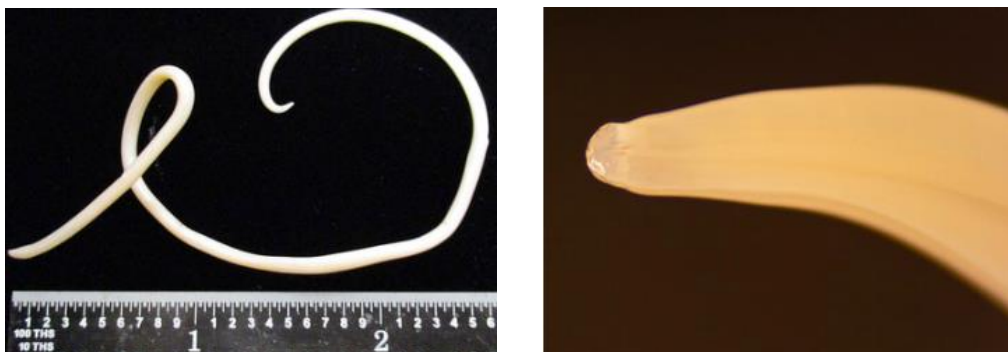


Figura 4. Adultos de *Toxocara canis* (<https://www.veterinaryparasitology.com>, 2018).

Los huevos son eliminados sin embrionar, poseen una morfología de esférica a ovoide y presentan un contenido de color marrón oscuro y un diámetro entre 75-90 μm . Constan de una capa gruesa, formada por cuatro capas concéntricas, siendo la más externa rugosa (Figura 5). En las primeras etapas, el citoplasma ocupa casi la totalidad del interior del huevo y a medida que se va desarrollando, el contenido se va condensando, formando un espacio claro entre la capa interior de la cubierta y el citoplasma embrionario. Los huevos de *Toxocara* spp. se caracterizan por tener una elevada resistencia ambiental, dada principalmente por su cubierta gruesa ⁽¹⁾. Pueden sobrevivir durante años en el medio ambiente ^(1, 14, 25), en suelos sombreados, húmedos y a temperaturas frescas ⁽²⁵⁾. Se ha descrito una supervivencia en temperaturas de 1 a -2°C

durante 6 semanas, pudiendo desarrollar el estado larvario infectante al incrementar de nuevo la temperatura. También se ha visto que se vuelven infectantes con temperaturas de hasta 35°C, pero superior a 37°C, en condiciones áridas y con exposición solar directa, se destruyen ^(5, 25). El ratio de supervivencia es máximo y el desarrollo óptimo con una temperatura media de 25°C ⁽⁵⁾.

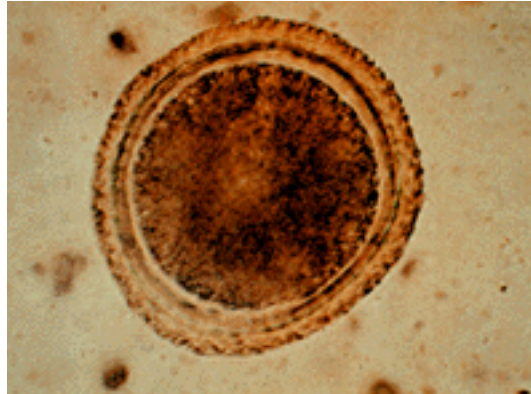


Figura 5. Huevo de *Toxocara canis* (<https://www.stanford.edu>,2005).

1.1. CICLO BIOLÓGICO

T. canis tiene uno de los ciclos de vida más sorprendentes del reino animal (Figura 6). Se caracteriza por presentar varias rutas de transmisión en el perro, donde se describen la transmisión oral directa por ingestión de huevos embrionados con L3 del medio, la indirecta por ingestión de hospedadores paraténicos (lombrices, conejos, ratones, pájaros) con estas mismas larvas enquistadas en sus tejidos y, también por vía transplacentaria y la transmamaria ^(5, 24, 37). Ardillas, liebres y otros mamíferos pequeños y medianos pueden jugar un papel fundamental en la dispersión de huevos de *Toxocara* spp en el ambiente. Las aves también pueden ser responsables de transportar huevos de un sitio a otro y a largas distancias al llevarlos en sus patas y alas ⁽¹¹⁾. El periodo de prepatencia de *T. canis* es de tres semanas después de la infección prenatal, 27- 35 días tras la infección transmamaria y 32 a 39 días tras la ingestión de huevos embrionados del ambiente ⁽¹³⁾. Los patrones del ciclo de vida varían entre cachorros menores de cinco semanas y perros adultos. Debido a que el sistema inmune de estos últimos ya se encuentra desarrollado, las células de defensa son capaces de inmovilizar a las larvas que van migrando por el sistema circulatorio formando granulomas en los tejidos y quedando así en estado latente. En cachorros, donde el sistema inmune aún no se encuentra desarrollado del todo, las larvas van migrando en diversos órganos como son el hígado y el pulmón. Cuando se eliminan los huevos de *T. canis* con las heces, no son inmediatamente infectantes. Tienen que embrionar primero hacia L3, lo que puede tardar entre dos a tres semanas dependiendo del medio ambiente ⁽⁶⁾. En condiciones ambientales desfavorables, pueden tardar incluso meses ⁽⁵⁾. Cuando se ingieren, las larvas eclosionan en el intestino delgado e atraviesan

la mucosa intestinal llegando a circulación sistémica. Existe controversia sobre si estas son larvas de segunda o tercera etapa ⁽¹¹⁾. En publicaciones más recientes, se habla que la fase infectante es la L3 dentro del huevo ^(5, 39, 37), de manera que es la L3 que eclosiona e atraviesa la pared intestinal. Existen dos rutas migratorias distintas, la traqueal y la somática, dependiendo de la edad del animal. En perros más jóvenes (menos de cinco semanas de edad), las larvas de tercer estadio que atraviesan la pared intestinal, llegan vía circulación sistémica hacia el hígado y los pulmones. Dentro de los pulmones las larvas abandonan los vasos sanguíneos y penetran los alveolos, donde ocurre la muda a larvas L4, que van ascendiendo los bronquiolos hasta llegar a la tráquea ⁽³⁹⁾. Posteriormente son deglutidas y terminan en el intestino otra vez, donde maduran hacia adultos ⁽³⁴⁾. Machos y hembras copulan, pudiendo producir una hembra adulta hasta 200 000 huevos al día ^(6, 5). Los huevos son eliminados con las heces y se inicia un nuevo ciclo.

En perros mayores es más común encontrar la migración somática, donde las larvas L3 que atraviesan el intestino y llegan a circulación sistémica, se distribuyen por los diferentes tejidos formando granulomas. Aquí quedan en estado latente y no completan su ciclo de vida salvo la llegada de determinadas condiciones ambientales. Cuando las perras se quedan gestantes, las larvas se pueden reactivar otra vez debido a los cambios hormonales que se producen ⁽³⁹⁾. Esto ocurre fundamentalmente alrededor del día 40 de la gestación. La larva L3 llega vía transplacentaria al 100% de los fetos, migrando hacia el hígado, riñones, musculatura, pulmón y cerebro ⁽⁶⁾. Entre la segunda y quinta semana después de nacer, se forman los vermes adultos en el intestino, pudiendo aparecer los primeros huevos a partir de la tercera semana de vida. Dado que se moviliza solo una pequeña parte de las larvas hipobióticas, quedan larvas que se pueden transmitir a las camadas siguientes.

Las larvas reactivadas también se pueden excretar por el calostro y la leche hasta 38 días después del parto ⁽³⁵⁾. En este caso no se produce migración por los órganos y los vermes adultos se forman directamente en el intestino ^(6, 39). La mayoría de las infecciones (58%) se producen en perros de hasta tres meses de edad ⁽¹⁹⁾.

El ciclo biológico de *Toxocara cati* es muy similar, salvo que no existe la transmisión transplacentaria y el periodo de prepatencia de seis semanas es un poco más largo ⁽¹³⁾.

Toxocariasis

(*Toxocara canis*, *Toxocara cati*)

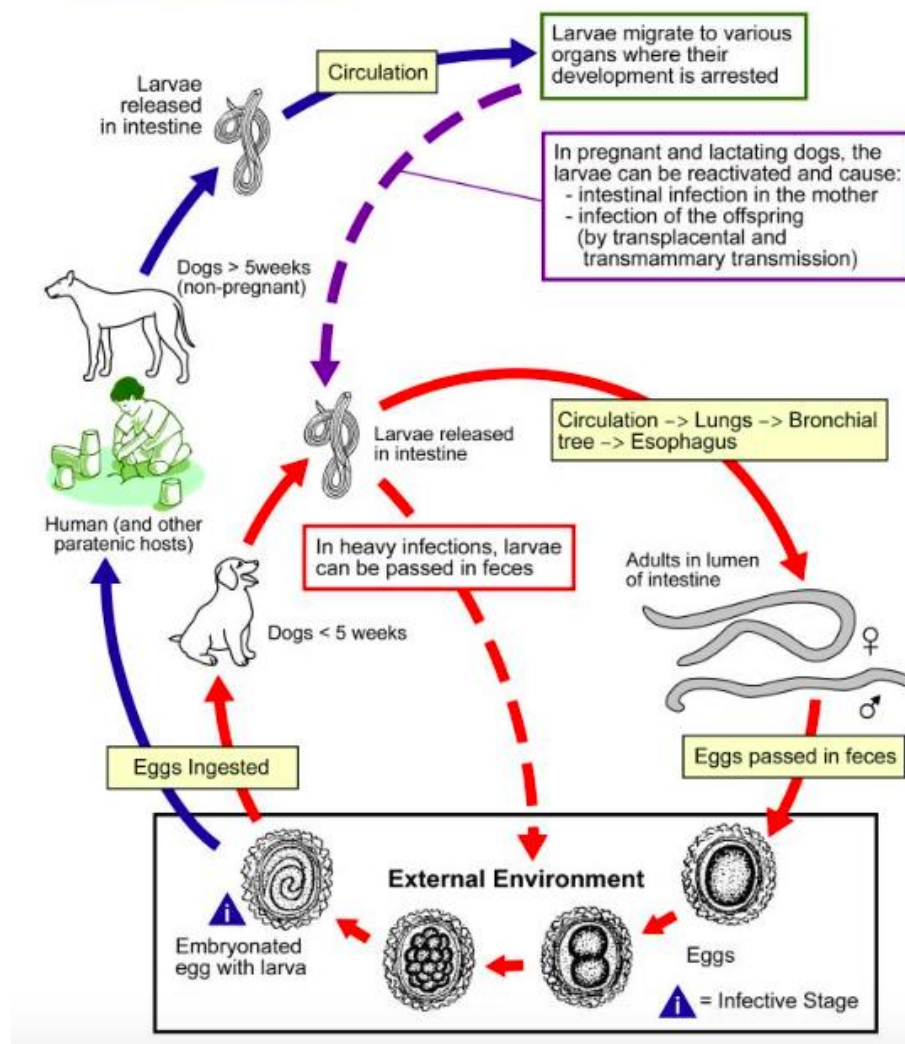


Figura 6. Ciclo biológico de *Toxocara canis* (<https://www.cdc.gov>).

1.2. SIGNOS CLÍNICOS EN ANIMALES

Los signos clínicos van a depender por un lado de la carga parasitaria, de las migraciones que produce el parásito en el interior del organismo y por el otro lado de la edad, estado de salud y sistema inmune del animal. Infecciones leves no suelen estar acompañados por signos clínicos durante la migración larvaria. Si la carga es moderada- alta, al migrar por los pulmones se pueden encontrar signos clínicos como tos, descarga nasal, neumonía y edema pulmonar. La muerte suele ocurrir especialmente en cachorros infectados por vía transplacentaria tras pocos días de haber nacido. Los vermes adultos en cachorros de 2 – 3 semanas pueden provocar una enteritis mucoide, diarrea, vómitos, ascitis, anemia y anorexia con las consiguiente emaciación y abdomen péndulo ⁽²⁷⁾ (Figura 7). En circunstancias severas hay una obstrucción parcial o total del intestino. En estos casos, los vermes adultos se pueden apreciar fácilmente a simple vista en las heces (Figura 8). A menudo se acompaña de vómitos con larvas vivas. También se han

reportado casos de penetración de los vermes hacia cavidad peritoneal, causando peritonitis y hemorragia interna severa ⁽³⁵⁾.



Figura 7. Abdomen péndulo en un cachorro de menos de tres meses de edad (Ahaduzzman MD *et al.*, 2014).



Figura 8. Vermes adultos de *Toxocara canis* en heces (Traversa D, 2012).

1.3. TOXOCARIASIS HUMANA O SÍNDROME DE LARVA MIGRANS

Los hombres pueden actuar como hospedadores accidentales dentro del ciclo biológico de *Toxocara spp.*, denominándose la enfermedad toxocariasis. Fue descrita por primera vez por Wilder en 1950, que aisló una larva de especie desconocida en un granuloma retiniano de un niño ⁽¹¹⁾. Hoy en día, es una zoonosis que se ha incluido por el CDC (Centers of Disease Control and Prevention) dentro del grupo de las cinco infecciones parasitarias desatendidas a nivel

mundial, debido a que se le ha prestado relativamente poca atención a su vigilancia, prevención y/o tratamiento, a pesar al gran número de personas que afecta y la severidad que pueden tener los síntomas. El agente principal es *T. canis* y en menor medida también *T. cati*. La mayor vía de transmisión es la geofagia por ingestión de huevos infectantes del medio ambiente. Con menor frecuencia también se puede producir vía alimentaria por larvas presentes en vegetales ⁽¹⁶⁾ o por ingestión de carne de hospedadores paraténicos ^(35, 34). Los niños son el principal grupo de riesgo al jugar en tierra contaminada o cuando tienen contacto corporal estrecho con perros que llevan adheridos a su pelaje huevos embrionados. En un estudio realizado sobre esta vía de infección, se ha demostrado que el 25% de las muestras de pelo de perros con toxocarosis tienen *T. canis*, con un promedio de 3,3 huevos por gramo de pelo ⁽³⁸⁾. Sin embargo, esta vía de contagio no debe ser considerada importante, ya que los huevos se adhieren muy fuerte al pelo, lo que hace la ingestión bastante difícil ⁽³⁵⁾. Otra posible fuente de infección es la transferencia de los huevos a través de las patas de los perros después de pasear por los parques ⁽²⁴⁾.

1.4. SIGNOS CLÍNICOS EN HUMANOS

La mayoría de las veces la infección en el humano cursa de manera asintomática, presentándose únicamente eosinofilia y serología positiva a inmunoensayos enzimáticos como ELISA ⁽³⁴⁾. Después de la ingestión de huevos infectantes, las larvas L3 eclosionan en el intestino, atraviesan los enterocitos y llegan al torrente sanguíneo. El tiempo de incubación puede durar semanas o incluso meses. Se afectan una variedad de tejidos como el sistema nervioso central, hígado y ojos, provocando unos síndromes en base a donde se encuentran las larvas (Figura 9) ⁽¹¹⁾. Se produce una reacción inflamatoria local en los diversos órganos, que es característico de la toxocariasis ⁽³⁴⁾.

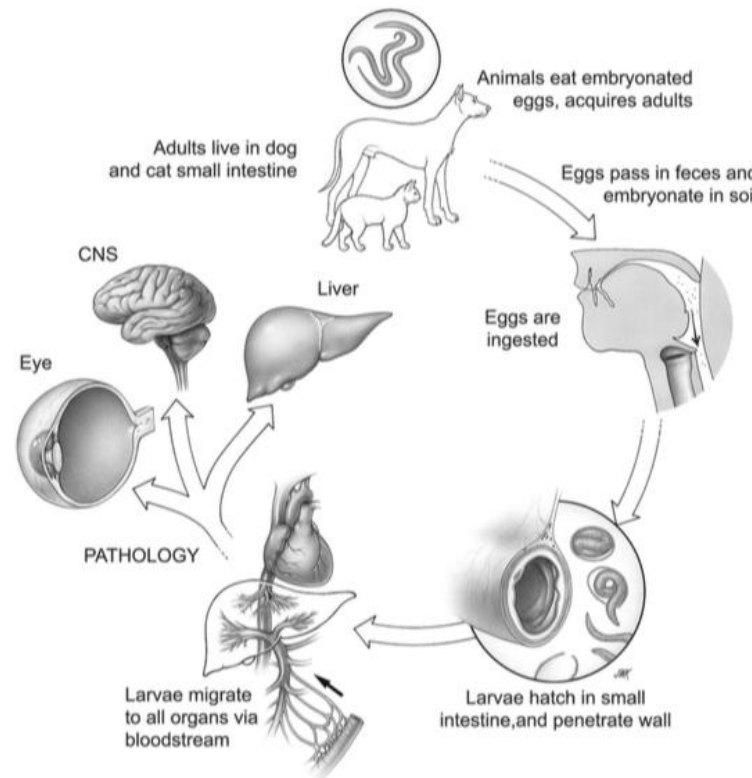


Figura 9. Paso de *Toxocara* spp por el organismo del ser humano (Despommier D, 2003).

Existen dos tipos de manifestaciones clínicas “clásicas” bien descritas, el síndrome de larva migrans visceral (LMV) (Figura 10) y síndrome de larva migrans ocular (LMO) (Figura 11) ^(34, 27). LMV se describe fundamentalmente en niños que están en edad preescolar (1 – 3 años), mientras que LMO suele verse en niños de mayor edad (5 – 10 años) ⁽²⁷⁾. En el síndrome visceral, la larva L3 invade varios tejidos como hígado, corazón, pulmones, cerebro y músculo ⁽³⁴⁾, pudiendo quedar viable hasta siete años después de la ingestión ⁽⁵⁾. Causa múltiples síntomas como fiebre, anorexia, pérdida de peso, tos por bronquitis y neumonía, urticaria, hepatoesplenomegalia, hepatitis granulomatosa con incluso necrosis y síntomas neurológicos debido a la enquistación de una larva en el cerebro provocando meningoencefalitis con ataques epilépticos generalizados. En ocasiones raras el paciente muere por afección pulmonar ⁽³⁴⁾. LMO es raro comparado con la aparición de LMV. Suele ser uniocular y está causado por la migración de una sola larva en el ojo ⁽³³⁾. Se producen varias lesiones oftalmológicas como enoftalmitis, corioretinitis, opacidad de la pupila (leucocoria), granulomas y desprendimiento de la retina. El deterioro visual es gradual, permanente y ocurre durante días o semanas. Los pacientes reportan ver “luces” y muchas veces suele acabar en una ceguera unilateral. En Estados Unidos, cada año al menos 70 personas quedan ciegas por culpa de la LMO ⁽³⁴⁾. En ambas formas es característico encontrar una eosinofilia marcada, de hasta el 80%, acompañado de un fuerte aumento de los leucocitos y altos niveles de IgE ⁽⁶⁾. Se describe una tercera condición no clásica

llamada “toxocariasis cubierta” y que es la más frecuente de todas ^(35, 11). Está causada por la migración crónica de las larvas en los órganos diana específicos. Se presenta en niños de mayor edad y los signos clínicos son cambios comportamentales, alteraciones del sueño, convulsiones, tos, asma y dolor de cabeza. En adultos puede causar debilidad, distrés respiratorio y dolor abdominal ⁽³⁵⁾.

Al ser el hombre un hospedador accidental, el nematodo no es capaz de completar su ciclo biológico en el, lo que influye directamente en el diagnóstico. Al contrario que en animales, no se basa en la detección de huevos con un examen coprológico. Aquí, el diagnóstico de la toxocariasis se hace con métodos serológicos como ESLISA, los signos clínicos, historia de exposición a cachorros y hallazgos laboratoriales (eosinofilia marcada) ⁽³⁴⁾.



Figura 10. LMV: TAC mostrando nódulos multifocales no cavitarios en pulmones (Cianferoni A *et al.*, 2006).

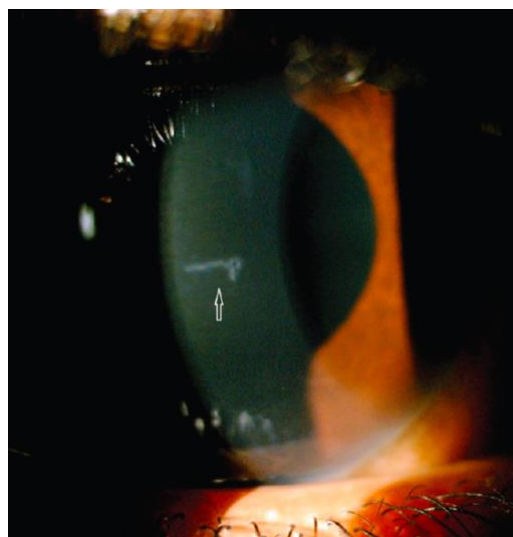


Figura 11. LMO: Flecha mostrando larva en el ojo de un paciente (Kamalakshy J *et al.*, 2017).

1.5. ESTUDIOS DE PREVALENCIA DE *Toxocara* SPP. A NIVEL MUNDIAL

Una quinta parte de las áreas públicas del mundo están contaminadas con huevos de *Toxocara* spp. La prevalencia de este geohelminto en el suelo de áreas públicas a nivel global es del 21% (Pacífico Oeste 35%, África 27%, América del Sur 25%, sudeste de Asia 21%, Europa 18%, EEUU y América Central 13%) ⁽¹⁴⁾. Los ratios de prevalencia varían entre el 2% y 14% en países industrializados (Rusia 0%; Canadá 0,6%; Italia 1,6%; Dinamarca 2,4%), llegando hasta un 80% en regiones tropicales (81% Nepal; 86,1% Nigeria; 92% La Reunión) ^(14, 33) (Figura 12).

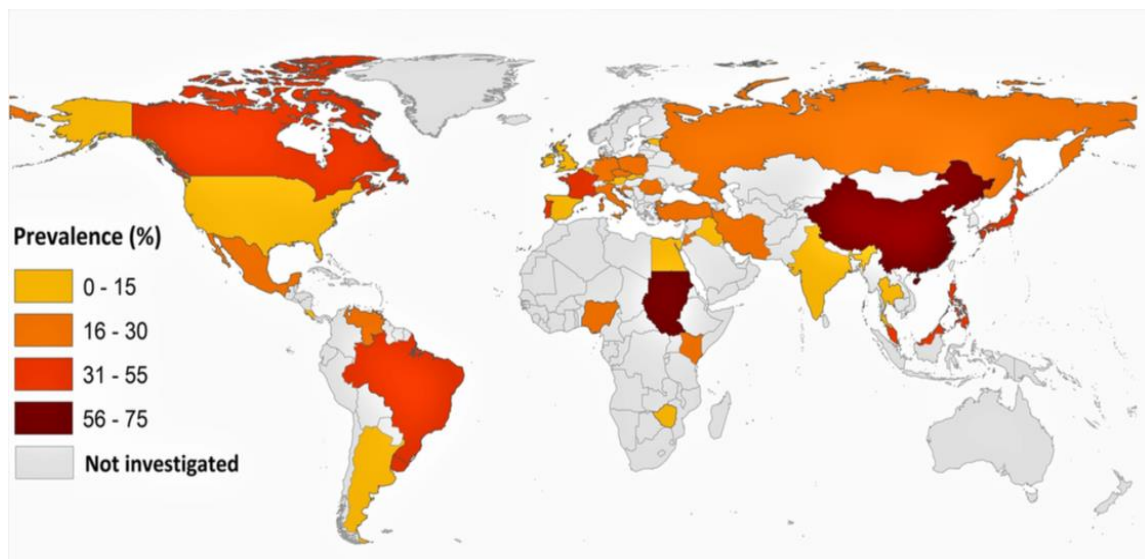


Figura 12. Prevalencia de contaminación del suelo con huevos de *Toxocara* spp. a nivel mundial (Fakhri Y *et al.* 2018).

1.6. ESTUDIOS DE PREVALENCIA DE *Toxocara* SPP Y OTROS GEOHELMINTOS LLEVADOS A CABO EN DIFERENTES CIUDADES EN ESPAÑA

Según la revisión realizada por Fakhri *et al.* en el 2018, en España se ha determinado una prevalencia de contaminación del suelo con huevos de *Toxocara* spp. que varía entre el 5 – 8% ⁽¹⁴⁾.

En 2012 Dado *et al.* estudiaron la prevalencia de enteroparásitos zoonóticos en parques públicos de Madrid. Con 625 muestras de tierra y 79 muestras de heces analizadas mostraron una contaminación de 27 de los 67 parques estudiados (40,3%), siendo positivo un 18% de las muestras de tierra analizadas (112/625). En cuanto a los diferentes helmintos encontrados, la prevalencia fue la siguiente en muestras de suelo: *Toxocara* spp. 16,4%, larvas de *Strongyloides* spp. (3%), *Ancylostoma* spp. (3%). En muestras de heces: *Trichuris vulpis* (1,3%) y *Toxascaris leonina* (1,3%) ⁽¹⁰⁾.

En 2007 y durante un periodo de dos años, Martínez-Moreno *et al.* estudiaron en la ciudad de Córdoba 22 parques diferentes con 342 muestras de suelo. Obtuvieron a la vez 1800 muestras fecales cogidas directamente del recto de perros que entraban en el Centro de Control Animal de Córdoba. La prevalencia que obtienen fue del 71,33% respecto a la parasitosis intestinal (1285/1800) y la contaminación ambiental que se ha sacado fue del 45,5% (10 de los 22 parques estaban afectados). La prevalencia de *Toxocara* spp. en las muestras de suelo fue de 3,8% (13/342) y para *Toxascaris leonina* 5,6%. Los helmintos mayoritarios en muestras fecales fueron *Uncinaria stenocephala* (33,2%), *Toxocara canis* (17,7%), *Toxascaris leonina* (14,9%), *Dipylidium caninum* (13,2%), *Taenia hydatigena* (7.6%), *Taenia pisiformis* (4%), *Trichuris vulpis* (1,6%)⁽²¹⁾.

Durante los años 2001 – 2004, Martínez-Carrasco *et al.* analizaron mediante análisis coprológicos las heces de 275 perros callejeros y de protectora en la ciudad de Murcia. Se vio una parasitosis en 25% de los perros examinados (69/275). La prevalencia para *Toxocara canis*, Ancylostomatidae spp., *Toxascaris leonina* fue de 6-10% y 0,4-1% para *Trichuris vulpis* y *Dipylidium caninum*⁽²⁰⁾. En otro estudio se investigan un total de 644 muestras de suelo de nueve parques públicos. La contaminación ambiental con huevos de *Toxocara* spp. y *Toxascaris leonina* fue del 67% (6/9), habiendo un total de 1,24% de muestras de tierra positivas (8/644)⁽³¹⁾.

De un total de 98 parques estudiados en las diferentes ciudades de España (Madrid, Córdoba, Murcia), un total de 43 parques presentaron contaminación con geohelmintos, dando una prevalencia global del 43,9% (43/98). En resumen, respecto a la contaminación con huevos de *Toxocara* spp. en muestras de suelo en las diferentes ciudades en España, se ha visto una prevalencia del 16,4% en Madrid, 3,8% en Córdoba y 1,24% en Murcia (Figura 13). La prevalencia de *Toxocara* spp. obtenida en heces fue del 0% en Madrid, 17,7% en Córdoba y 0% en Murcia (Figura 14).

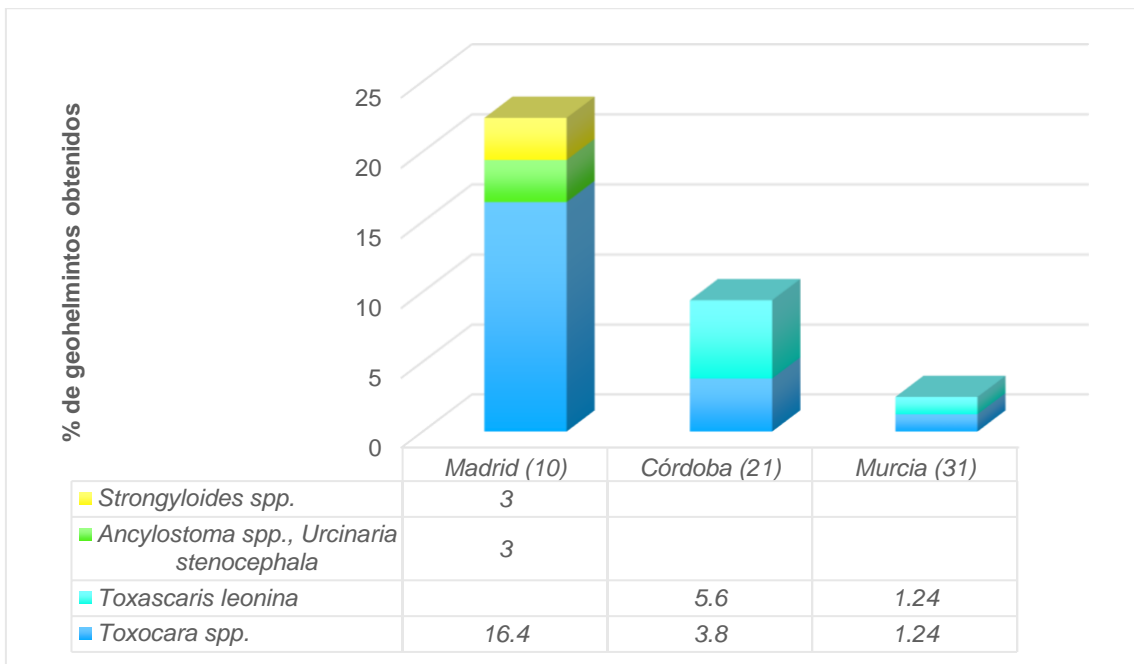


Figura 13. Geohelmintosis en suelo de los diversos estudios en España (Elaboración propia).

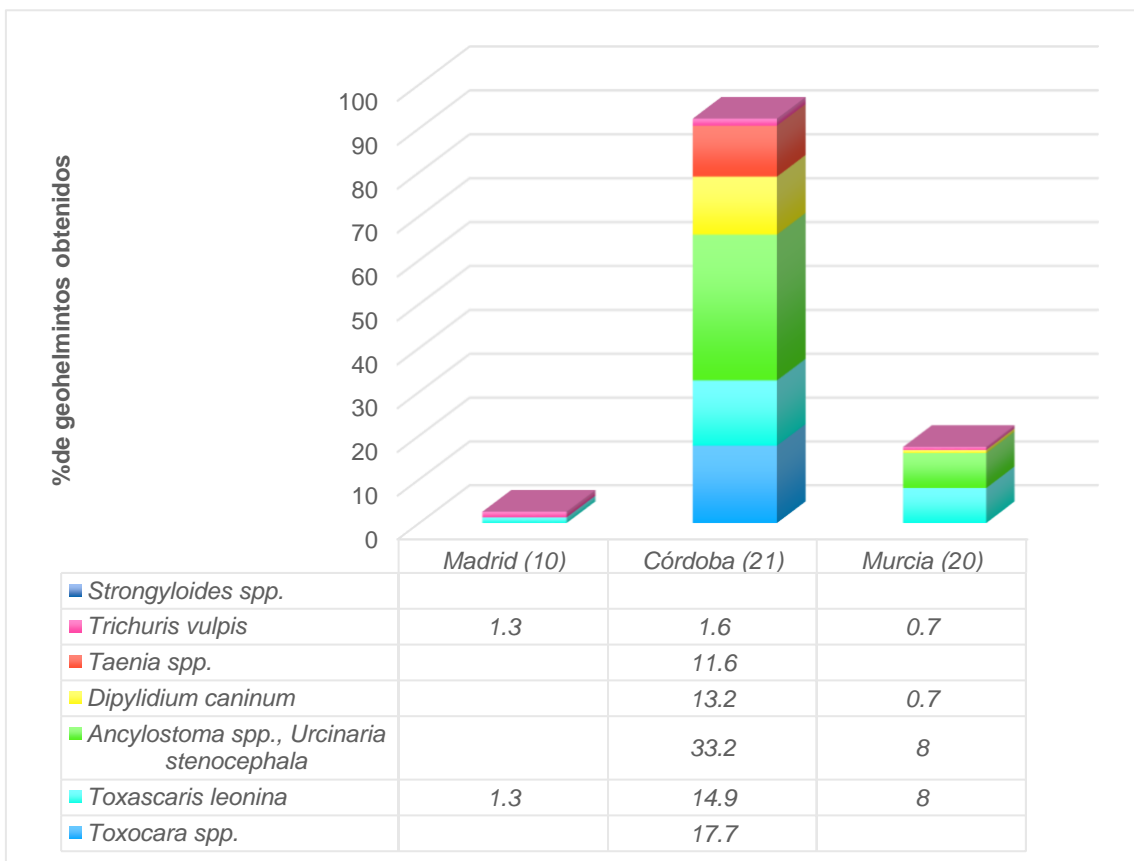


Figura 14. Geohelmintosis en heces de los diversos estudios en España (Elaboración propia).

Queda claro que en la contaminación del suelo con geohelminths hay determinados géneros que juegan un papel importante, tanto por su elevada distribución como por su prevalencia considerable. Especialmente *Toxocara spp.*, entraña un potencial riesgo para la

Salud Pública y más aún sabiendo que más del 24% de la población mundial se infecta con la presencia de huevos parasitarios en el suelo ⁽³⁶⁾. Valencia, con sus 791.413 habitantes ⁽⁸⁾, es la tercera ciudad más grande de España, después de Madrid y Barcelona. Actualmente no existe ningún estudio que determina la prevalencia de parásitos zoonóticos en los parques de la ciudad por lo que es importante saber si los suelos de los parques públicos están o no contaminados con geohelminos.

2. OBJETIVOS

Con los antecedentes expuestos, los objetivos del presente Trabajo de Fin de Grado fueron:

1. Determinar la contaminación ambiental por huevos de *Toxocara* spp. en suelos de parques públicos de la ciudad de Valencia.
2. Estimar la prevalencia de geohelminos parásitos en muestras fecales de perros obtenidas en los mismos parques de la ciudad de Valencia.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ÁREA DE ESTUDIO

Se han seleccionado 14 zonas de recreo en la ciudad de Valencia, incluyendo parques y plazas (Figura 15). Los criterios de selección fueron la presencia de zonas de socialización para perros, zonas sanitarias caninas y zonas infantiles, consultado en la web municipal del ayuntamiento de Valencia ⁽¹⁷⁾ (Tabla 1).



Figura 15. Mapa de Valencia donde se marcan las zonas de recogida de muestra.

Tabla 1. Parques muestreados con sus respectivas zonas sanitarias caninas, zonas de socialización y zonas infantiles.

Parque Público (PP)	Código de referencia	Pipican	Zonas de socialización	Zonas infantiles
Parque de Cabecera	1	3	1	Sí
Parque de Marxalenes	2	-	1	Sí
Parque de Orriols	3	3	1	Sí
Jardines del Real (Viveros)	4	1	1	Sí
Parque del Oeste	5	2	-	
Plaza Enrique Granados	6	0	1	Sí
Jardines de la Glorieta	7	0	0	Sí
Tramo XII Turia	8	-	1	Sí
Tramo VI Turia	9	1	1	Sí
Parque Central	10		1	Sí
Parque en calle de Motilla del Palancar	11	0	1	Sí
Parque en calle Milagrosa 15	12	1	1	Sí
Plaza de Manuel Laguarda Cubell	13	1	0	Sí
Plaza Dr. Torrens	14	1	0	Sí

3.2. RECOGIDA DE MUESTRAS

Las muestras fueron obtenidas de las zonas habilitadas para niños, zonas de socialización y sanitarias para perros durante el periodo de noviembre 2018 a junio 2019. El número de muestras obtenidas en cada parque se tomaron en relación al tamaño del mismo. Las muestras de suelo fueron recogidas con una pala de jardinería, a una profundidad de 2 – 5 cm en una superficie de 10 cm y un con peso aproximado de 200 gr. En las zonas de socialización caninas que abarcaban una gran área, se empezaba en una esquina del recinto y se avanzaba por transectos hasta cubrir la totalidad de la superficie de estudio, recogiendo muestras al azar con una distancia de mínima de cinco metros entre los puntos de recogida. En las zonas infantiles con pavimento de caucho se cogían muestras de las zonas limítrofes. También se recogían 1- 2 muestras de heces de la misma zona. Las heces recogidas fueron las que tenían un aspecto lo más fresco posible. En el caso de ausencia, se procedía a la recogida de una muestra extra de tierra. Para minimizar el sesgo de selección condicionado por el tiempo, el muestreo se llevaba a cabo durante tres periodos diferentes, mañanas, mediodías y tardes.

Ambas muestras se conservaban en bolsas ZIP y se marcaban en el momento de recogida con:

- Fecha de recogida
- Nombre del parque
- Área de recogida de la muestra (zona infantil, zona de socialización y zona sanitaria para perros)
- Tipo de muestra (tierra, heces)

Una vez finalizada la recogida, las muestras fueron introducidas en un recipiente de plástico y se conservaban en una nevera a 4°C hasta ser llevadas a la Facultad de Veterinaria y Ciencias Experimentales de la Universidad Católica de Valencia para ser procesadas. Desde la recogida hasta el análisis en ningún caso pasaban más de dos semanas.

3.3. ANÁLISIS FECAL

Para la determinación de la presencia de parásitos en los animales se realizó un análisis coprológico. En el primer paso se procedió al examen macroscópico de las heces observando color, consistencia, presencia o ausencia de moco, sangre o fibrina. La técnica usada para la preparación de muestras fue el método de Telemann, que está basado con algunas adaptaciones en el manual de técnicas de parasitología veterinaria del Laboratorio Central de Weybridge (M.A.F.F., 1973). Se trata de un método bifásico que combina la sedimentación con la flotación.

En el primer paso se sedimentan las formas parasitarias mediante centrifugación. Posteriormente se realiza flotación, que consiste en concentrar formas parasitarias que tengan menor densidad que la solución usada, de manera que suben hacia la superficie. En condiciones prácticas, todos los huevos de nematodos flotan en líquido con una gravedad específica superior a 1.15 ⁽³²⁾. En este caso, se ha usado sulfato de zinc cuya densidad es del 1,18. ⁽³⁰⁾. Con el método de Telemann, pueden hacerse evidentes la mayoría de los huevos y las larvas de nematodos, ooquistes y huevos de cestodos.

El procedimiento fue el siguiente:

- Pesar 1 – 3 gramos de heces.
- Disgregar en un mortero añadiendo 5 partes de ácido acético al 5%.
- Filtrar por un colador con doble gasa por encima. El filtrado obtenido se coloca en un tubo de ensayo de 15 ml hasta llenar 5 ml.
- Añadir 5 ml de éter dietílico puro, homogenizar invirtiendo el tubo manualmente.
- Centrifugar a 1500 rpm durante 5 minutos (Figura 16). Aparecerán 4 capas bien delimitadas: capa de éter etílico, capa de grasa, capa de ácido acético y sedimento donde se tenían que encontrar las formas parasitarias (Figura 17).
- Desechar el sobrenadante (las 3 capas superiores)
- Añadir con una pipeta Pasteur sulfato de zinc hasta formar un menisco en la parte superior y colocar un cubre por encima.
- Pasados 15 minutos, proceder al análisis microscópico, colocando el cubre sobre un portaobjetos.



Figura 16. Centrifuga Nahita utilizada en este estudio.

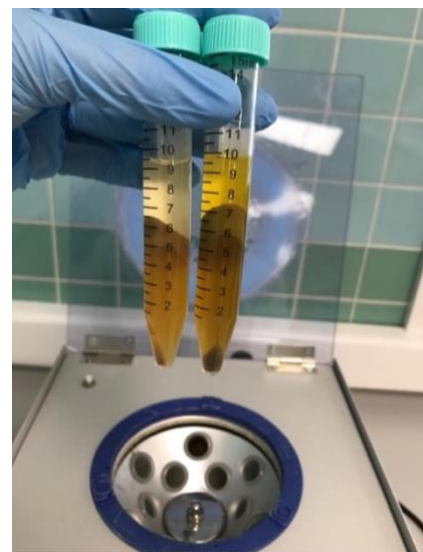


Figura 17. Muestra obtenida una vez centrifugada. Obsérvese las cuatro fases bien delimitadas.

3.4. ANÁLISIS DEL SUELO

Debido a que los huevos de ascáridos se encuentran fuertemente unidos a partículas del suelo, se precisan de técnicas especiales para poder aislar *Toxocara* spp. Las muestras de tierra fueron analizadas mediante una técnica de tamizado. Se trata de una de las técnicas más eficientes en comparación con otros métodos de laboratorio descritos, con un valor de recuperación de huevos del 89,43% ⁽³⁰⁾.

En este caso, el protocolo fue:

- Pesar 100 gramos de tierra en un vaso de precipitados de 250 ml.
- Añadir 100 ml de agua con unas gotas de jabón y agitarlo a continuación manualmente durante unos 20 segundos.
- Tamizar cada muestra a través de un tamiz metálico (CISA) con diferentes diámetros de poro (1000 µm, 250 µm, 125 µm y 63 µm) para ir eliminando las partículas más groseras como piedras y ramas, colocando la malla de mayor diámetro de poro en la parte superior (Figura 18).
- Aplicar abundante agua hasta disgregar completamente las partículas de tierra. En el último tamiz quedarán retenidos los huevos parasitarios.
- Recoger el filtrado en una copa de sedimentación, llenar hasta 500 ml con agua y dejar reposar 20 minutos, seguido de 2 lavados.
- Desechar el sobrenadante y colocar el sedimento en un tubo de ensayo de 15 ml, completándolo con agua.
- Agitar manualmente antes de centrifugarlo durante 5 minutos a 1500 rpm.
- Desechar el sobrenadante y llenar con sulfato de zinc hasta hacer un menisco en la parte superior y colocar un cubreobjetos (Figura 19).
- Dejar reposar durante 15 minutos.
- Colocar el cubre sobre un portaobjetos para analizarlo al microscopio.



Figura 18. Tamiz (CISA) con mallas de diferente diámetro de poro utilizado para filtrar la tierra.

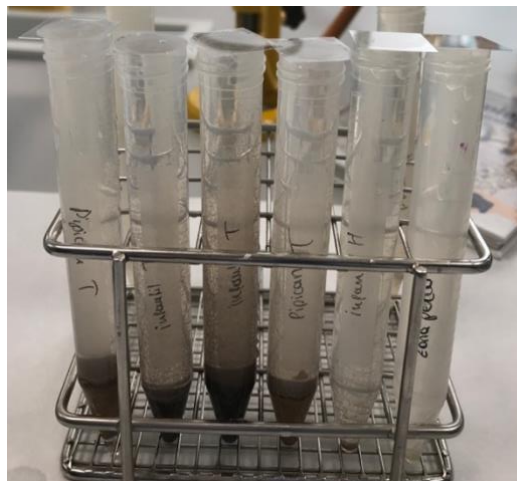


Figura 19. Técnica de flotación.

3.5. ANALISIS ESTADÍSTICO

El cálculo de la prevalencia y la comparación entre los diferentes factores de riesgo se calculó utilizando el programa informático WINEpiscope 2.0, utilizando un nivel de confianza del 95% con el que se establecieron diferencias estadísticamente significativas cuando el valor p de Chi-cuadrado (χ^2) fue superior a 0,05.

4. RESULTADOS

Al final del estudio se analizaron un total de 108 muestras, 64 muestras de tierra y 44 fecales. Como se muestra en la Tabla 2, de los 14 parques públicos que se incluyeron en el estudio, cinco estaban contaminados con huevos de *Toxocara* spp., llevando a una prevalencia total del 35,7% (5/14). Todos los positivos fueron obtenidos de muestras de tierra, con una prevalencia del 10,9% (7/64) de contaminación del suelo, mientras que en las muestras de heces no se obtuvo ningún resultado positivo (0/44). En cuanto a la prevalencia total por zonas, y como se muestra en la Tabla 3, la zona que mostraba una mayor contaminación de la tierra por huevos de *Toxocara* spp. fueron los pipicanes, con una prevalencia del 30,8%, (4/13), seguido por la zona de socialización para perros con un 9,7% (3/31), mientras que en zonas de juegos infantiles no se obtuvo ningún resultado positivo (0/20). Las diferencias observadas en ambas zonas no fueron estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 2. Contaminación de la tierra y de las heces con huevos de *Toxocara* spp. en los parques públicos de Valencia.

	Código de referencia (CR)	Nombre del parque	Nº de muestras de tierra	Muestras positivas de tierra	Nº de muestras de heces	Muestras positivas de heces
Parques públicos (PP)	1	Parque de Cabecera	8	2	7	0
	2	Parque de Marxalenes	2	1	1	0
	3	Parque de Orriols	1	0	1	0
	4	Jardines del Real (Viveros)	4	2	4	0
	5	Parque del Oeste	8	1	4	0
	6	Pl. Enrique Granados	6	0	4	0
	7	Jardines de la Glorieta	2	0	3	0
	8	Tramo XII Turia	6	0	4	0
	9	Tramo VI Turia	10	1	4	0
	10	Parque Central	5	0	2	0
	11	Parque en calle Motilla del Palancar	5	0	3	0
	12	Parque en calle Milagrosa	2	0	2	0
	13	Pl. de Manuel Laguarda Cubell	2	0	2	0
	14	Pl. Dr. Torrens	3	0	3	0
Total			64	10,9% (7/64)	44	0% (0/20)

Tabla 3. Tierra contaminada con *Toxocara* spp. por zonas y parques afectados.

	Positivos a huevos de <i>Toxocara</i> spp.	Nº de muestras de tierra	Muestras positivas de tierra	Total de prevalencia de tierra contaminada
Zona Infantil (ZI)	No	20	0	0 (0/20)
Zona de Socialización (ZC)	Sí	31	3	9,7% (3/31)
Pipican (ZP)	Sí	13	4	30,8% (4/13)

Total PP	14	35,7% (5/14)	64	10,9% (7/64)	
	CR				
Parque afectado	1		8	2	ZP
	2		2	1	ZP
	4		4	2	ZP,ZS
	5		8	1	ZS
	9		10	1	ZS

Los parques que resultaron positivos fueron el parque de Cabecera (1), el parque de Marxalenes (2), los Jardines del Real/Viveros (4), el parque del Oeste (5) y el tramo VI del cauce del río Turia (9), como se ilustra en la Figura 20. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los parques analizados ($p > 0,05$)



Figura 20. Mapa de Valencia donde se marca la distribución de las zonas positivas (círculo rojo) y negativas (círculo verde) a *Toxocara* spp. Nota: el número dentro de cada círculo se corresponde al código de referencia del parque.

La identificación de huevos de *Toxocara* spp. (Figura 21) fue hecha a base de claves taxonómicas y mediciones (Figura 22), para diferenciarlos de otros agentes que podrían llevar a

confusión, como granos de polen, esporas de hongos, huevos de ácaros y otros nematodos de vida libre y que se encuentran con mucha frecuencia en el suelo (Anexo I).



Figura 21. Huevos de *Toxocara* spp. encontrados en las muestras de tierra.



Figura 22. Medición de un huevo de *Toxocara* spp. obtenido de tierra en la zona de socialización del tramo VI del Turia.

5. DISCUSIÓN

El censo canino va en aumento desde los últimos años ⁽³⁾, por lo que cada vez hay más perros defecando en las zonas de recreo que frecuentan también personas, tanto adultos como niños. La prevalencia de la contaminación del suelo con huevos de *Toxocara* spp. de los parques públicos de Valencia es del 10,9% (7/64). En comparación con el metaanálisis publicado en el año 2018 por Fakhri *et al.* sobre la prevalencia global de la contaminación de suelos con huevos de *Toxocara* spp., la prevalencia de 10,9% obtenida en este estudio se encuentra dentro del rango del 0-15% que establece para España. Con 10,9% se encuentra ligeramente por debajo de la prevalencia de Madrid, donde se indica un valor de 16,4% ⁽¹⁰⁾. La contaminación del suelo por *Toxocara* spp con 1,24% en Murcia ⁽³¹⁾ y 3,8% en Córdoba ⁽²¹⁾ está por debajo del valor obtenido en Valencia. Cuando se compara la prevalencia de *Toxocara* spp. entre áreas geográficas distintas hay que tener en mente los factores que lo puede hacer variar. Las condiciones ambientales diferentes entre las distintas ciudades juegan un papel importante a la hora de aislar huevos de *Toxocara* spp. del ambiente, ya que condiciones demasiado extremas

(temperaturas superiores de 37°C), condiciones áridas y la exposición a luz solar directa destruyen el huevo ^(5, 25). Este es un posible factor que pueda explicar la baja prevalencia de contaminación ambiental del suelo con *Toxocara* spp. en Córdoba y en Murcia en comparación con Valencia. La región de Murcia se caracteriza por tener un clima árido a semiárido. Se pueden registrar temperaturas que fácilmente superan los 35°C entre junio y septiembre, llegando hasta 40°C en el mes de agosto. Algo parecido ocurre en Córdoba, donde el año pasado incluso se llegaron a registrar temperaturas de hasta 45°C en verano ⁽⁴⁾. Valencia por otro lado cuenta con un clima mediterráneo más templado.

En este estudio ningún análisis coprológico es positivo a *Toxocara* spp. (0/44). Es idéntico a la prevalencia encontrada en heces para este geohelminto en las ciudades de Madrid ⁽¹⁰⁾ y Murcia ⁽²⁰⁾, mientras que en Córdoba sí se ha visto toxocarosis en heces con una prevalencia del 17,7 % ⁽²¹⁾. Basándose solamente en los análisis coprológicos, esto sugiere que el estado sanitario de los perros es adecuada y que se está llevando una desparasitación correcta. Pero hay que tener en cuenta que es un estudio muy puntual, ya que cada muestra corresponde solamente a un individuo en concreto y en un determinado momento.

Con el análisis del suelo por el contrario, hay una probabilidad mucho mayor de encontrar huevos de *Toxocara* spp. Las heces, con los posibles huevos parasitarios, se depositan en el suelo y si no se recogen, están sometidas a diversas condiciones ambientales como lluvia, desecación, pisotones etc., lo que hace que desaparezcan con el tiempo. Los huevos de *Toxocara* spp. sin embargo resisten, pudiendo permanecer durante años en el medio ambiente en condiciones favorables ^(1,14,25). Como una muestra de suelo se compone de varias muestras de tierra al avanzar por transectos, se cogen formas parasitarias no solo de varios perros, sino también de un periodo de tiempo indefinido, lo que hace aumentar la probabilidad de encontrarse con algún positivo. Estos resultados, junto con el hecho de que la seroprevalencia de toxocarías en humanos está más relacionada con tierra contaminada que con la prevalencia encontrada en perros ⁽⁴⁰⁾, indican la necesidad de concienciar a los propietarios sobre la importancia que tiene recoger las heces.

En total, un 35,7% (5/14) de los parques públicos de Valencia están contaminados con huevos de *Toxocara* spp. Madrid y Córdoba con un 43,3% (27/67)⁽¹⁰⁾ y un 45,5% (10/22)⁽²¹⁾, respectivamente, tienen una contaminación ligeramente superior, mientras que Murcia con 67% (6/9) ⁽³¹⁾, es la ciudad que mayor contaminación presenta en los suelos de los parques. Esto puede deberse a otros factores que tienen relación directa con la prevalencia como son

comportamiento higiénico de los propietarios, la presencia de animales callejeros y la presencia de heces en el ambiente.

La zona que muestra una mayor contaminación con huevos de *Toxocara* spp. resultó ser los pipicanes (prevalencia 30,8%), seguido de la zona de socialización para perros (prevalencia 9,7%), mientras que las zonas infantiles no presentan contaminación alguna. La ausencia de huevos de *Toxocara* spp. en las zonas de juegos infantiles seguramente se deba a las medidas preventivas generales que se han tomado para evitar el paseo de los perros por éstas zonas. Existe una Ordenanza Municipal de parques y jardines específica (Art. 29 O.M.) que regula con un cartel la prohibición de la entrada de perros a estas zonas. La gran mayoría también están dotados con suelo de caucho y muchos parques incluso se delimitan completamente con un cercado (Figura 23). Si recordamos que la mayor ruta de transmisión de éste parásito es la vía fecal- oral al ingerir tierra contaminada, al disminuir la probabilidad de que los canes defecuen en ésta zona, también disminuye la probabilidad de que el suelo se contamine con huevos de *Toxocara* spp., evitando así la transmisión de éste y otros geohelminintos zoonóticos.



Figura 23. Zona de juegos infantiles en calle Alfahuir con el cartel de prohibición de entrada para perros, cercado completo y suelo de caucho.

Que la mayor zona de contaminación sean los pipicanes, también tiene sentido si se contempla que se trata de una de las zonas con mayor afluencia de perros, en un espacio

reducido y donde los dueños directamente ni recogen las heces de sus mascotas, llevando así a la contaminación de la tierra (Figura 24).



Figura 24. Pipican para perros con gran contaminación fecal.

Las zonas de socialización para perros también muestran presencia de huevos de *Toxocara* spp., aunque en menor medida que los pipicanes. Se puede explicar con el hecho de que sigue siendo un espacio donde se concentran todos los días una gran cantidad de perros, pero a diferencia de los pipicanes, los propietarios están más concienciados e interesados en mantener limpias estas zonas, para que sus mascotas puedan jugar en condiciones higiénicas. A la entrada suele haber un cartel especificando la obligación de la recogida de las heces en bolsas herméticas y también es común encontrar escoba, recogedor y dispensadores de bolsas para facilitarle a los propietarios ésta labor (Figura 25).



Figura 25. Jardines del Real (Viveros). Zona de socialización para perros, donde a la entrada se puede ver el cartel explicativo, bolsas, escoba y recogedor.

Llama la atención la prevalencia del 0% (0/44) encontrada en heces habiendo contaminación del suelo por *Toxocara* spp. con una prevalencia del 10,9% (7/64). Como se ha explicado anteriormente, el análisis coprológico es un estudio muy puntual de una muestra de individuos en concreto (44 muestras de heces suponen 44 perros analizados). Con el análisis de tierra sin embargo se abarca una mayor cantidad de individuos al coger muestras en varios puntos del suelo. También es un estudio no definido en el tiempo porque los huevos de *Toxocara* spp. presentan una alta resistencia ambiental. Este razonamiento sugiere la posibilidad de que exista una minoría de perros en Valencia que no se estén desparasitando correctamente y que se han encontrado con el análisis de tierra. Otra posible explicación es que hayan perros callejeros que defecuen por estas zonas o que los huevos de este geohelminto se esté vehiculando a los parques de Valencia desde zonas con perros vagabundos. Animales peridomésticos como ardillas, liebres y otros pequeños mamíferos pueden ser importantes en el mecanismo de dispersión de huevos de *Toxocara* spp. Las aves, aparte de ser hospedadores paraténicos, también pueden transportar en sus alas y patas huevos de *Toxocara* spp. y diseminarlos así a grandes distancias desde su localización de origen ⁽¹¹⁾.

El suelo es un ecosistema complejo con interacción entre diversas especies, lo que puede suponer una limitación en éste estudio a tener en cuenta, debido a que el análisis en el laboratorio solamente se basó en el uso del microscopio óptico. Hay esporas de hongos

microrrízicos en el medio ambiente que pueden recordar a huevos de *Toxocara* spp. cuando aún no se encuentran germinando, siendo una fuente de fácil confusión. También pueden serlo los huevos de ácaros del suelo, que pueden recordar a huevos de ascáridos en general. Para eliminar esta posible fuente de error es necesario usar técnicas moleculares avanzadas como es el análisis mediante PCR y que puede ser contemplado para futuras investigaciones.

6. CONCLUSIONES

1. Existe contaminación ambiental con huevos de *Toxocara* spp. en los suelos de parques públicos de la ciudad de Valencia, no encontrándose otras especies de parásitos. La prevalencia obtenida es del 10,9% y se encuentra dentro del rango global establecido para España.
2. No se ha encontrado parasitación por geohelminintos en las muestras fecales de perros.
3. El suelo contaminado es la fuente de infección más importante para contraer toxocariasis humana.
4. La zona con mayor contaminación son los pipicanes (prevalencia 30,8%), seguida de las zonas de socialización para perros (prevalencia 9,7%), mientras que en las zonas de juegos infantiles la prevalencia obtenida es cero.
5. Dada la importancia clínica de *Toxocara* spp, la educación pública es crucial para reducir la exposición al riesgo en humanos y animales de compañía.

7. BIBLIOGRAFÍA Y WEBGRAFÍA

1. Abou-El-Naga IF. Developmental stages and viability of *Toxocara canis* eggs outside the host. *Biomed*. 2018;38(2):189-197.
2. Ahaduzzman MD, Amin AI, Imtiaz MA, Rahman MD. Case Report: Gut Obstructive Toxocariasis in a Puppy. *Res J Vet Pract* . 2014;2(3):42-43.
3. Análisis y caracterización del sector de los animales de compañía [Internet]. [Lugar desconocido]: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente; 2015 [citado 29 de noviembre 2018]. Disponible en: <https://www.mapa.gob.es>.
4. Análisis estacional [Internet]. AEMET Agencia Estatal de Meteorología; 2018 [citado 05 de julio 2019]. Disponible en: http://www.aemet.es/es/serviciosclimaticos/vigilancia_clima/analisis_estacional?k=
5. Azam D, Ukpai OM, Said A, Abd-Allah GA, Morgan ER. Temperature and the development and survival of infective *Toxocara canis* larvae. *Parasitol Res*. 2012 Feb;110(2):649-656.
6. Beck W, Pantchev N. Zoonosis parasitarias. 1ªed. Zaragoza: Servet; 2010.
7. Cianferoni A, Schneider L, Schantz PM, Brown D, Fox LM. Visceral Larva Migrants Associated With Earthworm Ingestion: Clinical Evolution in an Adolescent Patient. *Pediatr*. 2006 Feb;117(2):336-339.
8. Cifras oficiales de población resultantes de la revisión del Padrón municipal a 1 de enero [Internet]. Madrid: INE Instituto Nacional de Estadística; 2018 [citado 5 de julio 2019]. Disponible en: <https://www.ine.es/jaxiT3/Datos.htm?t=2911>
9. Cross AR, Baldwin VM, Roy S, Essex-Lopresti AE, Prior JL, Harmer NJ. Zoonoses under our noses. *Microbes Infect*. 2019 Jan-Feb;21(1):10-19.
10. Dado D, Izquierdo F, Vera O, Montoya A, Mateo M, Fenoy S, *et al*. Detection of Zoonotic Intestinal Parasites in Public Parks of Spain. Potential Epidemiological Role of Microsporidia. *Zoonoses Public Health*. 2012 Feb;59(1):23-28.
11. Despommier Dickson. Toxocariasis: Clinical Aspects, Epidemiology, Medical Ecology, and Molecular Aspects. *Clin Microbiol Rev*. 2003 Apr;16(2):265-272.
12. Dhooria MS. Soil Mites. Fundamentals of Applied Acarology. En: Dhooria MS. Fundamentals of Applied Acarology. 1st ed. Singapore: Springer;2016;p.197-206.
13. Endoparasites [Internet]. Worcestershire UK: ESCCAP European Scientific Counsel Companion Animal Parasites; [fecha desconocida] [citado 03 de julio 2019]. Disponible en: <https://www.esccap.org/parasites>.

14. Fakhri Y, Gasser RB, Rostami A, Fan CK, Ghasemi SM, Javanian M, *et al.* *Toxocara* eggs in public places worldwide - A systematic review and meta-analysis. *Environ Pollut.* 2018 Nov;242:1467-1475.
15. Fatjó J, Bowen J, Garcia E, Calvo P, Rueda S, Amblás S, *et al.* Epidemiology of Dog and Cat Abandonment in Spain (2008-2013). *Animals.* 2015 Jun;5(2):426-41
16. Iglesias- Osoreo S, Caceido O, Rojas F. Toxocariasis, una enfermedad que aún merece nuestra atención. *Rev Exp Med.* 2018 Dic;4(4):149-150.
17. Infocidad, zona para perros [Internet]. Valencia: Ayuntamiento de Valencia; [fecha desconocida, citado 5 de noviembre 2018]. Disponible en: [http://www.valencia.es/ayuntamiento/Infocidad_accesible.nsf/0/E8107F3592CC1517C1257C83002FA532/\\$FILE/201710%20LISTADO%20ZONAS%20PERROS%20WEB%20MUNICIPAL.pdf?OpenElement&lang=1](http://www.valencia.es/ayuntamiento/Infocidad_accesible.nsf/0/E8107F3592CC1517C1257C83002FA532/$FILE/201710%20LISTADO%20ZONAS%20PERROS%20WEB%20MUNICIPAL.pdf?OpenElement&lang=1)
18. Kamalakshy J, Babu K, Madhavan PD, Subrahmaniam S. Successful treatment of corneal larva migrans by Nd:YAG laser photodisruption. *J Ophthalmic Vis Res.* 2017 Oct;12(4):443-444.
19. Luty T. Prevalence of species of *Toxocara* in dogs, cats, and red foxes from Poznan region, Poland. *J Helminthol.* 2001 Jun;75(2):153-156.
20. Martínez-Carrasco C, Berriatua E, Garijo M, Martínez F, Alonso FD, Ruiz de Ibañez R. Epidemiological Study of Non-systemic Parasitism in Dogs in Southeast Mediterranean Spain Assessed by Coprological and Post-mortem Examination. *Zoonoses Public Health.* 2007;54(5):195-203.
21. Martínez-Moreno FJ, Hernández S, López-Cobos E, Becerra C, Acosta I, Martínez-Moreno A. Estimation of canine intestinal parasites in Córdoba (Spain) and their risk to public health. *Vet parasitol.* 2007 Jan;143(1):7-13.
22. Medina-Pinto RA, Rodríguez-Vivas RI, Bolio-González ME. Zoonotic intestinal nematodes in dogs from public parks in Yucatán, México. *Biomedica.* 2018 Mar;38(1):105-110.
23. Messenger AM, Barnes AN, Gray GC. Reverse Zoonotic Disease Transmission (Zooanthroponosis): A Systematic Review of Seldom-Documented Human Biological Threats to Animals. *PLoS One.* 2014 Feb;9(2):1-9.
24. Panova OA, Khurstalev AV. Dog walking brings *Toxocara* eggs to people's homes. *Vet Parasitol.* 2018 Oct;262:16-19.
25. Pathogen Safety Data Sheets: Infectious Substances- *Toxocara canis*, *Toxocara cati* [Internet]. Canada: Government of Canada; 2011 [citado 05 de julio 2019]. Disponible en: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety->

- biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment/toxocara-canis-toxocara-cati.html#note2
26. Prieto-Pérez L, Pérez-Tanoira R, Cabello-Úbeda A, Petkova-Saiz E, Górgolas-Hernández-Mora M. Geohelminths. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016 Jun;34(6):384-389.
 27. Raza A, Rand J, Qamar AG, Jabbar A, Kopp S. Gastrointestinal Parasites in Shelter Dogs: Occurrence, Pathology, Treatment and Risk to Shelter Workers. *Animals*. 2018 Jul;8(7):1-23.
 28. Stray Animals by Country- Europe [Internet]. [lugar desconocido]: ESDAW European Society of Dog and Animal Welfare; 2018 [citado 05 de julio 2019]. Disponible en: <http://www.esdaw.eu/stray-animals-by-country.html>
 29. Rice K. *Toxocara* Overview [Internet]. Stanford: Stanford University; 2005 [citado 01 de julio 2019]. Disponible en: <https://web.stanford.edu/group/parasites/ParaSites2005/Toxocariasis/whole%20thing.htm>
 30. Ruiz de Ibáñez MR, Garijo MM, Goyena M, Alonso FD. Improved methods for recovering eggs of *Toxocara canis* from soil. *J Helminthol*. 200 Dec;74(4):349-53.
 31. Ruiz De Ybáñez MR, Garijo MM, Alonso FD. Prevalence and viability of eggs of *Toxocara* spp. and *Toxascaris leonina* in public parks in eastern Spain. *J Helminthol*. 2001 Jun;75(2):169-173.
 32. Thienpont D, Rochette F, Vanparijs OF. Diagnosing Helminthiasis by coprological examination. 3rd ed. Beerse: Janssen Animal Health; 2003.
 33. Torgerson PR, Macpherson CN. The socioeconomic burden of parasitic zoonoses: Global trends. *Vet Parasitol*. 2011 Nov;182(1):79-95.
 34. Toxocariasis [Internet]. [Lugar desconocido]: CDC Centers for Disease Control and Prevention; 2017 [citado 29 de noviembre 2018]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/toxocariasis/index.html>
 35. Traversa D. Pet roundworms and hookworms: A continuing need for global worming. *Parasit Vectors*. 2012 May;91(5):1-19.
 36. Umhang G, Bastien M, Renault C, Faisse M, Caillot C, Boucher J, *et al*. A flotation/sieving method to detect *Echinococcus multilocularis* and *Toxocara* spp. eggs in soil by real-time PCR. *Parasite*. 2017 Jul;24(28):1-7.
 37. Vieira dos Santos S, Santos FH, Lescano SA, Maurício dos Santos D, Tiago E, Fonseca GR, *et al*. Migration pattern of *Toxocara canis* larvae in experimentally infected male and female *Rattus norvegicus*. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2017 Oct;50(5):698-700.
 38. Wolfe A, Wright I. Parasitic nematode eggs in fur samples from dogs. *Vet Rec*. 2004 Mar;154(13):408.

39. Wright I. Focus on *Toxocara* [Internet]. 2013 Apr [citado 03 de julio 2019];2537(3): [acerca de 16pp.] Disponible en: https://issuu.com/m4dc/docs/2537_3_focus_on_toxocara_a4_16pp_hh
40. Zibaeu M, Bahadory S, Cardillo N, Khatami AR. Soil Contamination with eggs of *Toxocara* species in public parks of Karaj, Iran. *Int J Enteric Pathog*. 2017 May;5(2):45-48

8. ANEXO I

Puesto que en la tierra existen microorganismos que recuerdan a *Toxocara* spp., a continuación se listan todos aquellos obtenidos durante el estudio.

Esporas de hongos micorrízicos (Figura 26). Suelen ser de color amarillento a marrón, con un diámetro variable y viven en simbiosis con las plantas. Cuando germinan ramifican hacia todas las direcciones.

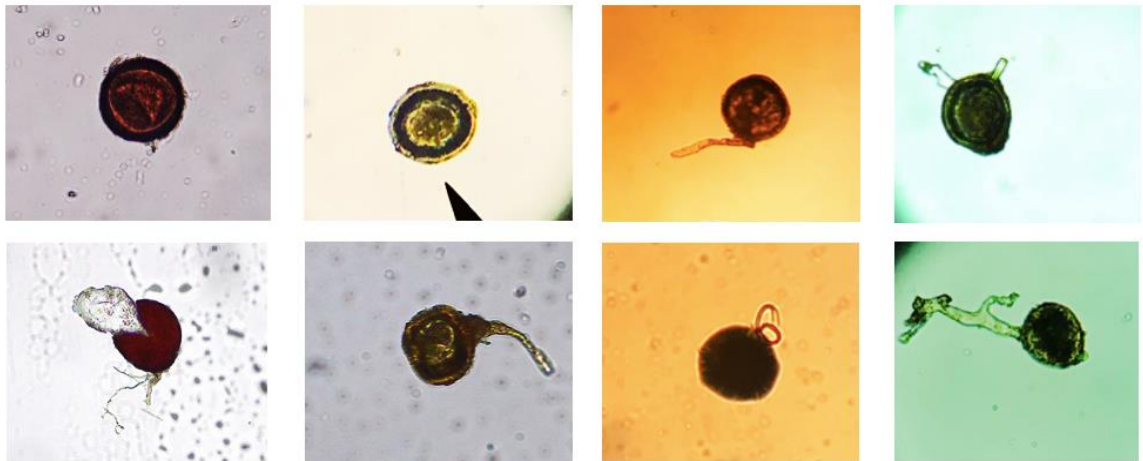


Figura 26. Esporas de hongos micorrízicos aisladas de las muestras de tierra. Nótese el tubo de germinación en aquellas que han empezado a ramificarse.

Granos de polen (Figura 27).

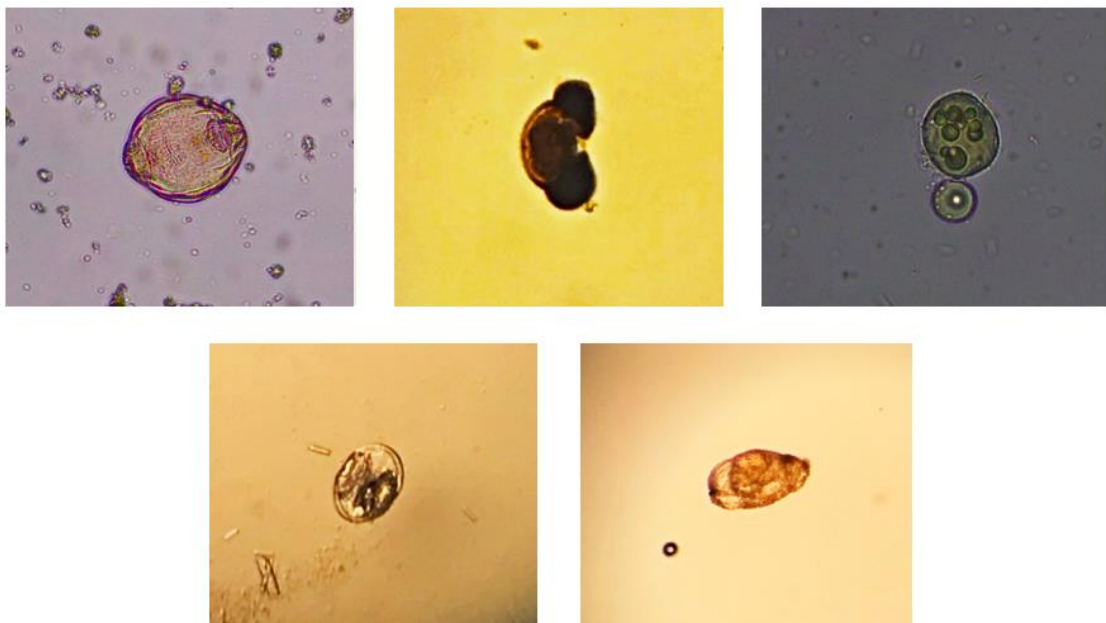


Figura 27. Diferentes tipos de granos de polen.

Nematodos de vida libre (Figura 28). Suelen tener un cuerpo alargado con extremos más ensanchados. Su longitud varía entre 0.1-5 m, presentando una cutícula no segmentada con órganos (excretor, nervioso, digestivo y reproductor) que se encuentra en una cavidad líquida llamada celoma.



Figura 28. Larvas de vida libre.

Microtrópodos como ácaros del suelo (Figura 29). Existen más de 10.300 especies y 177 familias diferentes, pudiendo llegar hasta cientos de miles de individuos por metro cuadrado. Se consideran descomponedores importantes del suelo y sirven como indicadores de la calidad del mismo. Habitan en la capa superior de la tierra y algunos son predadores naturales de nematodos ⁽¹²⁾. Debido a su pequeño tamaño y su complejidad taxonómica es un área poco investigada y donde aún quedan muchas especies por describir.

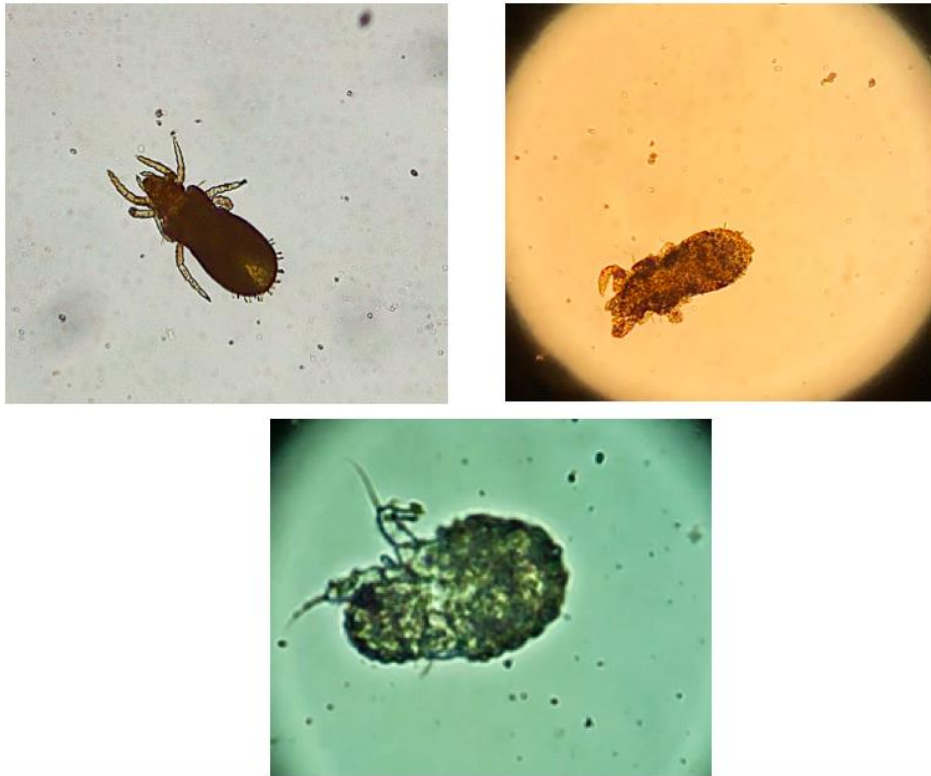


Figura 29. Ácaros del suelo.

También se ha identificado un tipo de huevo de ácaro en concreto que abunda en los parques de Valencia (Figura 30). Su tamaño variaba entre los $140 \times 90 \mu\text{m}$ (Figura 31). En la Tabla 4 se puede resumir que la mitad de los parques (7/14) contaban con la presencia de huevos de éste tipo de ácaro, lo que da una prevalencia global del 50%. De un total de 64 muestras de tierra, diez eran positivas, dando una prevalencia de 15,6 % (10/64). La zona con mayor prevalencia fue la zona infantil, con 25% (5/20), seguido de los pipicanes con 15,4% (2/13) y la zona de socialización para perros con 9,7% (3/31)



Figura 30. Huevos de ácaros de suelo.

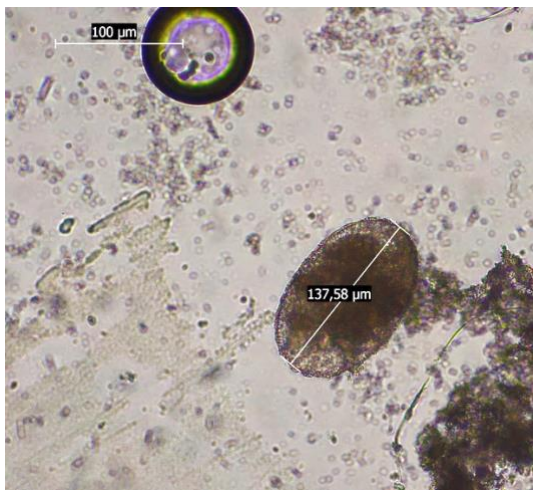


Figura 31. Huevo de ácaro de suelo con medida.

Tabla 4. Presencia de huevos de ácaro en muestras de tierra de los parques públicos de Valencia.

	Código de referencia	Nombre del parque	Positivo a huevos de ácaro	Nº de muestras de tierra	Muestras positivas de tierra
Parques públicos (PP)	1	Parque de Cabecera	+	8	2
	2	Parque de Marxalenes	-	2	0
	3	Parque de Orriols	-	1	0
	4	Jardines del Real (Viveros)	-	4	0
	5	Parque del Oeste	-	8	0
	6	Pl. Enrique Granados	+	6	1
	7	Jardines de la Glorieta	+	2	1
	8	Tramo XII Turia	+	6	1
	9	Tramo VI Turia	-	10	0
	10	Parque Central	-	5	0
	11	Parque en calle Motilla del Palancar	+	5	2
	12	Parque en calle Milagrosa	+	2	2
	13	Pl. de Manuel Laguarda Cubell	+	2	1
	14	Pl. Dr. Torrens	-	3	0
Total PP	14		50% (7/14)	64	15,6% (10/64)
Zona infantil			+	20	5
Zona de socialización			+	31	3
Pipican			+	13	2