

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE PATOLOGÍA ANIMAL

DETERMINACIÓN DEL RIESGO DE INFECCIÓN CON HUEVOS DE *Toxocara canis* EN LUGARES PÚBLICOS Y PATIOS DE CASAS PARTICULARES EN LA CIUDAD DE VALDIVIA.

Memoria de Título presentada como parte de los requisitos para optar al TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO.

YORKA NATALIA REYES PERALTA

VALDIVIA – CHILE

2008

PROFESOR PATROCINANTE:

Dr. Gerold Sievers P.

Nombre

Firma

PROFESORES CALIFICADORES:

Dr. René Franjola T.

Nombre

Firma

Dr. Rafael Tamayo C.

Nombre

Firma

FECHA DE APROBACIÓN: 23 de junio de 2008

Cuando tus ojos apenas comenzaban a observar,
otros se cerraban para siempre...

A mis amadas Amanda y Laika

Y por supuesto a mis Padres Raúl y Vicky ...Gracias

ÍNDICE

Capítulos	Página
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	7
5. RESULTADOS.....	10
6. DISCUSIÓN.....	13
7. REFERENCIAS.....	16
8. ANEXOS.....	21
9. AGRADECIMIENTOS.....	24

1. RESUMEN

El presente estudio se realizó entre octubre del 2006 y enero del 2007 en la ciudad de Valdivia, donde se obtuvieron muestras de tierra para determinar la cantidad de huevos de *Toxocara canis* con el fin de ver donde existe riesgo de infección para el ser humano de contraer el síndrome “*larva migrans visceral*”. Se obtuvieron 10 muestras de tierra de lugares públicos, 10 muestras de tierra de patios con perros machos adultos y 10 muestras de tierra de patios con perras que tuvieran o hubiesen tenido cachorros en los últimos 6 meses.

En cada área a muestrear se fijaron dos recorridos en “V” contrapuestos distribuyendo en cada recorrido 20 puntos de recolección para obtener dos muestras acumulativas de aprox. 100 g de tierra. Estas muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Austral de Chile mediante una técnica que permite obtener cuantitativamente los huevos de ascarídeos.

En los lugares públicos se encontró, en promedio 2,1 huevos de ascárides en 25 g de tierra, de los cuales 2,9 % eran huevos de *T. canis* larvados. En los patios con perros (machos) adultos se encontraron, en promedio 3,2 huevos de ascarídeos en 25 g de tierra, de los cuales 1,4 % eran huevos larvados de *T. canis*. En patios donde habitaban perras y cachorros se encontraron, en promedio 8,6 huevos de ascarídeos en 25 g de tierra, de los cuales 95,7 % eran huevos larvados “infectantes” de *T. canis*.

Se concluye que en los patios con perras y cachorros existe el mayor riesgo de infección para el ser humano de contraer el síndrome “*larva migrans visceral*”.

Palabras claves: *Toxocara canis*, tierra, huevos larvados

2. SUMMARY

DETERMINATION OF THE RISK OF INFECTION WITH EGGS OF *Toxocara canis* IN PUBLIC PLACES AND COURTYARDS OF SINGLE-FAMILY DWELLINGS IN THE CITY OF VALDIVIA.

This study was undertaken between October 2006 and January 2007 in the city of Valdivia. Samples of soil were obtained to determine the quantity of eggs of *Toxocara canis* in order to see where there exists risk of infection of "*larva migrans visceralis*" for the human being. 10 samples of ground from public places, 10 samples of soil from courtyards with adult males dogs and 10 samples of soil from courtyards with bitches and puppies in the last 6 months were obtained.

In every sample area two trips were fixed in opposite "V", distributing in every trip, 20 places of compilation to obtain two accumulative samples of nearly 100 g of soil. Samples were processed in the Laboratory of Veterinary Parasitology of Universidad Austral de Chile with a technique to obtain quantitatively the ascarids eggs.

In public places was found, on average, 2.1 ascarids eggs in 25 g of soil, of which 2.9% were larvated eggs of *T. canis*. In the courtyards with adult (male) dogs were found, on average, 3.2 ascarids eggs in 25 g of soil, of which 1.4% were *T. canis* larvated eggs. In courtyards where inhabited bitches and puppies were found, on average, 8.6 ascarids eggs in 25 g of soil, of which 95.7% were infective eggs of *T. canis*.

It can be concluded that courtyards with bitches and pups are the most important contaminated places for human being to develop the syndrome "*larva migrans visceralis*".

Keywords: *Toxocara canis*, soil, larvated eggs.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. ANTECEDENTES GENERALES

Numerosas especies de animales han sido domesticadas y varias de ellas han adquirido el carácter de mascota. La convivencia del hombre con ellas predispone a la ocurrencia de una serie de enfermedades zoonóticas (Soulsby 1987, López y col 2005), entre las cuales, se encuentran las zoonosis parasitarias, donde los nemátodos ascarídeos son los parásitos más frecuentes (Schenone 1987).

Toxocara canis causa una de las zoonosis más comunes (Cordero del Campillo y Rojo 1999). Esto se debe a la profusa contaminación del medio con huevos de este parásito, especialmente en áreas públicas y patios de casas particulares (Vásquez y col 1996). Datos reunidos por Barriga (1988) a nivel mundial demuestran que están infectados el 99,4 % de los perros recién nacidos, alrededor del 40 % de los perros o perras menores de 6 meses y el 20 % los perros mayores de 6 meses.

T. canis es un ascarídeo que, en estado adulto, vive en el intestino delgado del perro y de varios cánidos silvestres, encontrándose masivamente en los cachorros y rara vez en los animales de edad madura. Las hembras del parásito adulto miden entre 9 y 18 cm de largo y los machos, entre 4 y 10 cm. Los huevos de *T. canis* miden entre 75 a 90 μm de diámetro, son casi esféricos y poseen inicialmente un cigoto. La cubierta externa es rugosa y granulada y consta de tres capas de las cuales las dos más externas se forman a expensas de la pared uterina del nemátodo. Ésta está compuesta de glucosamina y es de color marrón producto de sustancias biliares; es muy pegajosa y resistente a los factores ambientales y pueden mantenerse viables por varios meses e incluso por años (Salinas y col 1987, Armstrong 2003, Borchert 1964, Cordero del Campillo y Rojo 1999, Hendrix 1999, Barriga 2002). Estos huevos requieren de temperatura, humedad, oxígeno y ausencia de luz solar directa para desarrollar larvas en su interior (Acha y Szyfres 1986, Hendrix 1999). Los huevos con una larva móvil en su interior, se pueden considerar infectantes.

En los cánidos mayores a 6 meses, el parásito se encuentra mayoritariamente en forma de larvas enquistadas en algún tejido de su organismo. Estas larvas están en reposo dentro de una perra madre, activándose durante las gestaciones migrando a través de la placenta a los hígados de los fetos. Sólo después del nacimiento de los cachorros pasan por los pulmones y llegan al intestino después de ser deglutidas (Mehlhorn y col 1993). Esta infección prenatal es la más importante para el parásito porque asegura su presencia en los cachorros antes de nacer. Además, las larvas activadas pasan a la glándula mamaria de la perra y se agrega la infección láctea de los neonatos exentos de inmunidad donde maduran rápidamente a nemátodos adultos. A las 3 o 5 semanas de vida empiezan a aparecer masivamente los huevos del parásito en sus heces (Rommel y col 2000). Otro mecanismo de infección de los cachorros es cuando ingieren accidentalmente huevos infectantes (larvados) desde el medio; en esos casos

eclosionan las larvas en el estómago, pasan a la primera porción del intestino delgado donde traspasan la mucosa y por vía portal llegan al hígado, de allí siguen por la circulación a los pulmones donde traspasan los alvéolos, reptan a la faringe, son deglutidas y llegan nuevamente al intestino delgado para desarrollar los estados adultos. El promedio de vida de *T. canis* en el intestino de los cachorros es de cerca de 4 meses, luego la mayoría de los parásitos adultos son expulsados espontáneamente (Acha y Szyfres 2003). Araújo (1979) describe que se han encontrado 15.000 huevos de *T. canis* por gramo de heces. Por lo tanto, los cachorros de 3 semanas de vida hasta 6 a 7 meses de edad son la principal causa de contaminación con huevos del parásito.

Cuando un humano ingiere accidentalmente huevos infectantes, también se liberan las larvas en el tracto gastrointestinal y traspasan activamente la mucosa del intestino; de allí migran por vía linfática localizándose en hígado, pulmones y en diversos órganos como cerebro, ojos, etc. Estas larvas causan inflamaciones granulomatosas crónicas dando origen a un cuadro clínico llamado “síndrome de larva migrante visceral” prevalente mayoritariamente en niños. Cuando la localización es en el cerebro o los ojos, la sintomatología puede ser causar epilepsia y ceguera respectivamente (Barriga 1988, 2002).

Numerosos autores (Woodruff y col 1981, Snow y col 1987, Sommerfelt y col 1992, Uga 1993, Costa-Cruz y col 1994, O’Lorcain 1994, Uga y Kataoka 1995), aislaron huevos de *Toxocara* en muestras de tierra y/o arena procedentes de calles o lugares de recreación en distintas ciudades del mundo, encontrando entre el 0,3 % y 87 % de esos lugares positivos a huevos del parásito. En otros estudios similares a nivel mundial se encontraron prevalencias bajas, de 5 % a 20 % (Dubin y col 1975, Pegg 1975, Viens 1977, Barriga 1988, Fonrouge y col 2000); prevalencias medianas, de 21 % a 50 % (Borg y Woodruff 1973, Dada y Lindquist 1979, Bozdech 1981, Deumer 1984, Toledo y col 1994, Velarde y col 1999, Mizgaska 2001) y prevalencias altas, de 51 % a 92 % (Düwel 1984, Uga 1993, Ruiz de Ybáñez y col 2001, Canese y col 2003).

La alta prevalencia de *Toxocara* en cachorros de perros, el gran número de huevos que eliminan y su gran resistencia al medio ambiente, fundamentalmente prados y pisos de tierra con cierto grado de humedad, favorecen su supervivencia y contribuyen a la contaminación del suelo, es la principal fuente de infección para los niños (Acha y Szyfres 2003, De la Fé Rodríguez y col 2006).

3.2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

En Chile, se han realizado estudios para determinar la presencia de huevos de *T. canis*, en lugares públicos. Salinas y col (1987) examinaron 28 muestras de tierra de diferentes áreas públicas en la ciudad de Santiago, encontrando un 10,7 % de muestras positivas. Una cifra similar fue encontrada por Armstrong (2003) en parques y plazas públicas de la ciudad de Temuco en donde se detectó una prevalencia de huevos de *T. canis* de un 12,4 %. Por otro lado Castillo y col (2000), describen que 13,5 % de las muestras fecales de perros encontradas en 84 plazas y 12 parques públicos en la ciudad de Santiago estaban positivas a huevos de

Toxocara. Estos resultados coinciden, en cierta medida, con las prevalencias encontradas en perros de la misma ciudad, Arias (1944), por ejemplo, describe *T. canis* en 25 % de 64 animales estudiados, Neghme y col (1955) 15,2 % de 1008 y Alcaíno y Tagle (1970) 23,2 % de 1505 muestras.

En Valdivia, Sanhueza (2004) y Vargas (2005), recolectaron heces de perros, obteniendo prevalencias de huevos de *T. canis* de 8,3 % y 12,7 % respectivamente. Torres y col (1974) y Oberg y col (1979) realizaron necropsias de perros en donde se encontraron respectivamente 10,7 % y 13,5 % positivos al parásito. En estudios coproscópicos de poblaciones caninas ribereñas de la cuenca del río Valdivia, Torres y col (1995) señalan prevalencias de *T. canis* de 19,0 a 65,1 %.

En Santiago de Chile se encontró que la población humana adulta estaba serológicamente positiva a infección por *Toxocara* en un 8,3 % (Herskovic y Astorga 1985). En Valdivia, 3,9 % de los donantes de sangre de la ciudad y 12,1 % de los donantes provenientes de otras localidades de la provincia, mostraron anticuerpos anti- *Toxocara* (Navarrete y Rojas 1998). Esto sugiere que la infección puede estar ampliamente distribuida en el país y que tiene una importancia creciente e insospechada (Herskovic y Astorga 1985).

Para el control y la prevención de la toxocariosis canina, así como también el síndrome de larva migrante en el ser humano, es necesario determinar los lugares en que se encuentra la mayor contaminación con huevos larvados (infectantes) del parásito. Ello con el fin de informar a la población sobre la transmisión de la toxocariosis y promover la adecuada higiene personal, sobre todo en niños, quienes son los más afectados (Acha y Szyfres 2003, Castillo y col 2001). A ello debe agregarse una campaña sobre tenencia responsable de mascotas y otra que apunte a disminuir la población de perros vagos (Acha y Szyfres 2003).

Llama la atención que la mayoría de los trabajos no detallan la técnica mediante la cual se procesaron las muestras de tierra y sólo en algunos se menciona la forma en que se tomó la muestra. En el laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Austral de Chile se procedió primero a buscar bibliográficamente una técnica que extrajera cuantitativamente los huevos de *T. canis* de muestras de arena o tierra y se encontró el trabajo de Horn y col (1990), que comparó 11 técnicas, obteniendo el mejor resultado aquella que recuperaba regularmente el 43,1 % de los huevos de *T. canis* que se habían agregado a muestras de arena. Por ese motivo, Sievers y col (2007^a) adaptaron y modificaron dicha técnica para extraer huevos de muestras de tierra tipo “Trumao”, que es el tipo de tierra más abundante en el Sur de Chile. Con la técnica modificada se obtuvo un 52 % de recuperación de huevos de *T. canis* en 25 g de muestras de tierra tipo trumao.

Para determinar un sistema de muestreo de tierra en diferentes áreas, Sievers y col (2007^b), compararon cuatro sistemas de muestreo con el fin de determinar el sistema más representativo. El trabajo se realizó en 12 patios de casas particulares donde habían perras y cachorros y se encontró que el 100 % de los patios estaban positivos, con un promedio de 13,1 huevos de *T. canis* en cada 25 g de tierra; adicionalmente observaron que el 93,0 % de los huevos tenían una larva visible y móvil en su interior. Paralelamente, Ellies (2007), encontró

que el 100 % de las áreas públicas de la ciudad de Valdivia estaban positivas a huevos de ascarídeos, con un promedio de 5,2 huevos por 25 g de tierra. Además, observó que el 88,5 % de los huevos no estaban larvados y que un 23,5 % del total de huevos tenía un tamaño inferior a 75 μm , correspondiendo presumiblemente a huevos de *Ascaris lumbricoides*, que tienen un tamaño que fluctúa entre los 45 y los 75 μm (Acha y Szyfres 2003).

Tagle (1962), Alcaíno y Tagle (1970), Salinas y col (1987) señalan que la población humana con mayor riesgo de adquirir el síndrome de larva migrante visceral es aquella que posee animales domésticos o que visita frecuentemente parques y jardines públicos, en donde deambulan perros vagos. Sin embargo, por lo anteriormente expuesto, es más probable que el mayor riesgo de infección no es justamente en los lugares públicos sino en los patios de las casas donde son criados.

Hipótesis: La carga parasitaria con huevos infectantes de *T. canis*, acopiada del suelo será significativamente mayor en los patios de casas particulares con perras y cachorros que en los patios con perros machos adultos y los lugares públicos.

Objetivos:

- Determinar la cantidad de huevos de ascarídeos en la tierra de las siguientes áreas: a) lugares públicos, b) patios de casas particulares con perros machos adultos y c) patios de casas particulares en las que habitan perras con cachorros.
- Determinar el tamaño de los huevos de ascarídeos encontrados.
- Determinar el grado de desarrollo de los huevos de ascarídeos encontrados.
- Comparar los resultados obtenidos en los tres tipos de áreas.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la ciudad de Valdivia entre octubre del 2006 y enero del 2007, donde se ubicaron 10 casas particulares en las cuales había perras que tenían o habían tenido cachorros en los últimos 6 meses, 10 casas en las que había perros (machos) adultos y 10 áreas públicas, ya sean plazas o plazuelas distantes hasta aprox. 100 m de las casas muestreadas. De cada patio y de cada lugar público se obtuvieron dos muestras acumulativas lo que hace un total de 60 muestras de tierra.

4.1. Materiales

4.1.2 Materiales para la recolección de tierra:

Huinchas de medir 30 m por 1/2" Redline.
Banderitas para marcar los 20 puntos de recolección
Una cuchara metálica.
Bolsas de plástico (Europlas ®).
Guantes de latex

4.1.3. Materiales de Laboratorio:

Silicona (Kit®, Spray)
3 Cedazos metálicos de 2 y 1 mm. (Cernidores Ilko ®)
1 cernidor de 600 µm (Cernidor Endecotts)
Balanza electrónica (Sartorius 1413)
Bolsas de plástico (Europlas ®).
8 Tubos de centrifuga de 100 ml
8 Baquetas de vidrio
Sulfato de Zinc Heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)
Microscopio óptico

4.2. Métodos:

4.2.1. Toma de muestras de tierra:

Las muestras de tierra de patios se recolectaron mediante el sistema determinado por Sievers y col (2007^b), que consiste en medir el sector en donde mayoritariamente deambularan los perros y luego distribuir 20 puntos de recolección sobre dos recorridos en "V" contrapuestos (Anexo 1). En cada uno de los 20 puntos se obtuvieron aprox. 5 g de tierra superficial con una cuchara metálica, acumulándose cerca de 100 g en cada recorrido en "V". Las dos muestras acumulativas de tierra se almacenaron en bolsas de plástico autosellables siliconizadas y respectivamente identificadas. Cada lugar público se midió para poder dividirlo

en 16 partes iguales tomando un dieciseisavo al azar que pudiera ser muestreado, luego se aplicó el mismo sistema antes señalado. Las muestras se trabajaron en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Austral de Chile.

4.2.2. Procesamiento de las muestras de tierra:

Las 60 muestras se procesaron mediante la técnica de Horn y col (1990) modificada por Sievers y col (2007^a). Como indicación básica general, todo el material de plástico, metal o vidrio que entra en contacto con las muestras de tierra que presumiblemente contienen huevos de ascarídeos, debe rociarse con una leve capa de silicona, para impedir que se adosen los huevos.

Luego, para uniformar las muestras de tierra, se utilizaron 3 cedazos metálicos con aberturas de malla de 2 y 1 mm, para separar las partes gruesas (piedras, residuos vegetales, etc.) y, por último, por un cernidor de 600 μm (Cernidor Endecotts) para uniformar el tamaño de las partículas. De la tierra cernida se pesan 25 g con una balanza electrónica y se introducen en bolsas de plástico autosellables de 10 x 16 cm (Europlas®). Luego, las muestras se procesaron de la siguiente forma:

Paso 01. A cada bolsa con 25 g de tierra se agregó 75 ml de solución de detergente industrial aniónico ácido (Quix®) preparado previamente (8,3 ml detergente en 500 ml de agua).

Paso 02. Las bolsas se sellaron, dejando en su interior una pequeña cantidad de aire.

Paso 03. Se lavaron las bolsas en una lavadora automática doméstica durante tres ciclos de cinco minutos, programada en la función “lavado de lana”. Para proteger las bolsas en el proceso de lavado, se introdujeron las bolsas en una malla.

Paso 04. El contenido de cada bolsa se vació en un tubo de centrífuga de 100 ml, ayudándose de una pipeta con agua y para dejar que desapareciera la espuma formada se dejó reposar aprox. 30 minutos. Luego, con una cucharilla o baqueta se homogenizó el contenido en forma manual.

Paso 05. Se centrifugó 3 minutos a 750 G, y luego se extrajo el sobrenadante mediante una bomba de vacío.

Paso 06. Al sedimento se agregó una solución de Sulfato de Zinc (densidad 1,38 a 25° C) y nuevamente se homogenizó con una cucharilla en forma manual.

Paso 07. Se dejó reposar 15 minutos para que flotaran los huevos de ascarídeos.

Paso 08. Sobre el borde del tubo de centrífuga, se colocó un portaobjetos y se llenó el tubo con la solución de Sulfato de Zinc hasta que llegue al portaobjetos al cual se adhieren los huevos.

Paso 09. Pasados 30 minutos se extrajo mediante una pipeta parte de la suspensión del fondo del tubo de precipitado hasta que se desprendió el menisco del portaobjetos.

Paso 10. Se alzó e invirtió el portaobjetos, donde debían encontrarse adheridos los huevos de ascarídeos, y se cubrió la muestra con un cubreobjetos.

Paso 11. Se colocó un segundo portaobjetos y se llenó nuevamente el vaso con solución de Sulfato de Zinc, para obtener una segunda flotación de los huevos.

Paso 12. Las 2 preparaciones se observaron al microscopio óptico (100 x). Se contaron y midieron los huevos encontrados que se expresaron en "huevos por 25 g de tierra" (h/25gt).

Información adicional: Se elaboraron 2 tipos de fichas una para patios en donde habitaban hembras y cachorros y otra para patios donde habitaban machos adultos, en las cuales se consultó según correspondiera (Anexo 2 y 3):

- a) N° de perros
- b) Edad de los perros
- c) Control antiparasitario
- d) Acceso a calle
- e) Observación de heces en el patio
- f) N° pariciones
- g) Presencia de cachorros
- h) Presencia de niños en las casas y edad

4.3. Análisis de los resultados

El análisis de los datos se realizó con el programa Statistix 8 (2003). Se verificó la normalidad de los datos mediante el test de Shapiro Wilk y la homoscedasticidad de varianzas con el test de Bartlett aplicado a cada área muestreada. Los datos crudos no cumplieron los supuestos para utilizar estadística paramétrica, por lo que los promedios de los huevos se transformaron a logaritmo, y aun así no se cumplió la normalidad y homoscedasticidad. Por lo tanto se utilizó análisis estadístico no paramétrico sometiendo los datos al test de Kruskal Wallis para evaluar las diferencias en el promedio de huevos de las 3 áreas en cuestión. Lo mismo se realizó para establecer las diferencias entre los huevos larvados de cada una de las áreas muestreadas.

5. RESULTADOS

Se acopiaron un total de 60 muestras de tierra, de las cuales 53 (88,3 %) resultaron positivas a huevos de ascarídeos. El total de huevos encontrados en cada área fue de 41, 64 y 172 para lugares públicos, patios con perros (machos) adultos y patios con perras, respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1

Cantidades de huevos de ascárides recuperados de 25 g de tierra en 10 lugares públicos (plazas), 10 patios con perros adultos y 10 patios con perras y sus cachorros.

N° Muestras	Lugares Públicos		Huevos/25gdt Patios con perros		Patios con perras	
	a	b	a	b	a	b
1	2	2	3	9	2	2
2	1	3	4	1	9	1
3	3	2	1	2	10	8
4	0	1	9	5	3	0
5	4	0	5	2	0	0
6	1	3	1	4	32	20
7	2	2	2	4	1	3
8	3	0	3	2	4	0
9	2	3	1	3	15	57
10	3	4	1	2	2	3
Total	41		64		172	
Prom.	2,1		3,2		8,6	
D.E.	1,2		2,3		14,0	
Q1	1,0		1,8		1,0	
Mediana	2,0		2,5		3,0	
Q3	3,0		4,0		9,3	

a y b = Muestras acumulativas de cada uno de los sitios muestreados

Prom. = Promedio

D.E. = Desviación estándar

Q1 = Cuartil 1

Q3 = Cuartil 3

En la Tabla 1 se puede observar que, en promedio, la mayor cantidad de huevos se encontró en patios con perras y cachorros (8,6 hp25gt), destacándose 3 de los 10 patios analizados, y la menor cantidad en lugares públicos (2,1 hp25gt), no obstante, al efectuar la comparación de cantidades de huevos existentes en las 3 áreas muestreadas (método Kruskal – Wallis), no se detectaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$), lo que se puede corroborar al observar y comparar las medianas.

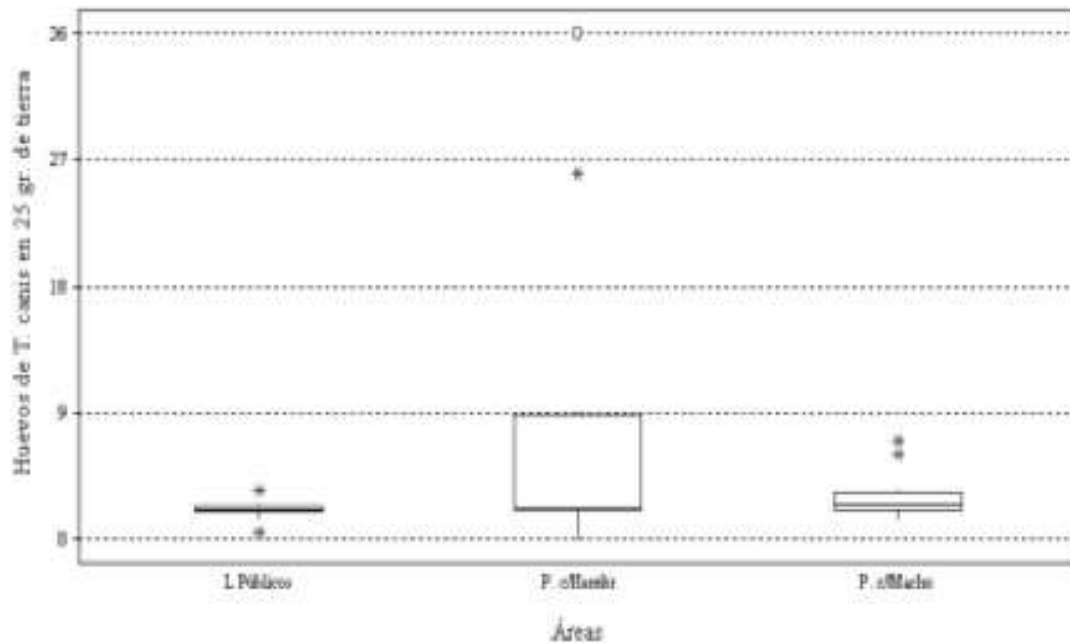


Figura 1: Análisis descriptivo mediante gráfico de cajas y bigotes donde se señala la cantidad de huevos de *T. canis* recuperados en 25 g de tierra (hp25gt) de las 30 muestras obtenidas de las diferentes áreas muestreadas.

o = valores atípicos

* = valores extremos

El análisis indicó que no hubo diferencia significativa ($p > 0,05$) al comparar las medianas de las áreas muestreadas en lugares públicos, patios con perras y cachorros y patios con perros machos adultos (Figura 1).

Tabla 2

Tamaño promedio y porcentaje (%) de los 277 huevos encontrados en muestras de tierra en las tres áreas estudiadas

Áreas estudiadas	Tamaño	
	45 – 75 μm	75 – 90 μm
Lugares públicos	4	37
Patios con perros	1	63
Patios con perras	3	169
Totales	8	269
%	2,9	97,1

97,1 % de los huevos medían entre 75 y 90 μm y sólo 2,9 % fueron de menor tamaño (Tabla 2).

Tabla 3

Grado de desarrollo de los 277 huevos de diferente tamaño encontrados en muestras de tierra de las áreas muestreadas de la ciudad de Valdivia.

Áreas estudiadas	Tamaño y desarrollo			
	45 – 75 μm no larvados	larvados	75 – 90 μm no larvados	larvados
Lugares públicos	4 (50,0 %)	0	33 (25,4 %)	4 (2,9 %)
Patios con perros	1 (12,5 %)	0	61 (46,9 %)	2 (1,4 %)
Patios con perras	3 (37,5 %)	0	36 (27,7 %)	133 (95,7 %)
Totales	8 (100 %)	0	130 (100 %)	139 (100 %)

En relación al grado de desarrollo de los huevos encontrados (Tabla 3), hubo diferencia significativa ($p < 0,05$) entre la cantidad de huevos larvados (infectantes) hallados en los patios con hembras y cachorros (95,7 %), comparado con los encontrados en lugares públicos (2,9 %) y patios con perros adultos (1,4 %).

6. DISCUSIÓN

Lo que respalda y valida los resultados obtenidos son estudios similares realizados en la ciudad de Valdivia, en donde Sievers y col (2007^a), probó la técnica cuantitativa de extracción de huevos de *T. canis* de muestras de tierra tipo “Trumao”, extrayendo 52 % de éstos agregados previamente a las muestras. De la misma manera, Sievers y col (2007^b) y Ellies (2007), probaron el sistema de muestreo por el cual recupera cerca del 100% de los huevos de un área a muestrear, comprobando su sensibilidad y representatividad.

En el presente trabajo, al comparar el número de huevos *T. canis* hallados en las 3 áreas muestreadas, se observó que las áreas públicas fueron las menos contaminadas, que en promedio, no sobrepasaron los 2,1 huevos en 25 g de tierra por área (Tabla 1). Sin embargo, se encontraron huevos en el 100 % de las muestras coincidiendo con lo descrito por Ellies (2007). Al revisar otras publicaciones, se mencionan porcentajes de áreas positivas que van desde 13,2 % en Buenos Aires (Fonrouge 2000), al 92 % descrito en Japón (Uga 1993). Esta gran dispersión puede deberse al método utilizado, pues la mayoría de los trabajos no definen una técnica específica para la extracción de huevos de *T. canis*, ni mencionan un respaldo que certifique la sensibilidad de éste. Fuera de ello no mencionan el sistema utilizado para obtener las muestras de tierra en las áreas a estudiar.

En relación a los patios con machos, no se encontraron estudios similares, por lo que se asocian los hallazgos de huevos al ciclo del parásito, el cual indica que en perros infectados mayores de 3 meses, las larvas mayoritariamente no traspasan los alvéolos pulmonares y prosiguen con la migración somática, quedando cada vez mas larvas enquistadas en los diversos tejidos sistémicos sin llegar a formar los adultos en el intestino. Esto se puede asociar a la baja cantidad de huevos de *T. canis* encontrados mayoritariamente sin larvas en su interior (96,8 %), que se encontró en los patios en que se mantenían los perros machos (Tabla 3). Es muy posible que se trate de huevos que en algún momento fueron eliminados por los perros, porque si bien normalmente no albergan parásitos adultos en su intestino, ello no es una situación absoluta (Acha y Szyfres 2003). Además, es posible que los huevos daten del tiempo en que el perro haya tenido menos edad pues en todos los patios analizados sólo habitaban perros mayores a 2 años (Anexo 2).

En cuanto a las cantidades de huevos encontrados en patios de hembras con cachorros, se observó que el 90 % de las muestras estaban positivas, lo que concuerda en gran medida con Sievers y col (2007^a), que encontró el 100 % de muestras positivas. El que se haya encontrado sólo el 90 % de los patios positivos se puede explicar dado que en el patio N° 5 (anexo 3) se realizó desparasitación tanto a la madre gestante como a los cachorros a los 15 días después del parto y sólo en este patio no se observaron huevos; lo que coincide con Barriga (1991), Boch y Supperer (1982) y Cordero del Campillo y Rojo (1999), quienes indican que lo más adecuado es desparasitar a los cachorros antes de las 3 semanas de vida, repitiéndolo a las 4, 6 y 8 semanas para evitar la reinfección por leche materna.

Si esto se compara con las otras áreas, hubo cuatro veces más huevos que en las áreas públicas y casi tres veces más que en patios con machos (Tabla 1), a pesar de que estadísticamente no hubo diferencia ($p > 0,05$) entre ellos. Si bien 3 de los 10 patios muestreados presentaron altos valores, éstos no se reflejarían como tal al hacer la comparación a través de las medianas de cada área, pues ésta no es tan sensible a los valores extremos obtenidos (Figura 1).

Otro hallazgo de importancia es el tamaño de los huevos encontrados, que para *T. canis* va desde 75µm a 90µm (Cordero del Campillo y Rojo 1999). Sin embargo, en las 3 áreas muestreadas se encontraron huevos de menor tamaño que variaron entre 45 y 75 µm (Tabla 2). Según este tamaño, los huevos diagnosticados corresponderían a *Ascaris lumbricoides*, hallazgo que también observó Ellies (2007) en un 23,5 %. En este estudio fue en las áreas públicas donde se encontró un mayor porcentaje (9,8 %), seguido por los patios de hembras con cachorros (1,7 %) y, por último, los patios con machos (1,6 %), lo que indicaría contaminación fecal humana en las 3 áreas muestreadas, demostrando la falta de higiene tanto en los lugares públicos como en los patios muestreados.

Lo importante de destacar del presente estudio es que (95,7 %) de los huevos encontrados en patios con perras y cachorros se encontraban larvados “infectantes”, lo que se diferencia significativamente ($p < 0,05$) de los lugares públicos y patios con perros (machos) adultos. Esto es debido a la presencia de cachorros menores de 6 meses que son la principal fuente de contaminación (Barriga 1991, Sievers y col 2007^b). Otro factor que influye en el alto porcentaje de huevos larvados, es el inadecuado o nulo manejo antiparasitario que, cuando se llegaba a realizar, lo hacían sólo a las hembras y no a los cachorros (Anexo 3). En el patio N° 9 se encontró la mayor parte de los huevos larvados (Anexo 3), y al asociar ese hallazgo con la información adicional obtenida, se pudo relacionar que los cachorros habían muerto días después de nacer; ello pudo deberse a una infección masiva por *T. canis*. Al respecto Boch y Supperer (1982) citan que los cachorros infectados por vía prenatal, pueden morir los primeros días de vida.

Según Lamina (1974), la salud humana se vería afectada cuando más de un 7 % de los lugares públicos están positivos a huevos de *T. canis*. Si se considera este supuesto, todas las áreas muestreadas, serían de altísimo riesgo, sin embargo, esto no es así al menos en lugares públicos y patios con perros (machos) adultos, ya que Lamina (1974) no especifica si los huevos estaban o no larvados, por lo que su estudio no tendría mucha validez dado que estos lugares pueden ser positivos a huevos de *T. canis* pero pueden no estar larvados y, si es así, no habría mayor riesgo de infección. Es por eso que en el presente estudio se determinó, además de la cantidad de huevos, el tamaño y, lo más importante, su grado de desarrollo. Con estos datos, se puede asegurar que, las áreas con mayor riesgo de infección son los patios en donde habitan perras y sus cachorros, puesto que es en éstos, donde existe el mayor porcentaje de huevos larvados (Tabla 3) y de mas cuidado aún observando que en esos hogares hay un 70% de niños que cohabitan con sus mascotas (Anexo 3).

De la Fé Rodríguez y col (2006), mencionan que 2,1 huevos viables de *Toxocara* por cada 5 g de suelo representan un alto riesgo de infección para el ser humano. En el presente

estudio se encontró un promedio 13,3 huevos larvados por cada 25 g de tierra en los patios de hembras con cachorros (Tabla 3), lo que significa que hubo 2,7 huevos por 5 g de tierra. Por esta misma razón, se puede decir con certeza que los lugares públicos no presentan mayor riesgo (Tabla 3), coincidiendo con Ellies (2007), que encontró en 30 áreas públicas de Valdivia, un promedio de 5,2 huevos de ascárides por 25 g de tierra de los cuales sólo 11,5 % estaban larvados. En los patios donde se encontraban perros machos adultos se encontró el menor riesgo de infección para el ser humano.

El fin de este estudio es entregar antecedentes, tanto a las autoridades sanitarias del país, como a la población general, del riesgo existente de contraer el síndrome *larva migrans visceral*, sobre todo en niños. De esa forma se pueden tomar las medidas preventivas realizando campañas masivas de información sobre este parásito, y sobre los cuidados a tener con las mascotas más aún si están dentro del hogar. Las principales recomendaciones son: un constante control médico veterinario con un diagnóstico previo y un manejo de dosificación de antiparasitarios adecuado a los cachorros, ya que son el mayor foco de contaminación. Además, poner énfasis en la educación higiénica de los niños y la población en general en relación a la tenencia responsable de mascotas y la eliminación adecuada de sus heces en el hogar o en lugares públicos.

CONCLUSIONES:

Los lugares de mayor riesgo de infección de *T. canis* se encuentran en los patios de casas particulares con perras y cachorros sin manejo antiparasitario.

Los patios donde se encontraban perros machos adultos representan el menor riesgo de infección para el ser humano.

7. BIBLIOGRAFIA

- Acha P, B Szyfres. 1986. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales. O.P.S., Washington DC, Publicación Científica.
- Acha P, B Szyfres. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. O.P.S., Washington DC, Publicación Científica. 580, 305-311.
- Alcaíno H, I Tagle. 1970. Estudio sobre enteroparasitosis del perro en Santiago. *Bol Chil Parasitol.* 25, 5-8.
- Araújo P. 1979. Observacoes pertinentes a primeiras ecdice de larvas a *Ascaris lumbricoides*, *A. suum* e *Toxocara canis*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 14, 33-90.
- Arias J. 1944. Contribución al estudio de los metazoos parásitos del perro. *Agri Tec* 4, 59-71.
- Armstrong W. 2003. Presencia de parásitos de perro (*Canis familiaris*) en parques y plazas públicas de la ciudad de Temuco, IX Región, Chile. *Tesis M.V.*, Escuela de Acuicultura y Ciencias Veterinarias, Universidad Católica de Temuco, Chile.
- Barriga O. 1988. A critical look at the importance, prevalence and control of toxocariasis and the possibilities of immunological control. *Vet Parasitol* 29, 195–234.
- Barriga O. 1991. Rational control of canine toxocariasis by the Veterinary practitioner. *J Am Vet Med Assoc* 198, 216–221.
- Barriga O. 2002. Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos en la América Latina. Editorial Germinal, Santiago, Chile, Pp 118-122.
- Boch J, R Supperer. 1982. Parasitología en Medicina Veterinaria. Editorial Hemisferio Sur S.A, Madrid, España.
- Borchert A. 1964. Parasitología Veterinaria. Editorial Acribia, Zaragoza, España. Pp 220-229.
- Borg O, A Woodruff. 1973. Prevalence of infective ova of *Toxocara* species in public places. *Br Med J* 4, 470-472.
- Bozdech V. 1981. Zur Larven-Toxocarose des Menschen. Eifunde in Prager Parkanlagen. *Angew Parasitol* 22, 71-77.

- Canese A, R Domínguez, C Otto, C Ocampos, E Mendonca. 2003. Huevos infectivos de *Toxocara*, en arenas de plazas y parques de Asunción, Paraguay. *Rev Chil Pediatr* 74, 611-616.
- Castillo D, C Paredes, C Zañartu, G Castillo, R Mercado, V Muñoz, H Schenone. 2000. Contaminación ambiental por huevos de *Toxocara sp.* en algunas plazas y parques públicos de Santiago de Chile. *Bol Chil Parasitol* 55, 86-91.
- Castillo Y, H Bazan, D Alvarado, G Sáez. 2001. Estudio epidemiológico de *Toxocara canis* en parques recreacionales del distrito de San Juan de Lurigancho, Lima- Perú. *Parasitol al Día* 25, 109-114.
- Cordero del Campillo M, F Rojo. 1999. Parasitología Veterinaria. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana, Madrid, España. Pp 636-642.
- Costa-Cruz J, R Nunes, A Buso. 1994. Presença de ovos de *Toxocara spp* em praças públicas da cidade de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. *Rev Inst Med trop Sao Paulo*. 36, 39-42.
- Dada B, W Lindquist. 1979. Prevalence of *Toxocara sp.* eggs in some public grounds and highway rest areas in Kansas. *J Helminthol* 53, 145-146.
- De la Fé Rodríguez, B Duménigo, E Brito, J Aguiar. 2006. *Toxocara canis* y Síndrome Larva Migrans Visceralis. *Redvet* 7, 8-12.
- Deumer R. 1984. Untersuchungen über den Endoparasitenbefall von Hunden in München. Die Kontamination von öffentlichen Sandspielplätzen mit parasitären Entwicklungsstadien und ihr Verhalten gegenüber Umwelteinflüssen. Tesis *Dr. med. vet.* Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania.
- Dubin S, S Segall, J Martindale. 1975. Contamination of soil, in two city parks with canine nematode ova including *Toxocara canis* a preliminary study. *Am J Public Health* 65, 1242-1245.
- Düwel D. 1984. The prevalence of *Toxocara* eggs in the sand in children's playgrounds in Frankfurt. *J Am Vet Med Assoc* 174, 1208-1210.
- Ellies S. 2007. Determinación de la contaminación del suelo de áreas públicas de la ciudad de Valdivia con huevos de ascárides. *Memoria de Título*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Fonrouge R, M Guardis, N Radman, S Archelli. 2000. Contaminación de suelos con huevos de *Toxocara sp.* en plazas y parques públicos de la ciudad de la Plata. Buenos Aires, Argentina. *Bol Chil Parasitol* 55, 83-85.

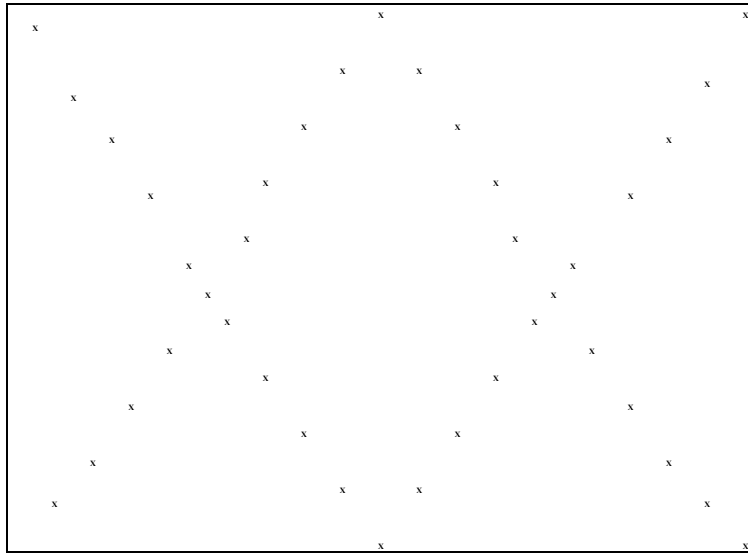
- Hendrix C. 1999. Diagnóstico Parasitológico Veterinario. Editorial Harcourt Brace, Madrid, España.
- Herskovic P, B Astorga. 1985. Toxocariasis humana en Chile. *Rev Med Chile* 113, 18-22.
- Horn K, T Schnieder, M Stoye. 1990. Quantitative comparison of various methods for detecting eggs of *Toxocara canis* in samples of sand. *J Vet Med* 37, 241-250.
- Lamina J. 1974. Inmunodiagnosis of “visceral larva migrans” in man. Soulsby E.J.L. Parasitic Zoonosis. Clinical and Experimental Studies. *Academic Press Inc.* New York.
- López F, A Chávez, E Casas. 2005. Contaminación de los parques públicos de los distritos de Lima oeste con huevos de *Toxocara* sp. *Rev Inv Vet Perú.* 16, 76-81.
- Mehlhorn H, D Düwel, W Raether. 1993. Manual de parasitología veterinaria. Editorial. Grass-Iatros, Bogotá, Colombia.
- Mizgaska H. 2001. Eggs of *Toxocara spp.* in the environment their public health implications. *J Helminthol* 75, 147-151.
- Navarrete N, E Rojas. 1998. Seroprevalencia de toxocarosis en donantes de sangre. *Arch Med Vet* 30, 153-156.
- Neghme A, G Rivera, M Álvarez. 1955. Algunas zoonosis parasitarias en perros vagos de la ciudad de Santiago. *Bol Chil Parasitol* 10, 73-75.
- Oberg C, R Franjola, V Leyán. 1979. Helminthos del perro doméstico (*Canis familiaris*) en la ciudad de Valdivia, Chile. *Bol Chil Parasitol* 34, 21-26.
- O’Lorcain P. 1994. Prevalence of *Toxocara canis* ova in public playgrounds in the Dublin area of Ireland. *J Helminthol* 68, 237-241.
- Pegg J. 1975. Dog roundworms and public health. *Vet Res* 97, 78.
- Rommel M, J Eckert, E Kutzer, W Körting, T Schnieder. 2000. Veterinärmedizinische Parasitologie. Begründet von Josef Boch und Rudolf Supperer. 5. Aufl. Buchverlag Parey Berlin, Deutschland.
- Ruiz de Ybáñez M, M Garijo, F Alonso. 2001. Prevalence and viability of eggs of *Toxocara spp.* and *Toxascaris leonina* in public parks in eastern Spain. *J Helminthol* 75, 169–173.

- Salinas P, L Reyes, M Sotomayor, T Letonja. 1987. Prevalencia de huevos de *Toxocara* sp. en algunas plazas públicas de la Región Metropolitana de Santiago, Chile. *Bol Chil Parasitol* 42, 33-36.
- Sanhueza D. 2004. *Toxocara canis* y otros parásitos en heces de perro colectadas en la Avenida costanera de la ciudad de Valdivia. *Seminario de Título*, Escuela de Tecnología Médica, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Schenone H. 1987 Parasitosis humana que pueden ser causadas o transmitidas por mascotas domésticas en Chile. *Bol Chil Parasitol* 42, 16-22.
- Sievers G, C Concha, P Gädicke. 2007 ^a. Prueba de una técnica para recuperar huevos de *Toxocara canis* de muestras de tierra. *Parasitol Latinoam* 62, 61-66.
- Sievers G, A Amenábar, P Gädicke. 2007 ^b. Comparación de cuatro sistemas de muestreo de tierra para determinar contaminación de áreas con huevo de *Toxocara canis*. *Parasitol Latinoam* 62, 67-71.
- Snow K, S All, J Bewick. 1987. Prevalence of *Toxocara* species eggs in the soil of five east London parks. *Vet Rec* 120, 66-67.
- Software Statistix 8. 2003. Start Soft Cop OK, Windows 2000.
- Sommerfelt I, O Degregorio, M Barrera, G Gallo. 1992. Presencia de huevos de *Toxocara* spp. En paseos públicos de la ciudad de Buenos Aires. *Rev Méd Vet*. Buenos Aires 73, 71-73.
- Soulsby E.J.L. 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7^a edición. Nueva Editorial Interamericana S.A. México, D.F.
- Tagle I. 1962. Importancia del género *Toxocara*, en la producción del síndrome “larva migrans visceral”. *Bol Chil Parasitol* 17, 77-79.
- Toledo C, F Hernández, A Remiro, P Arévalo, J Piñero, B Valladares. 1994. La contaminación parasitaria de parques y jardines como problema de salud pública. Datos de la isla de Tenerife. *Rev San Hig Púb* 68, 617-622.
- Torres P, M Ramos, L Carrasco, M Neumann, R Franjola, N Navarrete, L Figueroa. 1974. Protozoos, helmintos y artrópodos parásitos del perro doméstico en la ciudad de Valdivia, Chile. *Bol Chile Parasitol* 29, 18-23.
- Torres P, R Franjola, J Pérez, S Auad, C Hermosilla, L Flores, J Riquelme, S Salazar, J Miranda, A Montefusco. 1995. Geohelmintosis intestinal en el hombre y animales domésticos de sectores ribereños de la cuenca del río Valdivia, Chile. *Bol Chil Parasitol* 50, 57- 66.

- Uga S. 1993. Prevalence of *Toxocara* eggs and number of faecal deposits from dogs and cats in sandpits of public parks in Japan. *J Helminthol* 67, 78-82.
- Uga S, N Kataoka. 1995. Measures to control *Toxocara* egg contamination in sandpits of public parks. *Am J Trop Med Hyg* 52, 21-24.
- Vargas C. 2005. Proporción de muestras y número de huevos de *Toxocara canis* y otros helmintos en heces de perros domésticos, colectados en distintos sectores de la ciudad de Valdivia Chile. *Seminario de Título*, Escuela de Tecnología Médica, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Vásquez O, A Ruiz, I Martínez, P Merlín, J Tay, A Pérez. 1996. Contaminación de suelos por huevos de *Toxocara* sp. en parques públicos y jardines de casa-habitación de la ciudad de México. *Bol Chil Parasitol* 51, 54-58.
- Velarde J, A Chávez, E Casas. 1999. Contaminación de los parques públicos de la provincia constitucional del Callao con huevos de *Toxocara spp.* *Rev Inv Vet Perú* 10, 12-15.
- Viens P. 1977. Visceral larva migrans in Montreal: the tip of the iceberg. *Bordeaux Medical* 10, 697-698.
- Woodruff A, W Watson, L Shikara, A Azzi, A Adhami, P Woodruff. 1981. *Toxocara sp* ova in soil in the Mosul District, Iraq, and their relevance to public health measures in the Middle East. *Ann Trop Med Parasitol.* 75, 55-57.

8. ANEXOS

Anexo 1: Distribución de 20 puntos de muestreo de tierra en dos recorridos en forma de “V” contrapuestos sobre un área determinada.



Anexo 2: Resumen de fichas de cada uno de los patios muestreados en donde habitaban perros (machos) adultos.

Datos	N° de Patios (machos)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
N° de perros	1	1	1	2	1	2	1	2	1	1
Edad	3	5	2	2 y 2	12	Adultos	12	Adultos	2	8
Control antiparasitario	> 8 m	¿?	> 6 m	¿?	> 1 año	> 6 m	> 3 m	> 3 años	nunca	> 4 años
Acceso a calle	si	si	no	si	si	si	si	si	si	no
Presencia de heces	no	si	si	si	no	no	sucio	si	sucio	si
Niños < de 5 años	si	no	si	no	si	no	no	si	si	no
Prom. total de huevos por 25 g	6	2.5	1.5	7	3.5	2.5	3	2.5	2	1.5

Anexo 3: Resumen de fichas de cada uno de los patios muestreados en donde habitaban perras y sus cachorros.

Datos	N° de Patios (hembras con cachorros)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
N° de pariciones	4	4	2	2	1	2	5	1	1	1
Última parición	4 m	3 m	4 m	2 m	5 m	3 m	3 m	3 m	3 m	4 m
Cachorros presentes	no	no	si (5)	si (4)	no	si (4)	si (4)	si (1)	no *	no
Última desparasitación hembra	2 años	no	no	15 días	2 m	no	no	6 m	2 m	no
Última desparasitación cachorros	no	no	no	no	2 m	no	no	no	no	no
Acceso a calle	si	si	campo	campo	no	no	no	no	no	si
Presencia de heces	si	si	si	si	si	si	si	no	si	si
Niños < 5 años	si	no	si	si	no	si	no	si	si	si
Prom. total de huevos por 25 g	2	5	9	1.5	0	26	2	2	36	2.5

* Muerte de todos los cachorritos pocos días después de nacer.

9. AGRADECIMIENTOS

Agradezco especialmente a mis padres y mis hermanas que han estado conmigo incondicionalmente, entregándome su apoyo comprensión y cariño en todo momento, gracias por todo, los amo mucho.

A ti Hijita que me has dado la fuerza para levantarme una y otra vez y seguir luchando, gracias por despertarte junto a mi cada día.

A mi profesor patrocinante Dr. Gerold Sievers, quien con mucha paciencia me acogió y orientó.

Al Dr. Valenzuela, por estar siempre dispuesto a escuchar y prestar ayuda.

Como no agradecer a Don Beli, por su compañía y ayuda en esas largas tardes en el laboratorio.

A ti Gonzalo, a tu mamá y la Katy, por colaborarme en esta importante etapa de mi vida.

Y por supuesto a todas esas personas que llenaron mi vida de momentos inolvidables en la universidad, mis amigos, que siempre han estado presente, con los cuales hemos pasado penas y alegrías, carretes y noches de estudio, gracias por estar siempre...”ustedes saben”... los quiero mucho: Lalo, Delia, Claudias (T. M. T.), Sussy, Carola, Javi, Jorge, Pancho, Andrés, Alejandra, Margarita, Mónica, Víctor, Steffy,... etc.