

Rev Biomed 2007; 18:37-45.

Angiostrongiliasis abdominal: notas sobre el diagnóstico.

Revisión

Elizabeth Abrahams-Sandí.

Servicio de Patología, Hospital San Juan de Dios, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

RESUMEN.

La angiostrongiliasis abdominal, causada por *Angiostrongylus costaricensis*, es una entidad clínica caracterizada por dolor abdominal localizado usualmente a nivel de la fosa iliaca derecha, acompañado en algunos casos de una masa tumoral, dolorosa a la palpación, que puede llegar a confundirse con un proceso maligno. Debido a la inespecificidad de los síntomas, esta parasitosis también es confundida a menudo con un cuadro de abdomen agudo. Mientras que en países como Brasil y Costa Rica se habla de prevalencias de hasta un 28% y de 600 casos por año, respectivamente, en el resto de Latinoamérica se desconoce la prevalencia e incidencia real de esta parasitosis y para algunos sigue siendo una enfermedad “exótica”. Ante la imposibilidad de un diagnóstico coparazitológico de la infección en el ser humano, se ha buscado como alternativa el desarrollo de técnicas inmunológicas para la detección de anticuerpos en el suero de personas

infectadas. Es así como la utilidad de diferentes antígenos en el diagnóstico inmunológico ha sido evaluada a través de técnicas como ELISA, Western Blot e inmunofluorescencia. Dentro de estos antígenos se incluyen los extractos somáticos crudos de formas larvales y formas adultas, antígenos de excreción-secreción, fracciones de bajo peso molecular y, más recientemente, antígeno de huevecillos. Adicionalmente, ya se ha iniciado la incursión en el campo de la biología molecular con las primeras pruebas que incluyen el diseño de “primers” para la identificación de ADN del parásito en el suero de pacientes sospechosos. Esta revisión compila los resultados de estos estudios y enfatiza la necesidad de seguir trabajando en el desarrollo de una prueba diagnóstica que permita esclarecer el impacto real de la angiostrongiliasis abdominal en el campo de la salud pública en Latinoamérica. (*Rev Biomed 2007; 18:37-45*)

Palabras clave: Angiostrongiliasis abdominal, diagnóstico.

Solicitud de sobretiros: Elizabeth Abrahams Sandí. Servicio de Patología, Hospital San Juan de Dios, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

*Correo electrónico: eabraham@cariari.ucr.ac.cr Teléfono (506) 207-4277; Fax (506) 225-2374.
Recibido el 8/Octubre/2006. Aceptado para publicación el 5/Marzo/2007.*

Este artículo está disponible en <http://www.uady.mx/sitios/biomedic/revbiomed/pdf/rb071815.pdf>

SUMMARY.**Abdominal angiostrongyliasis: notes on its diagnosis.**

Abdominal angiostrongyliasis, caused by *Angiostrongylus costaricensis*, is a clinical entity characterized by abdominal pain usually located in the right iliac fossa, accompanied, in some cases, by a tumor-like mass, painful to palpation, which may be confused with a malignancy. Due to the lack of specificity of the symptoms, this parasitosis may also often be confused with an acute abdomen. While in countries like Brazil and Costa Rica the reported incidence reaches up to 28% and 600 cases per year, respectively, the real prevalence and incidence of this parasitosis in the rest of Latin America is unknown, and for some countries it continues to be a rare disease. Since coproparasitological confirmation is not possible for the diagnosis of the infection in humans, an alternative tool has been the development of immunologic techniques for the detection of antibodies in the serum of infected patients. Further, the usefulness of different antigens for an immunological diagnosis has been evaluated using techniques such as ELISA, Western Blot, and immunofluorescence. Among the antigens tested are crude somatic extracts of larval and adult forms, excretion-secretion antigens, low molecular weight fractions, and, most recently, egg antigens. In the field of molecular biology, the development of primers that allow the detection of parasite DNA in the serum of suspected patients have also been reported.

This review compiles and analyzes the results of these studies, and emphasizes the need to continue working in the development of a diagnostic test that can elucidate the real impact of abdominal angiostrongyliasis on public health in Latin America. (*Rev Biomed* 2007; 18:37-45)

Key words: Abdominal angiostrongyliasis, diagnosis.

INTRODUCCIÓN.

Angiostrongylus costaricensis es un nematodo parásito de la superfamilia Metastrongyloidea, descrito por primera vez en la región ileocecal de un niño costarricense (1). Se le considera el agente etiológico de la angiostrongiliasis abdominal (AA), un cuadro clínico cuyo síntoma predominante es dolor abdominal, localizado por lo general a nivel la fosa iliaca derecha y acompañado en algunos casos de una masa dura intraabdominal, dolorosa a la palpación, que puede confundirse con una masa tumoral. Con frecuencia se presenta fiebre, vómito, anorexia y otros síntomas inespecíficos, los cuales, unidos al cuadro anterior, confunden el diagnóstico con una apendicitis. Los resultados de laboratorio más importantes, asociados con la presencia del parásito, incluyen leucocitosis moderadamente elevada y eosinofilia que, en promedio, alcanza un 30-40 % (2).

En la angiostrongiliasis abdominal las zonas del intestino más afectadas son la región íleo terminal, el ciego, el apéndice y el colon ascendente, los cuales presentan por lo general inflamación, hipertrofia y necrosis. Microscópicamente se pueden observar granulomas de cuerpo extraño con infiltrado de tipo eosinofílico tanto alrededor de los huevecillos como de las larvas del parásito. La localización extraintestinal es muy rara y los hallazgos del parásito en hígado, arteria espermática y bazo han sido consideradas generalmente como localizaciones ectópicas (3-6).

Desde la descripción del parásito en 1971, son varios los casos de AA descritos en América, desde el sur de los Estados Unidos hasta Argentina. Solamente dos casos han sido reportados fuera del continente, uno en Zaire (7) y otro en España (8). Sobre este último se postula que la infección fue adquirida en Nicaragua, mientras que para el caso descrito en África, se desconoce lugar y vía de infección.

Ciclo de vida del parásito e infección en el ser humano.

En el ciclo de vida de *A. costaricensis* están

implicados como hospederos intermediarios moluscos de la familia Veronicellidae, principalmente *Vaginulus plebeius* y *Phyllocaulis variegatus* (9, 10); no obstante, se ha demostrado que *A. costaricensis* no presenta alta especificidad por este hospedero, siendo posible encontrar en la naturaleza e infectar experimentalmente en el laboratorio un sinnúmero de especies de moluscos (11, 12). El hospedero definitivo son roedores, principalmente ratas de las especies *Sigmodon hispidus*, *Rattus rattus* y *Oryzomys fulvescens*. Pequeños roedores, incluyendo a la especie *Mus musculus*, han logrado ser infectados experimentalmente en el laboratorio; sin embargo, la alta tasa de mortalidad observada en estos animales hace pensar que, desde un punto de vista epidemiológico, no constituyen una fuente importante de infección natural para el ser humano (13-15).

De acuerdo con Morera (16), el ciclo de vida de *A. costaricensis* en el hospedero vertebrado se lleva a cabo enteramente a nivel de la cavidad abdominal. Cuando un roedor ingiere las larvas de tercer estadio provenientes de la babosa, éstas penetran la pared intestinal y a nivel de los vasos linfáticos mudan dos veces hasta alcanzar su madurez sexual. Posteriormente las formas adultas atraviesan las paredes de los vasos y alcanzan su hábitat definitivo, las arterias mesentéricas. Los huevecillos depositados por las hembras a nivel de estas arterias son arrastrados, vía sanguínea, hasta los pequeños capilares, en donde se produce la eclosión y liberación de las larvas de primer estadio (L1). Finalmente, las L1 atraviesan la pared intestinal, caen al lumen y son liberadas al medio ambiente con las heces, convirtiéndose en la forma infectante para el molusco. Recientemente, algunos de los eventos del ciclo de vida de *A. costaricensis* descritos para el hospedero vertebrado han sido sometidos a una completa redesccripción (17, 18) postulando que el parásito, al igual que otros metastrongilideos, utiliza la circulación pulmonar para migrar del sistema linfático a la circulación arterial, donde permanece por algunos días antes

de alcanzar su hábitat definitivo.

Con respecto a la infección del ser humano, se dice que ésta se produce al ingerir alimentos y/o agua contaminada con la L3, o bien, cuando de manera accidental se ingiere un molusco infectado. Como lo hace en su hospedero natural, el parásito logra desarrollarse y alcanzar su madurez sexual, localizándose generalmente a nivel de arterias mesentéricas, en la región ileocecal. Debido a su condición de hospedero accidental, en el ser humano se produce una fuerte reacción inflamatoria a nivel de la pared intestinal que impide que las larvas producidas alcancen el lumen intestinal y puedan ser expulsadas con las heces al medio externo. En los casos más graves esta fuerte reacción inflamatoria, puede conducir a una perforación de la pared intestinal, que hace necesaria la intervención quirúrgica y, en algunos, casos puede incluso conducir a la muerte, llegándose a reportar en la literatura tasas de letalidad desde un 1.8% hasta un 7.4% (19). Afortunadamente, lo que ocurre con mayor frecuencia en esta parasitosis es una remisión completa y espontánea de la infección (20, 21).

Diagnóstico de la enfermedad.

En la actualidad se desconoce la prevalencia e incidencia real de la angiostrongiliasis abdominal en la mayoría de los países latinoamericanos. Mientras que para los roedores y moluscos se reportan tasas de infección con el parásito de hasta 42% y 50%, respectivamente (6, 22), los estudios publicados con respecto a la enfermedad en el ser humano son escasos. Debido a la imposibilidad de un diagnóstico coparásitológico, uno de los mayores obstáculos para la determinación de esta prevalencia ha sido la carencia de una prueba diagnóstica estandarizada para toda la región, que pueda ser utilizada de rutina en el laboratorio clínico y/o en estudios epidemiológicos. Las pocas técnicas que se han intentado implementar hasta el momento no escapan al problema de las reacciones cruzadas, o bien, sólo están diseñadas para tratar de detectar los casos agudos de la

E Abrahams-Sandí.

enfermedad. Es así como, luego de tres décadas de la descripción de esta parasitosis, un diagnóstico confirmatorio de la AA sólo es posible mediante la demostración del parásito en el material histopatológico obtenido luego de la intervención quirúrgica. Lo anterior podría estar significando un subregistro considerable en el número de casos de la enfermedad, especialmente de aquellos que cursan de forma asintomática, así como los que no ameritan cirugía.

Hasta la fecha, la mayoría de los estudios llevados a cabo en el campo diagnóstico de la AA han estado orientados hacia la búsqueda de antígenos que permitan el desarrollo de una prueba serológica con buena sensibilidad y especificidad.

El primero de estos estudios fue publicado a finales de los años setenta por Sauerbrey (23). En él se describió el desarrollo de una prueba de doble difusión en gel en la que se logró demostrar por primera vez la presencia de anticuerpos del tipo IgG en el suero de pacientes con angiostrongiliasis abdominal confirmada. La prueba empleó antígeno circulante de *A. costaricensis* presente en el suero de roedores infectados y un resultado positivo se evidenció con la formación y posterior precipitación de complejos antígeno-anticuerpo en agarosa. Una descripción detallada de la composición de este antígeno no se menciona en el artículo y solamente se refieren a éste como un componente proteico presente en el suero de las ratas, que presentó una migración electroforética más rápida que la observada para la albúmina sérica. El autor informó para la técnica una especificidad del 100%, mientras que sobre la sensibilidad no se mostraron resultados. Uno de los mayores problemas que se planteó en este trabajo fue la fuente de antígeno utilizada, ya que no en todos los animales fue posible detectar el antígeno circulante del parásito.

Para ésta misma época el Dr. Pedro Morera, a quien se le atribuye junto con el Dr. Céspedes el descubrimiento de esta parasitosis, informó del desarrollo en Costa Rica de una prueba de

“precipitación de partículas de látex”, prueba que se realizaba en menos de una hora y que indicaba, según su autor, excelentes resultados. No es sino hasta diciembre de 1987 que el mismo Dr. Morera, durante una conferencia para el VIII Congreso de Parasitología realizado en Guatemala, se refirió a ésta técnica como una prueba de “aglutinación de partículas látex” que, según el autor, contaba con una especificidad del 98.7% y una sensibilidad del 100% (20, 21). Dicho método es del tipo cualitativo y utiliza como antígeno extracto somático crudo de formas adultas del parásito. Una descripción detallada de la técnica, así como de los estudios llevados a cabo para determinar la especificidad y sensibilidad de la prueba, no han sido publicados hasta el momento y actualmente es llevada a cabo únicamente en el Hospital San Juan de Dios, en San José, Costa Rica.

Con la introducción en el laboratorio de un modelo animal experimental para la AA (24, 25), se iniciaron los estudios sobre la cinética de la respuesta inmune de esta parasitosis, con el fin de contribuir al esclarecimiento de los eventos clínicos durante la infección y ayudar al diagnóstico de la enfermedad en el ser humano. En el primero de estos estudios Nacapunchai y colaboradores (26) procedieron al diseño de un ELISA indirecto para medir la respuesta humoral en roedores de la cepa ddY infectados con el parásito. Como antígeno fueron utilizados extracto somático completo obtenido a partir de la maceración mecánica de machos y hembras del parásito; así como productos de excreción-secreción (E/S) recolectados a partir del cultivo “in vitro” de las formas adultas en medio RPMI. Los resultados de este trabajo se refieren solamente a la detección de anticuerpos polivalentes en los animales a partir de la segunda semana de infección, determinándose la producción de niveles más elevados de anticuerpos contra los productos de excreción-secreción que contra los componentes somáticos. Trabajos posteriores en roedores de la cepa BALB/c y C57BL/6 (27, 28) lograron caracterizar de forma más detallada el tipo de anticuerpos producidos durante la infección

Angiostrongiliasis abdominal

con el parásito. Mediante un ELISA indirecto y empleando el extracto somático de formas adultas como antígeno se demostró la producción de una hipergammaglobulinemia, caracterizada por altos niveles de IgA- e IgM-específica durante el periodo prepatente, y una elevada producción de IgA- e IgG1-específica durante el período patente y pospatente. Una elevación constante en los niveles de IgE total fue además observada a partir de la tercera semana de infección. Para determinar hacia cuáles componentes específicos iban dirigidos los anticuerpos detectados, se procedió a la separación electroforética del extracto somático en geles de poliacrilamida. La electroforesis reveló un perfil proteico muy heterogéneo, con la presencia de más de veinte bandas cuyo peso molecular osciló entre 10 y 205-210 kDa. Posteriormente mediante Western Blot se demostró que los componentes con un peso molecular entre los 80 y 210 kDa resultaron ser los más fuertemente reconocidos, principalmente por los anticuerpos específicos de la clase IgG y la subclase IgG1.

De forma paralela a la realización de estos últimos estudios en modelos experimentales (27, 28) ya se habían iniciado los trabajos con sueros humanos para el diseño de una prueba diagnóstica de la AA. Los primeros en intentar la estandarización de un ELISA indirecto para éste propósito fueron Graeff-Teixeira y colaboradores (29). El estudio empleó sueros de pacientes con diagnóstico confirmado de AA procedentes de dos localidades al sur de Brasil, se y utilizó como antígeno extracto somático completo de hembras adultas del parásito. Mediante Western Blot se identificaron los componentes del extracto reconocidos por los anticuerpos presentes en el suero de estos pacientes. De manera similar a lo observado para el modelo murino, se identificó un fuerte reconocimiento de componentes proteicos con un peso molecular entre 90 y 200 kDa, demostrándose para este mismo rango la mayor reactividad cruzada, detectada principalmente al ensayar el suero de individuos infectados con *Ascaris lumbricoides* y *Strongyloides stercoralis*.

Estos resultados llevaron a los autores de este estudio a incluir en el diseño del ELISA un paso de preabsorción de los sueros con antígeno de *A. lumbricoides*, con el fin de reducir en lo posible las reacciones cruzadas. La prueba así diseñada logró detectar anticuerpos específicos del tipo IgG, alcanzando una sensibilidad del 86% y una especificidad del 83%. Tomando como base el estudio de Graeff-Teixeira y también algunos de los realizados en el modelo animal (27, 28), Geiger y colaboradores modificaron el ELISA anterior para su aplicación en la detección de la fase aguda de la angiostrongiliasis abdominal (30). Esta técnica utilizó también extracto somático completo de hembras adultas pero, a diferencia de la anterior, eliminó el paso de preabsorción y empleó como conjugado una anti-inmunoglobulina dirigida hacia la IgG1, anticuerpo que, como se había demostrado para el modelo murino, alcanzaba sus niveles más altos durante las primeras semanas de infección y reconocía con mayor intensidad los componentes proteicos del extracto somático (27, 28). Con estas modificaciones la técnica logró aumentar su especificidad, alcanzando un 91.1%, mientras que la sensibilidad apenas llegó a un 76.2%. A pesar de esto, los autores del estudio adujeron que, para el diagnóstico clínico de una enfermedad como la AA, la sensibilidad no era tan crítica puesto que otros criterios son considerados simultáneamente y los datos de las pruebas serológicas no son interpretados de forma aislada. Mencionaron además que, en el caso de la angiostrongiliasis abdominal, lo que es particularmente importante es la especificidad porque, un resultado falso positivo, podría conducir a un proceso de intervención quirúrgica innecesario (30). No obstante la validez de los argumentos esgrimidos por los autores en lo referente a los casos agudos de esta parasitosis, es importante considerar que desde un punto de vista epidemiológico este tipo de prueba podría ser de poca ayuda en la determinación de la prevalencia de la AA ya que, tanto los casos crónicos como los asintomáticos podrían escapar a la detección mediante esta técnica.

E Abrahams-Sandí.

Recientemente en la búsqueda de mayor sensibilidad y especificidad, se ha vuelto a trabajar a nivel experimental con el modelo animal, evaluando la utilidad diagnóstica de antígenos obtenidos de diferentes estadios evolutivos del parásito (31-34). Entre ellos están antígenos de bajo peso molecular del extracto somático de formas adultas (< 30 kDa), productos de excreción-secreción (E/S) de formas adultas, antígenos somáticos completos de formas larvales (L1 y L3) y huevecillos provenientes de hembras fértiles.

En cuanto a los antígenos de bajo peso molecular, los resultados obtenidos en los estudios realizados han demostrado la presencia de tres bandas proteicas inmunodominantes con un peso molecular de 20, 15 y 2 kDa, respectivamente (32). Todas las bandas fueron reconocidas de manera específica por la subclase IgG1 presente en el suero de roedores infectados y la baja reactividad cruzada observada para el componente de 20 kDa motivó además su caracterización molecular mediante la técnica de digestión de Edmann, obteniéndose una secuencia de 13 aminoácidos que no presenta homología con ninguna proteína conocida hasta la fecha, por lo que se ha dicho podría ser específica del parásito. Aún no se han llevado a cabo ensayos con sueros humanos que confirmen la utilidad de este antígeno en el diagnóstico clínico de la enfermedad.

En el caso de los productos de E/S, y coincidiendo con lo reportado en estudios anteriores (26), se detectó una fuerte elevación de los niveles de IgG1 específica a partir de la tercera semana de infección. La caracterización proteica de estos productos mediante la electroforesis en geles de poliacrilamida ha revelado un perfil de cinco bandas con pesos moleculares de 15, 83, 106, 195 y 205 kDa, que en su mayoría coinciden con el peso molecular de varios de los principales componentes observados en el extracto somático de formas adultas y para los que también se ha demostrado, como se comentó anteriormente, un fuerte reconocimiento por parte de los anticuerpos. Ensayos con sueros humanos que utilicen como

antígeno algún producto de E/S no han sido reportados en la literatura.

Con respecto a los antígenos somáticos larvales, los resultados hasta ahora publicados demostraron bajos niveles de IgG e IgG1-específicas para el extracto somático de la L1 y L3, por lo que se ha dicho que el valor diagnóstico de estos antígenos es mínimo. No obstante, al medir los niveles de la IgA específica contra el antígeno somático de L3 se logró determinar una elevación importante de los mismos entre la tercera y cuarta semanas de infección. Queda aún por analizar el significado de estos resultados y su posible importancia en el campo del diagnóstico.

Finalmente, con respecto a los huevecillos de *A. costaricensis*, en algunos de los estudios hasta el momento publicados, se ha comentado la importancia de éstos en el transcurso de una infección por el parásito, afirmando incluso que la elevación en los niveles de anticuerpos séricos y el inicio de los cambios histopatológicos observados en el modelo murino, coinciden con el inicio de la oviposición en arterias mesentéricas por parte de las formas adultas del parásito (8, 27-29). Recientemente Bender et al. (34) han llegado a postular que los huevecillos sean posibles antígenos de valor diagnóstico luego que, mediante una prueba de inmunofluorescencia indirecta, demostraron que los sueros de pacientes en fase aguda reconocían fuertemente órganos reproductores y huevecillos en las hembras del parásito. No hay nuevos estudios que involucren la utilización de este tipo antígeno.

En el campo de la biología molecular se han llevado a cabo diferentes estudios para tratar de establecer una prueba de PCR que sirva como diagnóstico de la angiostrongiliasis abdominal. El mayor inconveniente hasta el momento ha sido el no contar con secuencias genómicas del parásito que faciliten el diseño de "primers" específicos. Sin embargo, ya se han publicado algunos ensayos utilizando "primers" contruidos a partir del genoma de una especie cogenérica, *A. cantonensis* (35, 36). En el más representativo de éstos estudios

(35) se construyeron tres “primers” a partir de la secuencia de ARN mensajero de formas adultas de *A. cantonensis*. Dichos “primers” fueron capaces de amplificar un fragmento de 232 pares de bases de ADN de *A. costaricensis*, demostrándose además la especificidad de los mismos al utilizar ADN de otros helmintos. Al ensayar estos “primers” con sueros humanos fue posible detectar los productos del PCR en tres pacientes con diagnóstico confirmado de AA. Según los autores, los resultados obtenidos mediante esta técnica son prometedores para el diagnóstico clínico y epidemiológico de la enfermedad; sin embargo, al revisar la literatura no se encontraron nuevos reportes que confirmen la reproducibilidad y utilidad del método.

Consideraciones finales.

Aun cuando a nivel clínico se reporta en algunos laboratorios el uso de técnicas inmunodiagnósticas para la angiostrongiliasis abdominal (20, 21, 31), los problemas de sensibilidad y reactividad cruzada observada en algunas de ellas, así como la falta de estudios publicados que respalden la confiabilidad de una prueba como la de “precipitación en látex”, han limitado la implementación de estos procedimientos en la mayoría de los laboratorios clínicos y de investigación de los países de la región. Lo anterior podría explicar por qué mientras en Brasil y Costa Rica se habla de prevalencias de hasta un 28% (37) y de un promedio de 600 casos anuales, respectivamente (21), en la mayoría de los países latinoamericanos se sigue considerando la angiostrongiliasis abdominal una parasitosis exótica, para la cual el médico general no cuenta con herramientas de laboratorio que le ayuden al diagnóstico. En la búsqueda de nuevos antígenos que permitan mejorar las técnicas existentes, o bien, que faciliten el diseño de nuevos métodos, se han evaluado diversos extractos obtenidos a partir de los diferentes estadios evolutivos del parásito (26-34). Hasta la fecha los que han sido ensayados a nivel clínico en un ELISA, y que han mostrado una fuerte antigenicidad, son los antígenos obtenidos a

partir de extractos somáticos de formas adultas del parásito, mismos para los que, sin embargo, se ha podido determinar también la más alta reactividad cruzada con otras helmintiasis. Para tratar de eliminar al máximo esta reacción cruzada se han sugerido e implementado algunas modificaciones en los métodos diagnósticos diseñados como, por ejemplo, preabsorción de las muestras con antígenos de otros parásitos o por medio del uso de subclases específicas de inmunoglobulinas como reveladores.

Estudios recientes a nivel experimental han demostrado una mayor especificidad al trabajar con antígenos de bajo peso molecular del extracto somático. Adicionalmente, los productos de E/S y antígeno de huevecillos se han mostrado promisorios para el diagnóstico. Son necesarios, sin embargo, nuevos estudios con sueros humanos que determinen la verdadera utilidad de todos estos antígenos y la factibilidad de poder incorporarlos en una prueba diagnóstica que pueda utilizarse en la práctica clínica.

Finalmente, en el campo de la biología molecular los pocos estudios publicados hasta la fecha arrojan resultados interesantes que podrían servir de plataforma para el desarrollo de una prueba de este tipo, la que, al lado de técnicas serodiagnósticas podrían finalmente determinar la verdadera importancia que desde un punto de vista de salud pública tiene esta parasitosis.

REFERENCIAS.

1. Morera P, Céspedes R. *Angiostrongylus costaricensis* n.sp. (Nematoda: Metastrongyloidea) a new lungworm occurring in man in Costa Rica. *Rev Biol Trop* 1971; 18: 173-85.
2. Morera P. Abdominal angiostrongylosis: a problem of public health. *Parasitol Today* 1985; 1:173-5.
3. Botero D, Restrepo M. Parasitosis humana. Colombia: Ediciones Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB); 1984.
4. Morera P, Perez F, Mora F, Castro L. Visceral larva migrans-like syndrome caused by *Angiostrongylus*

E Abrahams-Sandí.

costaricensis. Am J Trop Med Hyg 1982; 31:67-70.

5. Morera P. Angiostrongyliasis abdominal: transmisión y observaciones sobre su posible control. In: Control and Eradication of Infections Diseases. Int.Symp. PAHO/WHO copublication Series no. 1: 230-5; 1985.

6 Morera P. Abdominal angiostrongylosis. In: Enteric Infection. Edt. Chapman and Hall; 1995. Pp. 225-30.

7. Baird JK, Neafie RC, Lanoie L, Connor DH. Abdominal angiostrongyliasis in an African man. Am J Trop Med. Hyg 1987; 37:353-6.

8. Vázquez JJ, Sola JJ, Boils PL. Hepatic lesions induced by *Angiostrongylus costaricensis*. Histopathology 1994; 25:489-91.

9. Graeff-Teixeira C, Thome JW, Pinto SC, Camillo-Coura L, Lenzi HL. *Phyllocaulis variegatus* an intermediate host of *Angiostrongylus costaricensis* in south Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 1990; 84:65-8.

10. Mojon M. Human angiostrongyliasis caused by *Angiostrongylus costaricensis*. Bull Acad Natl Med 1994; 178:625-31.

11. Graeff-Teixeira C, Thiengo SC, Thome JW, Medeiros AB, Camillo-Coura L, Agostini AA. On the diversity of mollusk intermediate hosts of *Angiostrongylus costaricensis* (Morera & Céspedes 1971) Mem Inst Oswaldo Cruz 1993; 88:487-9.

12. Rambo PR, Agostini AA, Graeff-Teixeira C. Abdominal angiostrongylosis in southern Brazil-prevalence and parasitic burden in mollusk intermediate hosts from eighteen endemic foci. Mem Inst Oswaldo Cruz 1997; 92:9-14.

13. Teixeira dos Santos F, Pinto MV, Graeff-Teixeira C. Evidences against a significant role of *Mus musculus* as natural host for *Angiostrongylus costaricensis*. Rev Inst Med Trop S Paulo 1996; 38:171-5.

14. Canali C, Goulart HA, Graeff-Teixeira C. Study on the elimination of *Angiostrongylus costaricensis* first stage larvae in experimental infection of Swiss mice. Mem Inst Oswaldo Cruz 1998; 93(2):269-72.

15. Tentardini GC. Estudo cinético da eliminação de larvas de primeiro estágio de *Angiostrongylus costaricensis*, Morera & Céspedes, 1971 (Nematoda: angiostrongylidae) na fezes de diversas espécies de roedores. Dissertação de

mestrado. Instituto de Biociencias. Curso de pós-graduação em biociências-mestrado em Zoología em convenio com a fundação zoobotânica do Rio Grande Do Sul 1997.

16. Morera P. Life history and redescription of *Angiostrongylus costaricensis* (Morera and Céspedes, 1971). Am J Trop Med Hyg 1973; 22:613-21.

17. Mota EM, Lenzi LH. Life cycle: *Angiostrongylus costaricensis* a new proposal. Mem Inst Oswaldo Cruz 1995; 90:707-9.

18. Mota EM, Lenzi LH. *Angiostrongylus costaricensis*: complete redescription of the migratory pathways based on experimental *Sigmodon hispidus* infection. Mem Inst Oswaldo Cruz 2005; 100(4):407-20.

19. Graeff-Teixeira C, Camillo-Coura L, Lenzi LH. Angiostrongiliase abdominal-nova parasitose no sul do Brasil. R. AMRIGS 1991; 35:91-8.

20. Morera P. Angiostrongyliasis abdominal ¿Un problema de salud pública? Rev Asoc Guatl de Parasitol Med Trop 1987; 2 (1):9-11.

21. Morera P, Amador J. Prevalencia de la angiostrongilosis abdominal y la distribución estacional de la precipitación. Rev. Costarric. Salud pública 1998; 7 (13):1-14.

22. Tesh RB, Ackerman LJ, Dietz WH, Williams JA. Prevalence and pathologic findings in wild rodents infected with the parasite. Am J trop Med Hyg 1973; 22:348-56.

23. Sauerbrey M. A precipitin test for the diagnosis of human abdominal angiostrongyliasis. Am J Trop Med Hyg 1977; 26 (6):1156-8.

24. Sano M, Ishii A, Terada M, Hayashi M. In vivo effects of levamisole on *Angiostrongylus costaricensis* and *A. cantonensis*. Jap J Parasitol 1986; 35(Suppl.):81.

25. Ishii A, Sano M. Strain-dependent differences in susceptibility of mice to experimental *Angiostrongylus costaricensis* infection. J Helminthol 1989; 63:302-6

26. Nacapunchai D, Ishii AI, Terada M, Kino H, Sano M. Humoral immune responses in mice infected with *Angiostrongylus costaricensis*. Serodiag Immunoteraph Infect Dis 1989; 3:51-6.

27. Geiger MS, Graeff-Teixeira C, Soboslay TP, Schulz-Key H. Experimental *Angiostrongylus costaricensis* infection in mice: immunoglobulin isotype responses and

Angiostrongyliasis abdominal

- parasite-specific antigen recognition after primary low-dose infection. *Parasitol Res* 1999; 85:200-5.
28. Abraham SE. Untersuchungen zur stadienspezifischen Antigenerkennung bei experimentellen *Angiostrongylus costaricensis*-Infektionen (Metastrongyloidea) in Mäusen. Dissertation der Fakultät für Biologie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen 2000.
29. Graeff-Teixeira C, Agostini AA, Camillo-Coura L, Ferreira-daCruz MF. Seroepidemiology of abdominal angiostrongyliasis: the standardization of an immunoenzymatic assay and prevalence of antibodies in two localities in Southern Brazil. *Trop Med Int Hlth* 1997; 2:254-60.
30. Geiger SM, Laitano AC, Sievers-Tostes C, Agostini AA, Schulz-Key H, Graeff-Teixeira C. Detection of the acute phase of abdominal angiostrongyliasis with a parasite-specific IgG enzyme linked immunosorbent assay. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96:515-8.
31. Abrahams-Sandí E, Hoffmann WH, Graeff-Teixeira C, Schulz-Key H, Geiger SM. Long-term observations on mouse strains experimentally infected with *Angiostrongylus costaricensis*. *Parasitol Res* 2004; 93:230-4.
32. Abrahams SE, Schulz-Key H, Geiger S. Caracterización de antígenos de bajo peso molecular de *Angiostrongylus costaricensis* reconocidos durante una infección experimental en roedores. *Parasitol Latinoam* 2004; 59: 8-13.
33. Abrahams SE, Geiger SM, Fernández QK, Schulz-Key H. Specific antibody production against different life cycle stages during an experimental *A. costaricensis* infection in mice. *Rev Biomed* 2005; 16(2):239-46.
34. Bender AL, Maurer RL, Fernandes da Silva MC, Ben R, Barros TP, Aramburu da Silva AC, Graeff-Teixeira C. Ovos e órgãos reprodutores de fêmeas de *Angiostrongylus costaricensis* são reconhecidos mais intensamente por soros humanos de fase aguda na angiostrongilíase abdominal. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 36:449-54.
35. Silva AC, Graeff-Teixeira C, Zaha A. Diagnosis of abdominal angiostrongyliasis by PCR from sera. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2003; 45:295-7.
36. Caldeira LR, Carvalho SO, Mendonça LFG C, Graeff-Teixeira C, Silva CF M, Ben R, Maurer R, Lima SW, Lenzi LH. Molecular Differentiation of *Angiostrongylus costaricensis*, *A. cantonensis*, and *A. vasorum* by Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphism. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003; 98:1039-43.
37. Graeff-Teixeira C, Hamilton GA, de Ornellas BC, Laitano CA, Sievers-Tostes C, Zanini MG, Leão B P, Morassutti A, Geiger S, Abrahams-Sandí E., Teixeira dos Santos O F, Lucyk MR, Aguiar LF, Tentardini GC, Aramburu SA, Rodríguez R, Schulz-Key H, Agostini AA. Longitudinal clinical and serological survey of abdominal angiostrongyliasis in Guaporé, southern Brazil, from 1995-1999. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005; 38:310-15.