

Cristiane Rodrigues Teixeira

SISBI/UFU



1000215557

Frequência de anticorpos anti- *Toxocara* sp. em amostras de
soro de crianças, atendidas no Hospital de Clínicas da Universidade
Federal de Uberlândia, HC-UFU Uberlândia – Minas Gerais.

Uberlândia
2004

Cristiane Rodrigues Teixeira

MON
615.225.132
T266 P
TES/MEM

Frequência de anticorpos anti- *Toxocara* sp. em amostras de soro de crianças, atendidas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, HC-UFU Uberlândia – Minas Gerais.

Orientadora: Prof.^a Dra. Márcia Cristina Cury

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Uberlândia
2004

Dedicatórias

A Deus

Pelo maravilhoso Dom da Vida,
Por ter me concedido força nos momentos em que me
senti fraca,
Pela alegria de mais uma Vitória!!!
A Ti Meu Mestre e Senhor honra e glória!!!

Aos meus Pais, Miguel e Rosa

Pelo carinho, amparo e força em tempo integral,
Por terem me incentivado em mais este sonho,
Por terem vivido comigo cada momento desta conquista,
É pra vocês este título!!!

A meu namorado e eterno amigo, Anderson

Por ter segurado cada lágrima que rolou de meus olhos,
Pelos momentos de oração e consolo que me fizeram mais forte,
Por ter me impulsionado a não desistir.
O teu amor modificou o meu viver, Te amo te amo te amo!!!

Agradecimientos

Agradecimento Especial

A Prof. Dra. Márcia Cristina Cury

Pelos anos de amizade e convivência.

Por sua sinceridade, competência e exemplo de caráter e
profissionalismo.

Pelo incentivo no caminho,

Por me estimular a ser mais profissional,

Saiba que cresci muito devido a seu apoio!!!

AGRADECIMENTOS

A todos os pais e responsáveis pelas crianças que participaram deste trabalho. O consentimento de vocês foi muito importante para a conclusão realização desta pesquisa!!!

A todos os que tiveram envolvidos em algum momento deste trabalho, sou grata pela colaboração e pelas palavras de incentivo!!!

Ao Prof. Dr. Pedro Paulo Chieffi, por ter aberto as portas de seu Laboratório no Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (IMT-SP). Para mim, conhecê-lo foi a realização de um sonho!!! Obrigado por ser um grande exemplo de profissional, a pesquisa agradece!!!

À Prof. Dra. Susana A. Zevallos Lescano, do IMT-SP, por ter me ensinado todas as técnicas de elaboração, padronização dos antígenos, pelo material bibliográfico, pelo incentivo. Obrigado pela acolhida, pelas conversas e principalmente pela companhia. Aprendi muito com você!!!

Ao Prof. Dr. Laerte Pereira de Almeida, da Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV-UFU) por ter me auxiliado com a montagem do banco de dados e pela análise estatística. Obrigado pela amizade e pelas horas de sincera dedicação, para mim foram momentos de grande aprendizado.

Aos técnicos e funcionários do Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia. Pelo auxílio na colheita de sangue, o trabalho e a colaboração de vocês foi de grande importância para a conclusão desta pesquisa!!!

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas UFU, pelos ensinamentos durante todo o curso.

Aos funcionários: Neto e Lucileide, da Secretaria do Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, pelo apoio, incentivo e amizade.

Aos funcionários do Laboratório de Parasitologia Elaine, Graça, Geraldo, Rosário, Rosângela, Sheila e as Professoras Rosângela e Idessania e as colegas Solange e Juliana pelo convívio, amizade, incentivo.

A todos os colegas do Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, pela convivência, amizade e pela companhia.

De maneira especial, agradeço ao grande amigo e colega de profissão Fernando Lourenço, por ter sido minha melhor e mais fiel companhia nos momentos de desânimo. Sem você teria sido mais difícil prosseguir!!! Obrigado pelo apoio e incentivo e pelos momentos em que sonhamos juntos!!! Valeu amigo!!!

Aos colegas: Daniel, Núbia, Rúbia, Cinthia e Goiabeira, pelo apoio, companheirismo e feliz convivência. Sucesso pra vocês!!!

Aos amigos do Ministério Lucas, por terem sonhado e vivido comigo cada momento desta caminhada. Obrigado por serem poderosa proteção e fidelidade. A intercessão de vocês foi tudo!!!

As queridas amigas e Biólogas: Luciana Cardoso Matias pelos conselhos e apoio; Graziela Diogenes Vieira Marques minha fiel companheira, vencemos mais uma!!! Inez Reptton Dias, pelo constante apoio. Talitha Araújo Faria, que desde o início sonhou e intercedeu por esta vitória!!! Amo vocês!!!

Aos meus queridos irmãos Kleyder e Kênia e aos meus sobrinhos Alexwell, Caio e João Paulo, obrigado pela presença em minha vida e pela torcida!!! A vitória é nossa!!!

Às minhas eternas amigas e companheiras de todas as horas Thaís, Tati, Tânia e Sueli, minha eterna gratidão. Obrigada pelo apoio e incentivo e pela companhia fiel, Amo vocês!!!

À FAPEMIG e CAPES, pelo suporte financeiro, o qual tornou possível a realização deste trabalho.

Resumo

RESUMO

Toxocara canis e *T. cati* são nematodeos parasitas de cães e gatos respectivamente, estes causam no homem, devido à ingestão acidental de ovos larvados, a Toxocaríase humana. Devido à inexistência de estudos sobre frequência de anticorpos anti-*T. canis* no município de Uberlândia, foram analisados soros sanguíneos de 242 indivíduos, entre um e quinze anos, de ambos os sexos para verificar a presença de anticorpos anti-*Toxocara* sp., através do ELISA. Estes indivíduos foram atendidos no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU) e encaminhadas ao Laboratório de Análises Clínicas UFU, para coleta de sangue. Todos os dados dos indivíduos foram registrados, sendo as informações sobre os dados ambientais e comportamentais obtidas por meio de entrevistas com os pais ou responsáveis, através de questionário investigativo. Para obtenção das informações dos sinais clínicos, 187 prontuários dos pacientes provenientes do Arquivo Médico HC-UFU, foram analisados. A presença de cães e gatos e o local de contato foram variáveis, que mostraram associação significativa ($p < 0,05$) com sorologia positiva. Em relação ao local de contato a escola mostrou ser o maior fator de risco à infecção. A variável clínica problema respiratório, também mostrou relação estatística positiva com a sorologia para *Toxocara* sp., podendo-se conjectura que esse distúrbio se mostrou específico, podendo este estar relacionado à infecção. Observou-se associação estatística significativa para níveis de eosinófilos superior a 20%, o que poderia associar estes valores à infecção por *Toxocara* sp. As demais variáveis testadas, tais como sexo, idade, dor de cabeça, dor abdominal, crises convulsivas, anemia e eosinofilia, não se associaram significativamente a ocorrência de toxocaríase. A magnitude dos títulos de anticorpos observada, sugere precedente contato dos indivíduos investigados com o helminto. Observa-se uma grande variação dos títulos sorológicos e que as variáveis demográficas, ambientais e clínicas são fatores de grande importância na infecção por Toxocaríase.

Summary

SUMMARY

Toxocara canis and *T. cati* are nematode parasites of cats and dogs, respectively. In humans, because of accidental ingestion of larvae eggs, they cause Toxocariasis. Due to the lack of studies on the frequency of anti-*T. canis* antibodies in the city of Uberlândia, blood serum of 242 girls and boys aged one to fifteen were collected to verify the presence of anti-*T. canis* antibodies by the ELISA method. The participants of the study were attended at the Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU) and referred to the Laboratory of Clinical Analysis at the same university aforementioned, for blood collection. All data were registered, and the information on the environment and behavior of the patients was obtained through interviews with the parents or legal guardians, using an investigative questionnaire. To obtain data on clinical symptoms, 187 medical records from medical files of the hospital, HC-UFU, were analyzed. The presence of cats and dogs and the place of contact were variables which revealed to be significantly associated ($p < 0,05$) with positive serology. In relation to the place of contact, schools showed to be the greatest risk factor for infection. The clinical variable, respiratory problem, also revealed positive statistical correlation serology for *T. canis*, inferring that this disturbance, which showed to be specific, may be related to infection. All other tested variables such as sex, age, headaches, abdominal pain, convulsive crises, anemia and eosinophilia, were not significantly associated with the risk for toxocariasis. The frequency of antibodies observed suggests that the investigated individuals had previous contact with the helminth. A large variation of the serological titles was observed and the demographic, environmental and clinical factors are of great importance in Toxocariasis infection.

SUMÁRIO

1-Introdução	15
2-Justificativa	28
3-Objetivos	30
4-Materiais de Métodos	32
5-Resultados	43
6-Discussão	53
7-Conclusão	60
8- Anexo	62
9- Referências Bibliográficas	65

Introdução

1- INTRODUÇÃO

Toxocara canis e *T. cati* são nematodeos parasitas de cães e gatos, respectivamente, que causam a toxocariase ou síndrome de larva *migrans* visceral (LMV) (BEAVER et al. 1952). Humanos não fazem parte do ciclo de vida habitual destes parasitos (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981). Os ovos desses parasitos são lançados no ambiente através das fezes dos animais, desenvolvem-se no solo e tornam-se embrionados, podendo ser acidentalmente ingeridos por humanos, especialmente por crianças que expressam o hábito de geofagia (HUNTLEY et al. 1965).

A transmissão associa-se também, ao convívio com animais contaminados, ao hábito de freqüentar parques infantis, tanques de areia e praças públicas contaminadas por fezes de cães e gatos infectados (COSTA-CRUZ, et al. 1994; NUNES, et al. 2000).

A larva de terceiro estágio abandona ovo e invade a corrente sanguínea podendo migrar para órgãos viscerais, como o fígado, pulmão e cérebro. A síndrome de LMV é produzida pela migração larval e é caracterizada pela inflamação e granulomas eosinofílicos. No homem a larva não sofre maturação e morre (SMITH; BEAVER 1953).

A toxocaríase humana na maioria das vezes, não apresenta manifestações clínicas, evoluindo de forma assintomática (SCHANTZ, 1989). Em alguns casos, pode causar diversas alterações como febre, hepatomegalia, esplenomegalia, sintomas respiratórios, dores musculares e anorexia, acompanhados por eosinofilia (ABE-JACOB et al. 1984; EHRHARD; KERNBAUM, 1979; SCHULTZ; KROERGER, 1992; SNYDER, 1961). Outra forma clínica da toxocaríase humana envolve o acometimento do globo ocular, podendo causar importante alterações visuais (GILLESPIE et al. 1993).

A distribuição da infecção humana por *T. canis* tem caráter cosmopolita apresentando frequência variável (ANARUMA-FILHO, 2002). Geralmente, crianças em idade escolar, são clinicamente mais acometidas por esta infecção, especialmente àquelas que vivem em áreas rurais, podendo também ocorrer em indivíduos adultos (EHRHARD; KERBAUM 1979; EMBIL et al. 1988; MAGNAVAL, et al. 2001; OVERGAARD, 1997). Regiões e segmentos populacionais com condições sócio-econômicas precárias apresentam, habitualmente, frequências de infecção mais elevada (HERRMANN et al. 1985; LYNCH et al. 1988; MAGNAVAL et al. 2001).

O diagnóstico laboratorial da infecção humana por *Toxocara* sp. é habitualmente feito por meio de pesquisa de anticorpos contra antígenos metabólicos desse Ascáridídeo, empregando-se o teste de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (GLICKMAN et al. 1978). Este método apresenta boa sensibilidade, especificidade e estabilidade, além de ser de fácil execução e de baixo custo (ABE-JACOB et al. 1995; CAMARGO et al. 1992; MATOS et al. 1997). Desta forma vários casos foram comprovados em todo o mundo, demonstrando existir elevada frequência de indivíduos infectados por *Toxocara* sp. evidenciando o caráter cosmopolita desta parasitose (BARRIGA, 1988; SCHANTZ, 1989).

1.1- Características do gênero *Toxocara*

O gênero *Toxocara* compreende 21 espécies, das quais *T. canis* e *T. cati* se destacam entre as mais importantes. Estes são nematódeos cilíndricos, cuja forma adulta vive no intestino delgado de cães e gatos, respectivos hospedeiros definitivos (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981). A fêmea adulta de *T. canis* mede de seis a 18cm e o macho de quatro a 10cm e a do *T. cati* quatro a 12cm, enquanto o macho mede entre três e seis centímetros. Os

parasitos adultos de ambas as espécies, vivem em média quatro meses no intestino de seus hospedeiros e as fêmeas são altamente fecundas, produzindo em torno de 200.000 ovos por dia (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981).

O ovo fértil dos ascarídeos é composto por três camadas sucessivas, sendo uma superfície externa denominada de membrana mamilonada. A camada central é composta de proteína e quitina e a região interna que é predominantemente lipídica e funciona como principal barreira contra a permeabilidade do ovo (WILSON, 1978, *apud* BACH-RIZZATTI 1984). Os ovos destes parasitos são muito resistentes a influências hostis, podendo permanecer viáveis por vários meses.

1.2- Biologia de *Toxocara canis*

Os parasitos adultos de *T. canis* vivem poucos meses na luz intestinal de seus hospedeiros habituais. Geralmente as fêmeas grávidas fazem a postura na luz intestinal e os ovos são passivamente eliminados no meio exterior com as fezes.

Os ovos de *T. canis*, quando submetidos a condições ecológicas adequadas como temperatura entre 15 e 35°C tornam-se larvados e após duas a cinco semanas de permanência no solo atingem o estágio infectante para novos hospedeiros. A célula inicial se divide e evolui sucessivamente, passando pelas fases de mórula, blástula e gástrula resultando na larva de primeiro estágio (L₁). Ocorre muda de cutícula, se transformando em larva de segundo estágio (L₂) e chegando, posteriormente, a L₃ ou forma infectante (SCHACHER, 1957; WEBSTER, 1958; SPRENT, 1958).

As larvas de *T. canis* permanecem no interior do ovo até serem ingeridas pelo hospedeiro. Dependendo do hospedeiro, habitual ou não, estas larvas seguem diferentes rotas: que podem ser a traqueal, a somática e a transplacentária.

Em filhotes de cães de até seis meses de idade (SPRENT, 1958) as larvas penetram na mucosa duodenal e passam para a circulação sangüínea e linfática. Através da veia porta alcançam o fígado em 24-48 horas. Algumas permanecem neste órgão devido a reações tissulares inflamatórias, enquanto que, outras continuam sua migração até os pulmões, através da veia cava superior. Do ventrículo direito, as larvas passam ao pulmão, onde poderão atravessar os alvéolos, ascendendo pela árvore broncotraqueal até a faringe, sendo deglutidas, alcançando o sistema digestivo (PRIETO NOVOA et al. 1995) ou se encistar, tornando-se latentes.

Os nematódeos completam seu desenvolvimento no intestino, chegando ao estágio adulto em três a cinco semanas pós-infecção, período em que se detecta ovos nas fezes dos cães hospedeiros (PRIETO NOVOA, et al. 1995).

Em cães adultos e em outras espécies de hospedeiros, como o homem, ocorre a rota somática. Nesta, a maioria das larvas que chegam aos capilares pulmonares, não atravessam os alvéolos, continuam na circulação, retomam ao coração pela veia pulmonar, sendo transportadas por todo o organismo e invadindo órgãos e tecidos distintos, como pulmões, fígado, rins, útero, glândulas mamárias, musculatura estriada (BACH-RIZZATTI, 1984). O desenvolvimento das larvas, nesta rota pode interromper-se ou permanecer encistadas nos tecidos desde alguns meses a vários anos (PRIETO NOVOA et al. 1995).

Segundo Burke; Roberson (1985), a principal via de infecção de cães é a via transplacentária, seguido pela vias transmamária.

Em cadelas gestantes, a partir de 42º dia de gestação as larvas infectantes, cujo desenvolvimento estava retido nos tecidos, se mobilizam até a placenta e glândulas mamárias. Este desenvolvimento e reativação das larvas são facilitados, pelo estado hormonal e imune da cadela em gestação. A maioria das larvas se concentra no fígado dos fetos, continuando o seu desenvolvimento imediatamente depois do nascimento, realizando a migração traqueal e completando sua maturação no intestino dos cães. Nas cadelas ocorre mobilização das larvas nas glândulas mamárias de modo que os lactentes podem ingerir larvas de *T. canis* através do colostro e do leite (STOYE, 1976).

1.3- Aspectos epidemiológicos da Toxocaríase

As enfermidades parasitárias constituem um problema de grande importância para a saúde pública em todo o mundo, não só por serem indicadores de saneamento ambiental das comunidades, mas devido à atenção médica e laboratorial que estas exigem.

Os parasitos do gênero *Toxocara*, são nematódeos geohelmínticos, vivem habitualmente em cães (*T. canis*) e gatos (*T. cati*) e infectam o solo com fezes contaminadas (COSTA-CRUZ et al. 1994; LESCANO et al. 1998). Segundo Glickman; Schantz (1981), o tamanho da população canina de uma região e a contaminação do solo são fatores preponderantes para a aquisição da infecção por *T. canis*.

Diversos autores têm dado enfoque à recuperação de ovos de *T. canis* no solo, devido à facilidade com que estes são encontrados, principalmente em jardins domésticos, praças públicas, parques infantis, havendo altas concentrações em locais visitados por cães (CHIEFFI; MÜLLER, 1976; FERREIRA et al. 1976).

Os ovos de *T. canis* são resistentes a fatores adversos e se submetidos à temperatura entre 15° e 35°C, tornam-se larvados após duas a cinco semanas no solo. Estes ao atingirem estágio infectante, podem ser ingeridos por humanos, principalmente crianças. Segundo Glickman et al. (1981); Schantz et al. (1980) a geofagia é um fator de risco claramente associado à infecção pelo parasito.

A transmissão associa-se, também, ao convívio íntimo com animais contaminados, ao hábito de frequentar parques infantis, tanques de areia e praças públicas contaminadas (NUNES et al. 2000; SANTARÉM, et al. 1998).

Os avanços conseguidos com a padronização de técnicas imunoenzimáticas, juntamente com a aplicação de produtos antigênicos mais específicos têm permitido estabelecer com maior precisão casos de Toxocaríase humana, podendo assim esclarecer a importância desta parasitose.

Inquéritos sorológicos, efetuados em vários países, enfatizam que as infecções humanas por *Toxocara* sp. representam evento relativamente frequente, sendo que vários casos foram comprovados através de testes imunológicos, demonstrando que é elevada a frequência de indivíduos com reações imunológicas sugestivas de infecção por *Toxocara* sp.

Ayayi et al. (2000) na Nigéria, testaram 104 amostras de soro de pessoas de ambos os sexos, tendo encontrado 31 (29,8%) de soros reativos a anticorpos anti-*Toxocara*, sendo 14 (25,9%) e 17 (34,1%) de homens e mulheres respectivamente.

Na Argentina, a soroprevalência da toxocaríase, foi testada em 180 doadores de sangue, por Minvielle et al. (2000), sendo 133 do sexo masculino e 47 do sexo feminino, com idade entre 19 e 75 anos. Os resultados demonstraram que 16 (84,2%) dos homens e 3 (15,8%) das mulheres apresentaram positividade. Alonso et al. (2000) testaram soros de 206 crianças e observaram que 78 (37,9%) apresentaram reação positiva para anticorpos anti-*Toxocara*.

Triviño et al. (1999), no Chile observaram resultados positivos para toxocaríase, em oito crianças menores de 15 anos, a partir do encontro de eosinofilia absoluta 6.6% (n = 24) e sorologia positiva para *Toxocara* sp.

Na Espanha, Fenoy, Cuéllar; Guillén (1997) constataram, 30,4% de reatividade para anticorpos anti-*Toxocara*, em 407 amostras de soros de indivíduos do distrito sanitário Juan Canalejo de Corunna.

No Brasil, o imunodiagnóstico para síndrome de larva *migrans* visceral, tem sido relatado por diversos autores.

Em Brasília (DF), Campos-Júnior et al. (2003) utilizando ELISA, testaram a frequência da soropositividade para antígenos de *T. canis*, em crianças de um a 12 anos de idade de classes sociais diferentes e observaram prevalência de 3% a 21,8%.

Anaruma-Filho et al. (2002) em inquérito soroepidemiológico pelo ELISA, no município de Campinas (SP), avaliaram frequência de anticorpos anti-*Toxocara*, em 138 amostras de soro de moradores de três bairros da periferia. Os autores observaram que 23,9% das amostras apresentaram-se positivas, sem ocorrência de diferença significativa em relação a sexo e idade dos indivíduos.

Lambertucci et al. (1998) em Belo Horizonte (MG) relataram o caso de um garoto de 16 anos, em cuja amostra de soro foi submetida ao teste imunoenzimático com positividade para síndrome de larva *migrans* visceral.

Em Vitória, Espírito Santo, Moreira et al. (1998) relataram que das 100 amostras de soro colhidas de crianças com idade entre um e 14 anos, submetidas ao Elisa-IgG, 39 (39%) mostraram-se positivas para anticorpos anti-*T. canis*

Através do ELISA, Chieffi et al. (1988) pesquisaram a presença de anticorpos anti-*Toxocara* de 202 indivíduos, tendo encontrado 12 casos positivos.

Matos et al. (1997) em Campo Grande (MS), submeteram 45 amostras de soro humano ao ELISA, obtendo positividade de 35,55%.

Chieffi et al. (1990), testaram 2025 amostras de soro de indivíduos de cinco municípios de São Paulo, observando 70 (3,46%) de positividade para anticorpos anti-*Toxocara*.

1.4- Aspectos Clínicos

Clinicamente a infecção por *Toxocara* em humanos é bastante variada, podendo apresentar desde casos assintomáticos até casos fatais (BASS et al. 1987), sendo esta dependente de fatores como a carga parasitária, distribuição das larvas nos tecidos, padrão de migração das larvas e intensidade da resposta inflamatória (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981).

Segundo Abe-Jacob (1995) as manifestações clínicas da Toxocaríase humana, são conseqüentes à presença do parasita nos tecidos do hospedeiro, produzindo reações inflamatórias e de hipersensibilidade no órgão acometido. Beaver et al. (1952) foram os primeiros a observar larvas da espécie *T. canis*, em tecido hepático de uma criança que apresentava anemia, hepatomegalia e eosinofilia, propondo então o termo larva *migrans* visceral.

Atualmente, são descritas várias formas de apresentação clínica desta doença no homem. Toxocaríase Visceral (BEAVER et al., 1952), Larva *migrans* ocular (SHIELDS, 1984), Toxocaríase Oculta "Covert Toxocariasis" (TAYLOR et al., 1987).

1.5- Toxocaríase Visceral

O potencial infectivo de *T. canis* em humanos, foi reconhecido por Fullborn (1921), mas até 1940 este era caracterizado como uma persistente eosinofilia, atribuída a ascadideos.

A Toxocaríase Visceral ou síndrome de larva *migrans* visceral (LMV), foi um termo introduzido por Beaver et al. (1952), para descrever a migração prolongada de larvas, geralmente de nematódeos, através da pele ou órgãos internos de hospedeiros não habituais, especialmente o homem. A transmissão desta, ocorre através da ingestão de ovos contidos em solo e mãos contaminadas.

Vários estudos relatam crianças entre um e seis anos de idade, principalmente provenientes de instituições tais como creches, escolas e hospitais infantis, que são como as mais acometidas (WORLEY, et al. 1984; BASS et al. 1987; TRIVIÑO, et al. 1999). Os principais sintomas descritos são febre, tosse, cansaço, anorexia ou perda de peso (SYNDER, 1961). Dificuldades respiratórias podem aparecer, como bronqueolite aguda, asma ou pneumonite.

Testes laboratoriais revelam a ocorrências de sinais como leucocitose (GONZALES et al. 2000) e eosinofilia (BASS et al. 1987; TRIVIÑO et al. 1999), em fase aguda da doença de muitos pacientes. A eosinofilia pode persistir por meses ou até anos após a fase aguda da infecção (SHIELDS, 1984).

Histopatologicamente a Toxocaríase humana é caracterizada por lesão tecidual, granuloma focal causada pela larva de *T. canis*, aglomerados de linfócitos, eosinófilos, células epitelioides e densa fibrose de tecido acometido (SHIELDS, 1984).

As larvas podem também acometer o coração e o sistema nervoso, provocando resposta imunológica exagerada, levando os indivíduos parasitados a apresentarem severas crises convulsivas.

1.6- Toxocaríase Ocular

A ocorrência da síndrome de larva *migrans* ocular (LMO) ou Toxocaríase Ocular foi reconhecida pela primeira vez por Wilder et al. (1950), ao observarem restos larvários de nematódeos em 24 casos de pseudogliomas de olhos enucleados por suspeita de retinoblastoma ou outros tumores do globo ocular. Inicialmente, estes restos larvários foram atribuídos a ancilostomatídeos, posteriormente, demonstrou-se a responsabilidade de larvas de *T. canis* na etiologia da maioria das endoftalmítes por nematódeos.

A forma ocular desta parasitose é mais comum no sexo masculino e acomete crianças em idade superior a observada na forma visceral (SCHANTZ, et al. 1979). É possível que a Toxocaríase ocular ocorra, em lugar da forma visceral, quando o inóculo de ovos infectantes de *T. canis* é reduzido. Nos casos de inóculos maiores, o rápido aumento de eosinófilos sangüíneos e teciduais e a elevação do nível de anticorpos dificultariam a livre passagem das larvas pelo fígado e pulmões, fazendo com que muitas larvas permaneçam retidas nestes órgãos, impedindo a migração para o globo ocular (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981).

Quando a quantidade de ovos de *Toxocara* é muito elevada, algumas larvas conseguem escapar dos “filtros” hepáticos e pulmonares, podendo atingir outros órgãos e tecidos, determinando casos de acometimentos visceral e ocular concomitantes (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981).

São vários os aspectos clínicos que a forma ocular da síndrome de larva *migrans* pode assumir, manifestando-se de forma unilateral. Usualmente, assumem uma das três formas; endoftalmite, granuloma do pólo posterior do olho ou granuloma periférico.

1.7- Toxocaríase Oculta e formas atípicas da Toxocaríase

O termo “Toxocaríase Oculta” remete-se a manifestações e sinais clínicos que podem se relacionar com várias patologias não relacionadas a Toxocaríase visceral e ocular.

Taylor et al. (1987) propuseram o termo Toxocaríase oculta para aqueles pacientes que clinicamente apresentavam dor abdominal, cefaléia, hepatomegalia, dor em membros inferiores e outros sinais inespecíficos. Podendo ainda, apresentarem altos títulos sorológicos para *Toxocara*, através do ELISA, apesar de não mostrarem eosinófilos.

1.8- Diagnóstico laboratorial da Toxocaríase humana

Os sinais clínicos da síndrome de LMV não são específicos e o diagnóstico diferencial inclui outras parasitoses caracterizadas por hipereosinofilia, reações alérgicas, asma e leucemia (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981).

O diagnóstico laboratorial da Toxocaríase humana é bastante complexo, uma vez que os indivíduos parasitados apresentam sintomatologia inespecífica e em casos de infecção ocular, esta pode ser confundida com outras enfermidades clínicas mais graves (PRIETO NOVOA et al. 1995).

O encontro de larvas em tecido do hospedeiro é a maneira mais direta de diagnóstico, porém mesmo em biópsia de tecido hepático este achado é raro. Faz-se necessário o uso de outros meios laboratoriais para o diagnóstico desta geohelmintose.

Desde os estudos realizados por Savigny (1975), testes imunológicos baseados em antígenos obtidos a partir do cultivo de larva *in vitro*, têm sido bastante utilizados, dando ênfase ao soro diagnóstico com antígeno de excreção-secreção (ES). Este é obtido através de larvas de segundo estágio de *T. canis* (SAVIGNY, 1975) cultivadas em meio de cultura adequado. Segundo Prieto Novoa et al. (1995) vários autores utilizaram e comprovam a validade e eficácia, destes testes para o diagnóstico da Toxocaríase humana.

A detecção de anticorpos anti-*Toxocara* sp. frente ao antígeno de ES mediante ao ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), oferece elevada sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da larva *migrans* no homem Matsumara; Endo, (1982). Savigny; Voller, (1978); Savigny et al. (1979), descreveram a aplicação do antígeno de Excreção-Secreção (ES) de larvas de *T. canis* ao ELISA e reportaram ausência de reações cruzadas com *Ascaris* e outros helmintos com alto grau de sensibilidade, especificidade e reprodutividade.

Justificativa

2- JUSTIFICATIVA

A Toxocaríase humana é uma parasitose bastante difundida em todo o mundo, sendo de grande importância para a saúde pública. Conhecida também, como síndrome de larva migrans visceral (BEAVER et al. 1952), pode acometer o homem e é causada pelos nematódeos *Toxocara canis* e *T. cati*, comuns em cães e gatos, respectivamente.

O parasitismo humano é consequência da ingestão acidental de ovos embrionados de *Toxocara*, eliminados no solo juntamente com as fezes dos seus hospedeiros naturais (CAMPOS-JÚNIOR et al. 2003). No organismo humano a larva alcança o intestino delgado, penetra a parede intestinal migrando para as vísceras em geral, podendo apresentar-se de forma assintomática ou causando alterações, como dor abdominal, manifestações alérgicas, comprometimento pulmonar e ocular, sendo a maior causa de cegueira infantil.

Esta parasitose apresenta-se como um problema de grande importância para a saúde pública no Brasil e no Mundo, mas que não tem recebido atenção necessária para a redução do seu impacto populacional. Portanto, devido a ausências de levantamentos epidemiológicos no município de Uberlândia e da grande probabilidade de sua existência, despertou o interesse pelo estudo da frequência de anticorpos anti-*Toxocara* sp. em soros de crianças residentes neste município e em municípios vizinhos atendidas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia HC-UFU.

Objetivos

3- OBJETIVOS

3.1- Objetivo Geral

Estudar a frequência de anticorpos anti-*Toxocara* sp. em soro de crianças com idade entre um e quinze anos, de ambos os sexos, atendidas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU), Uberlândia – Minas Gerais .

3.2- Objetivos Específicos

- ✓ Determinar a frequência de anticorpos anti-*Toxocara* sp. através do ELISA;
- ✓ Verificar se as variáveis biológicas e sociais, sexo, idade, procedência e zona de origem podem ser consideradas fatores de risco para Toxocaríase;
- ✓ Verificar se as variáveis ambientais (presença de animal, contato com areia, local de contato com areia) e comportamentais (hábito de geofagia), podem ser considerados fatores de risco para toxocaríase;
- ✓ Verificar se sinais clínicos como, problemas respiratórios, anemia, crises convulsivas, dor de cabeça, dor abdominal e eosinofilia das crianças podem se associar a Toxocaríase humana.

Material e Métodos

4- MATERIAL E MÉTODOS

4.1- População de estudo

Para este estudo foram selecionados, de acordo com o aceite dos responsáveis, 242 crianças, com idade entre um e quinze anos, de ambos os sexos, atendidas por sintomas diversos no período de 25 de fevereiro a 24 de setembro de 2003, no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia HC-UFU, Uberlândia – Minas Gerais e encaminhadas ao Laboratório de Análises Clínicas UFU, para coleta de sangue.

4.2- Obtenção das amostras de sangue

No atendimento foram colhidas amostras de cinco mililitros (5mL) de sangue, utilizando-se tubo coletor tipo Vacutainer (VACUTAINER-EUA). A coleta foi realizada por enfermeiros do Laboratório de Análises Clínicas UFU, através de punção da veia periférica, preferencialmente de veia braquial.

Todos os tubos com sangue foram identificados com nome, número do prontuário do paciente, data e local da coleta.

Posteriormente, o material foi transportado ao laboratório de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia (ICBIM-UFU).

4.3- Obtenção do soro

Para obtenção do soro as amostras foram submetidas à centrifugação (Fanem - São Paulo) a 500g por cinco minutos. Posteriormente, distribuídas em alíquotas de 1mL em tubos de polietileno tipo “eppendorff” e armazenadas a -20°C .

4.4-Obtenção das formas adultas de *T. canis*

Parasitos adultos de *T. canis* foram obtidos por meio de necrópsia de intestino delgado de cães, provenientes do Hospital Veterinário da UFU e através de fezes de cães jovens tratados com sulfato de Piperazina 46% (dose de 45mg/Kg), provenientes de clínicas veterinárias particulares do município de Uberlândia.

Os parasitos foram lavados, com salina (0,85%), sendo separados em machos e fêmeas. Somente as fêmeas foram utilizadas, sendo colocadas em placa de Petri de 12cm de diâmetro, contendo solução fisiológica estéril e guardadas a 4°C . Posteriormente foram transportadas em caixa de isopor contendo gelo reciclável, ao Laboratório de Imunopatologia da Esquistossomose do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (IMT-SP) (LIM-06), para elaboração e obtenção do antígeno de Excreção-Secreção (ES). de larvas de *T. canis*

4.5- Elaboração e obtenção do Antígeno de produtos de Excreção-Secreção (ES) das larvas de *T. canis* e Antígeno Somático de *Ascaris Suum*

Todo o procedimento foi realizado no Laboratório de Imunopatologia da Esquistossomose do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (IMT-SP) (LIM-06), sob a orientação dos professores, Dr. Pedro Paulo Chieffi e Dra. Susana A. Zevallos Lescano.

4.5.1- Obtenção de ovos larvados de *T. canis*

Para obtenção dos ovos, utilizou-se técnica de HANSEN et al. (1954) modificada.

As fêmeas do parasito foram colocadas em Placa de Petri com água acidificada em Capela de Fluxo Laminar. Estas foram cortadas no terço anterior do corpo para a retirada do útero, o qual foi macerado em Gral e Pistilo para permitir liberação dos ovos. O conteúdo obtido das fêmeas foi depositado em cálice de sedimentação, adicionando-se água destilada para lavagem dos ovos e para completar o recipiente .

O conteúdo foi mantido em repouso, por três horas. Em seguida o sedimento foi colhido com pipeta de Pasteur, transferindo-se os ovos para um frasco de 250 mL, de boca larga, com aproximadamente 100 mL de formalina a 2,0%.

O frasco foi coberto com tampão de gaze e algodão e armazenado em estufa de 28° C, durante um mês, para que ocorresse o desenvolvimento das larvas até o terceiro estágio. Diariamente o frasco foi agitado para favorecer a oxigenação dos ovos.

Os ovos larvados foram lavados três ou quatro vezes com solução fisiológica, por centrifugação, em tubos plásticos a 2000 rpm, por dois minutos à temperatura ambiente, até perder o odor de formol. O sedimento foi ressuspenso em solução de hipoclorito de sódio a

5% por três minutos (37° C para remover as camadas proteicas e quitinosa, observando em microscópio até que as camadas se mostrassem bem finas).

Os ovos com solução fisiológica, foram novamente lavados, sendo a última lavagem realizada com Meio de Eagle sem soro (Instituto Adolf Lutz – SP), contendo Gentamicina (80µg/mL), para a completa remoção do Hipoclorito de Sódio.

Os ovos larvados e decorticados foram utilizados para obtenção de antígenos dos produtos de Excreção-Secreção (ES).das larvas

4.5.2- Obtenção das larvas de fêmeas adultas de *T. canis*

O processo de obtenção das larvas foi realizado conforme a metodologia descrita por URBAN et al .(1981), com modificações.

A solução contendo os ovos larvados e descortinados foi transferida assepticamente para Erlenmeyer, contendo camada de pérolas de vidro esterilizadas. O frasco foi mantido a temperatura de 37°C e manualmente agitados por três a cinco minutos até a liberação completa das larvas vivas. Em seguida as larvas foram lavadas, em Meio de Eagle sem soro (Instituto Adolf Lutz – SP) contendo Gentamicina (80 µg/ml) por centrifugação a 2000rpm durante dois minutos, para a remoção dos restos de embrionamentos. As larvas em suspensão foram, colocadas em aparelho de Baermann modificado, montado em fluxo laminar, para separação das larvas vivas. Este conteúdo foi mantido em aparelho de Baermann, por quatro horas. Aproximadamente 5 mL da suspensão foi coletada em um primeiro tubo estéril de 16 mL, o tubo foi colocado em estufa a 37°C. Ao restante do conteúdo foi adicionado mais Meio de Eagle sem soro (Instituto Adolf Lutz – SP), ficando em contato com o Meio por 24 horas, período necessário para a sedimentação das larvas vivas. Posteriormente, as larvas foram

coletadas e colocadas em tubos estéreis 16 mL. Estas foram usadas para a obtenção do antígeno de produtos de excreção e secreção de *T. canis*.

4.5.3- Obtenção do antígeno de produtos de Excreção-Secreção (ES) de larvas de fêmeas adultas *T. canis*

As larvas coletadas em tubos de 5mL, contendo Meio de Eagle sem soro (Instituto Adolf Lutz – SP) e Gentamicina (80 µg/mL) com uma concentração aproximada de 1×10^4 mL de larvas e foram incubadas a 37°C durante sete dias. Estes foram diariamente agitados para garantir a aeração. Após este período, não havendo contaminação e mortalidade das larvas superior a 5%, permitiu-se a sedimentação das larvas e o meio foi assepticamente aspirado. Volumes de meio estéril, foram colocados nos tubos com larvas, retornando-os a estufa (SAVINGNY, 1975). Ao meio aspirado (antígeno) acrescentou-se inibidor de protease (Phenyl-methyl-sulphonyl-fluoride) 200 nM (5 µL/mL de meio coletado), este foi dialisado em água destilada, centrifugado a 4° C, 15000 rpm durante 60 minutos e filtrado em Membrana Millipore de 0,22 µ. Realizou-se dosagem protéica pelo Método de Lowry et al. (1956) e o antígeno foi conservado em alíquotas a -20° C até o momento do uso.

4.5.4- Obtenção do antígeno Somático de formas adultas de *Ascaris suum*

Os adultos, fêmeas e machos de *A. suum*, foram obtidos do intestino de porcos abatidos em frigoríficos do município de Uberlândia, MG. Estes após coleta e identificação, foram lavados e armazenados em solução fisiológica estéril e geladeira a 4°C, até o momento do uso.

Os parasitos adultos foram fragmentados e macerados em gral e pistilo com água destilada (Mille Q) até que se obtivesse uma mistura homogênea. Este conteúdo foi transferido para um béquer, acrescentou-se NaOH 1,5 M (com uma concentração final de 0,15 M). Passados duas horas, à temperatura ambiente, o extrato foi neutralizado com ácido clorídrico (HCl), com volume aproximado de 1,5 mL, até que se conseguisse neutralizá-lo (pH = 7). Em seguida centrifugou-se o conteúdo em centrífuga refrigerada a 15000rpm por 30 minutos a 4°C.

O sobrenadante foi filtrado em papel filtro comum por três vezes, posteriormente, em Filtro Millipore de 0,22 μ e acrescentou-se 1/3 do volume total de éter sulfúrico, sob agitação e deixou-se 24 horas dentro da capela. A camada de éter foi removida e o conteúdo foi novamente centrifugado a 15000rpm por 20 minutos a 4°C, em centrífuga refrigerada. Coletou-se o sobrenadante, adicionou-se inibidor de proteases (PMSF) em proporção de 5 μ L/mL de sobrenadante.

4.5.6- Avaliação de proteínas

As proteínas dos extratos antigênicos de produtos de Excreção-Secreção (ES) e antígeno Somático de *A. suum* (AS), foram avaliadas pelo método de Lowry et al. (1956), em relação à curva padrão de albumina sérica bovina (BSA-Sigma Chemical Company).

4.6- Ensaio Sorológico

4.6.1 - ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) para *Toxocara* sp.

Foi utilizado o ELISA IgG, baseado no método descrito por Savigny (1979), com modificações.

Placas de Poliestireno com fundo em U (COSTAR 3590), foram sensibilizadas com antígeno de Excreção-Secreção (ES) de *T. canis* diluído na proporção de 1:800 (12,5 µL de antígeno em 100 mL de PBS). Depois de sensibilizadas as placas foram incubadas em estufa a 37°C por duas horas e depois a 4° C por 16 horas. Depois de incubadas, estas foram lavadas 3 vezes durante cinco minutos com PBS Tween- 20 (0,05%) (PBS-T) e procedeu-se o bloqueio dos sítios específicos com solução de PBS-T (0,05%) (200 µl por poço) e foram novamente incubadas por uma hora a 37° C. As amostras de soro das crianças, os soros “pool” positivos, “pool” negativos e os soros limiar de reatividade (SLR), foram diluídos em 400 microlitros de Absorvente (antígeno de *A. suum* 1:200 em PBS-T) na proporção de 1:160 para a triagem e 1:80 na titulação de soros.

Em cada placa colocou-se a partir da segunda fileira 100 µL de PBS-T até a coluna onze. Na primeira fileira acrescentou-se 200 µL dos soros das crianças, previamente absorvidos com antígeno de *A. suum* e passou-se 100 µL com pipeta Multicanal para as fileiras seguintes diluindo assim os soros e desprezando os últimos 100 µL. Na coluna doze, colocou-se 100 µL dos soros padrão positivo e negativo em triplicata, assim como os brancos (PBS-T). As placas foram incubadas por 40 minutos a 37°C e a seguir, foram lavadas 3 vezes por cinco minutos; após lavagem aplicou-se 1,25 µL de conjugado anti IgG humana marcada com peroxidase diluído em PBS-T 1:8000, (100 µl por poço) e as placas foram incubadas por

40 minutos a 37°C. Estas foram novamente lavadas três vezes por cinco minutos. A revelação foi feita com OPD (Phenylendiamin) (MERCK) diluído em tampão Citrato fosfato + H₂O₂ a 30% (100 µL por poço) por 30 minutos a temperatura ambiente, protegido da luz.

Para a parada da reação utilizou-se H₂SO₄ 4 N, (50 µL por poço). A densidade óptica (DO) foi lida em aparelho Titertek Multiskan MCC/340 utilizando o filtro de 492 nm. Foram considerados positivos os soros com densidade óptica acima da DOs dos Soros Limiar de Reatividade (SLR) e título maior ou igual a 160.

4.7- Inquérito Epidemiológico

Os dados das crianças, tais como sexo, idade e procedência foram registrados em protocolo individual. As informações sobre os dados ambientais e comportamentais (hábito de geofagia, contanto com areia e presença de cão), foram obtidos por meio de entrevistas com os pais ou responsáveis, através de questionário investigativo (Anexo II).

Para obtenção dos sinais clínicos (problemas respiratórios, dor abdominal, de cabeça crises convulsivas, anemia e eosinofilia), realizou-se análise dos 187 prontuários que estavam completos em relação às informações. Esses foram obtidos no setor de Arquivo Médico UFU e foram preenchidos pelos médicos e ou residentes do HC-UFU no momento da consulta.

4.8- Termo de Consentimento

Para a viabilização deste trabalho, os responsáveis pelas crianças que participaram deste trabalho, assinaram um termo (Anexo I), consentindo a utilização das amostras de sangues, colhidas no Laboratório de Análises Clínicas do HC-UFU.

4.9- Submissão a Comissão de Ética

Este estudo foi examinado e aprovado sem restrição de ordem ética, pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal Uberlândia.

4.10- Análise Estatística

4.10.2-Análise das variáveis e das prevalências

Para a análise estatística, os dados colhidos foram digitados em banco de dados, criado através do software Epi-info (versão 6.04). A verificação da presença de associação entre as variáveis epidemiológicas e a presença de anticorpos anti-*T. canis* foi feita, calculando-se como medida de efeito o “Odds Ratio” e respectivos intervalos de confiança 95% bem como aplicados os testes estatísticos χ^2 (Qui-quadrado) e teste Exato de Fisher com alfa igual a 5%.

4.11- Normas de Biossegurança

Todo processamento de colheita, manuseio do material biológico e dos reagentes bem como a utilização dos equipamentos foi realizada segundo as normas de biossegurança compatíveis (CHAVES-BORGES; MINEO, 1997).

Resultados

5- RESULTADOS

5.1- Distribuição da frequência e dos títulos de anticorpos anti-*Toxocara* sp.

Das 242 amostras de soros de crianças, 21 (8,7%) apresentaram-se positivas para anticorpos anti-*Toxocara* sp. (Tabela 1).

A tabela 2 apresenta a distribuição sorológica de anticorpos anti-*Toxocara* sp. dos títulos em soro das crianças.

TABELA 1

Distribuição da frequência de anticorpos anti-*Toxocara* sp. detectados pela reação de ELISA, em soros de crianças de um a quinze anos de idade, atendidas no HC- UFU.

Resultado da Sorologia	Nº de Indivíduos	Frequência (%)
Negativo	221,0	91,3
Positivo	21,0	8,7
Total	242	100

TABELA 2

Distribuição sorológica de títulos de anticorpos anti-*Toxocara* sp. detectados pela reação de ELISA, em soros de crianças de um a quinze anos de idade, atendidas no HC- UFU.

Títulos Sorologia	Nº de Indivíduos	Frequência (%)
Negativo	221,0	91,0
160	7,0	2,8
320	7,0	2,8
640	2,0	1,0
1.280	2,0	1,0
2.560	1,0	0,4
>10.240	2,0	1,0
Total	242	100

5.1.2- Perfil das crianças com sorologia positiva para anticorpos anti-*Toxocara* sp.

A análise epidemiológica possibilitou traçar o perfil dos indivíduos com níveis positivos de anticorpos anti-*T. canis* no soro. Observa-se que, 14 (66,7%) indivíduos são do sexo masculino e 7 (33,3%) feminino, com idade média de 5,8 e desvio padrão de 3,04. Das pessoas soropositivos, 19 (90,5%) residem em Uberlândia e são de origem urbana e 2 (9,5%) em outras cidades do Brasil, sendo provenientes da zona rural (Tabela 3).

Em relação à criação de animais domésticos, o gato é único animal presente em 6 (28,6%) residências; o cão em 2 (9,5%); 4 (19%) residências possuem a presença de cão e gato e outras 9 (42,9%) não possuem nenhum desses animais (Tabela 3).

O hábito da geofagia e o contato com areia é observado, em 5 (23,6%) e 13 (61,9%) das 21 crianças positivas, respectivamente (Tabela 3).

TABELA 3

Perfil das crianças com sorologia positiva para anticorpos anti-*Toxocara* sp., atendidas no HC-UFU.

Variável		Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)
Sexo	Masculino	14,0	66,7
	Feminino	7,0	33,3
Cidade	Uberlândia	19,0	90,5
	Outras	2,0	9,5
Zona de Origem	Urbana	19,0	90,5
	Rural	2,0	9,5
Presença de animal	Gato	6,0	28,6
	Cão	2,0	9,5
	Cão/Gato	4,0	19,0
	Nenhum	9,0	42,9
Geofagia	Sim	5,0	23,6
	Não	16,0	76,4
Contato Com Areia	Sim	13,0	61,9
	Não	8,0	38,1
TOTAL		21	100

5.2- Avaliação dos fatores de risco para toxocaríase em crianças segundo análise de questionário investigativo.

5.2.1- Fatores de risco segundo as variáveis biológicas e sociais

A tabela 4 apresenta os resultados da análise entre as variáveis biológicas e sociais investigadas e a presença de anticorpos anti-*Toxocara* sp. Observa-se que as variáveis, sexo, idade, procedência e zona de origem não apresentam relação estatisticamente significativa ($p > 0,05$), com a sorologia positiva para anticorpos anti-*Toxocara* sp. em soro de crianças.

TABELA 4

Distribuição da frequência (%) de anticorpos anti-*Toxocara* sp. e Odds Ratio, segundo variáveis biológicas e sociais em crianças atendidas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.

Variável	Amostra (n)		Toxocaríase	OR	IC	P
		Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)			
Sexo	Masculino	119,0	50,8	11,7	2,2	0,09
	Feminino	123,0	49,2	5,6	1,0	
Idade	(01-05)	145,0	59,9	6,8	1,0	0,18
	(06-10)	83,0	34,3	12,0	1,8	
	(11-15)	14,0	5,8	7,1	1,04	
Procedência	Uberlândia	220	90,9	8,6	1,0	0,59
	Outras	22,0	9,1	9,0	1,06	
Zona de Origem	Urbana	235,0	97,1	8,1	1	0,11
	Rural	7,0	2,9	28,6	4,55	

OD – Odds Ratio; IC – Intervalo de Confiança;

5.2.2- Fatores de risco segundo as variáveis ambientais e comportamentais

As variáveis ambientais (presença de animal, contato com areia, local de contato com areia) e comportamentais (hábito de geofagia) sugerem associação significativa ($p < 0,05$) com a positividade de anticorpos anti-*Toxocara* sp. nos soros analisados (Tabela 5).

Em relação à presença de animais no domicílio, pode-se observar que a variável presença de cão (Odds ratio = 1,07, com intervalo de confiança variável entre 0,33 e 3,8) não se associa significativamente com frequência de anticorpos anti-*Toxocara* sp. nos soros sanguíneos. No entanto, a variável presença de gato (Odds ratio = 7,08 com intervalo de confiança variável entre 0,52 e 60,6), apresenta resultado próximo ao grau de confiança adotado, com risco sete vezes maior de ocorrer sorologia positiva para toxocaríase, nas residências que possuem essa espécie animal, em relação às que não possuem animal de estimação em casa. Ao se associar a presença de cães e gatos no domicílio com a frequência de anticorpos anti-*Toxocara* sp. (Odds ratio = 3,57, com intervalo de confiança variável entre 1,13 e 11,32), observa-se que os indivíduos, em cujos domicílios há a presença dessas duas espécies de animais, possuem risco 3,57 vezes maior de apresentarem sorologia positiva para toxocaríase em relação às que não possuem animais em domicílio, sendo essa associação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) (Tabela 5).

Em relação às variáveis contato com areia (Odds ratio = 2,23 e intervalo de confiança variável entre 0,89 e 5,61) e hábito de geofagia (Odds ratio = 2,56 e intervalo de confiança variável entre 0,67 e 8,1), ambas não apresentam associação estatisticamente significativa ($p > 0,05$) com a sorologia. A análise em relação ao local de contato, mostra que a variável casa (Odds ratio = 1,65 e intervalo de confiança variável entre 0,54 e 5,08), juntamente com a associação das variáveis casa e escola (Odds ratio = 1,76 e intervalo de confiança variável entre 0,04 e 15,92) não se relacionam significativamente com a sorologia positiva para anticorpos anti-*Toxocara* sp.. Observa-se que a variável escola (Odds ratio = 7,94 e intervalo de confiança variável entre 1,40 e 37,7) associa-se significativamente ($p < 0,05$) com a presença de anticorpos anti-*Toxocara* sp. em soro dos investigados (Tabela 5).

TABELA 5

Distribuição da frequência (%) de anticorpos anti-*Toxocara* sp. e Odds Ratio, segundo variáveis ambientais e comportamentais em crianças atendidas no Hospital de Clínicas

Variável	Amostra (n)		Toxocariase	OR	IC	P
	Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)				
Presença de Animal	Cão	128,0	52,9	7,0	1,07	(0,33-3,8) 0,89
	Gato	6,0	2,5	33,3	7,08	(0,52-60,6) 0,07
	Cão/Gato	17,0	7,0	23,5	3,57	(1,13-11,32) 0,04*
	Nenhum	91,0	37,6	6,6	1,0	
Contato com Areia	Não	136,0	56,2	5,9	1,0	
	Sim	106,0	43,8	12,3	2,23	(0,89-5,61) 0,08
Local de Contato c/ Areia	Casa	85,0	35,1	9,4	1,65	(0,54-5,08) 0,33
	Escola	12,0	5,0	33,3	7,94	(1,40-37,7) 0,009*
	Casa/Escola	10,0	4,1	10,0	1,76	(0,04-15,92) 0,48
	Nenhum	135,0	55,8	5,9	1,0	
Hábito de Geofagia	Não	213	88	7,5	1,0	
	Sim	29	12	17,2	2,56	(0,67-8,1) 0,08

OD – Odds Ratio; IC – Intervalo de Confiança;
* - Valores Significantes; p < 0,05

5.3- Avaliação das variáveis clínicas segundo análise de prontuários médicos

A tabela 6, apresenta a distribuição das variáveis clínicas em relação a sorologia positiva para Toxocaríase, observadas em 187 prontuários das crianças investigadas.

Observa-se que problemas respiratórios podem associar-se significativamente ($p < 0,05$) com a sorologia positiva para Toxocaríase (Tabela 6).

Em relação aos sinais como dor abdominal, dor de cabeça e crises convulsivas observa-se que estes não mostram associação estatística significativa ($p > 0,05$) com a presença de anticorpos anti-*Toxocara* sp. nos soros investigados (Tabela 6).

Observa-se que os sinais hematológicos como anemia e eosinofilia, não mostram relação estatística significativa ($p > 0,05$) com a sorologia positiva para Toxocaríase (Tabela 6). Observando relação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) para níveis de eosinófilos superiores a 20%(Tabela 6).

TABELA 6

Distribuição das variáveis clínicas em relação a sorologia positiva para Toxocaríase segundo análise de 187 prontuários de crianças atendidas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia HC-UFU.

Variável		Toxocaríase				Total		P
		Positivos		Negativos				
		Nº	%	Nº	%	N	%	
Problemas Respiratórios	Sim	6,0	15,8	32,0	84,2	38,0	100	0,01*
	Não	7,0	4,7	142,0	95,3	149,0	100	
Dor abdominal	Sim	2,0	10,5	17,0	89,5	19,0	100	0,62
	Não	11,0	6,5	157,0	93,5	168,0	100	
Dor de Cabeça	Sim	1,0	10,0	9,0	90,0	10,0	100	0,9
	Não	12,0	6,9	161,0	93,1	173,0	100	
Anemia	Sim	1,0	10,0	9,0	90,0	10,0	100	0,52
	Não	12,0	6,7	165,0	93,3	177,0	100	
Epilepsia	Sim	2,0	16,6	10,0	83,4	12,0	100	0,19
	Não	11,0	6,3	164,0	93,7	175,0	100	
Eosinofilia	Sim	11,0	7,6	133,0	92,4	144,0	100	0,73
	Não	2,0	4,6	41,0	95,4	43,0	100	
Eosinofilia	≥ 20%	5,0	55,5	4,0	44,4	9,0	100	0,0001*
	< 20%	6,0	4,4	129,0	95,6	135,0	100	

* - Valores Significantes; $P < 0,05$

Discussão

6- DISCUSSÃO

6.1- Distribuição da frequência e dos títulos de anticorpos anti-*Toxocara* sp.

A frequência de anticorpos anti-*Toxocara* sp. observada nas amostras de sangue das crianças examinadas, sugere um precedente contato delas com esse helminto, o que não possibilita definir a real situação da Toxocaríase no município. Em Uberlândia, não existem relatos na literatura sobre levantamentos sorológicos para anticorpos anti-*Toxocara* sp. Os estudos existentes (COSTA-CRUZ, et al. 1994), estão relacionados à prevalência de ovos e larvas em praças públicas, o que tornaria possível a infecção.

Neste estudo, a frequência observada é menor que os resultados encontrados por Anaruma-Filho et al. (2003), que relataram 17,9% de soropositividade no município de Campinas e por Alderete et al. (2003) que observaram 38,8% na Região do Butantã, realizados no Estado de São Paulo. O mesmo foi observado em outros países. Alonso et al. (2000) observaram 37,9% de prevalência na Argentina e Ajayi et al. (2000), 29,8% na Nigéria. Esses autores associaram essas taxas a fatores de ordem socioeconômica e às precárias condições sanitárias. Pode-se conjecturar que os resultados observados podem ser devidos às características da população estudada, que reside em sua maioria na zona urbana, onde se espera que as condições sanitárias e higiênicas sejam melhores.

Analisando qualitativamente os resultados da reação sorológica (ELISA), observamos títulos variados de anticorpos anti-*Toxocara* sp.. Alderete et al (2003), relatam que apesar do ELISA ser o melhor e mais importante método para diagnosticar Toxocaríase, ainda permanece ignorado o significado dos títulos dos anticorpos. Alguns estudos relatam que os

anticorpos persistem por um longo período de tempo, devido a repetida estimulação de antígenos, resultante da persistência da larva viva nos tecidos ou por um período de reinfecção (BEAVER 1969; GLICKMAN; SCHANTZ 1981). Por outro lado Schantz (1989), menciona que nem sempre pode se relacionar infecção por *T. canis*, sintomas clínicos e titulação. Pesquisas sugerem que, a infecção e altos títulos nem sempre se relacionam com manifestações clínicas. Para Alderete et al. (2003), a interpretação dos dados de soroprevalência é difícil, devido ao uso de diferentes pontos de corte utilizados em várias pesquisas para determinar títulos, dificultando relacionar títulos, infecção e manifestação clínica.

6.2- Avaliação dos fatores de risco para Toxocaríase em crianças segundo análise de questionário investigativo.

6.2.1- Fatores de risco segundo as variáveis biológicas e sociais

Não foi observada associação estatística significativa para sexo, idade, procedência e zona de origem com a presença de anticorpos anti-*Toxocara* sp., sugerindo-se que essas características podem não associar-se a prevalência da Toxocaríase. Esses resultados corroboram com os de Moreira et al. (1998), em Vitória (Brasil) e com os de EMBIL et al. (1988) em Halifax (Canadá). Em relação à procedência, Fenoy; Cuéllar; Guillén. (1997), na Espanha e Ljungström; Knapen (1989), na Suécia, observaram resultados contrários, pois a maior frequência de anticorpos anti-*T. canis* estava associada a indivíduos provenientes de comunidades rurais. Esses autores atribuem tais observações à intensa população de cães encontrada na zona rural. Pode-se supor que os resultados observados neste estudo

relacionam-se com o perfil da amostra estudada, já que a maior parte dos entrevistados eram provenientes de área urbana, sendo assim, sugere-se que Toxocaríase humana é uma zoonose que não se associa com o local de residência e sim com os hábitos higiênicos dos moradores de cada região.

6.2.2- Fatores de risco segundo as variáveis ambientais e comportamentais

As variáveis ambientais e comportamentais associaram-se significativamente com a positividade de anticorpos anti-*Toxocara* sp.. Esses fatores podem ser considerados específicos ou de risco para a Toxocaríase.

Neste estudo, a presença do cão não pôde ser considerada fator de risco para a população, entretanto observa-se que a presença do gato oferece maior risco. Quando se faz associação, verifica-se que ambos podem ser causa de infecção, quando presentes em residências. Glickman; Schantz (1981) relataram que o homem pode infectar-se tanto por ovos de *T. canis* quanto de *T. cati*. Martinez-Barbabosa et al. (2003) demonstram a possibilidade de infecção humana por *T. cati*, já que estes são muito prevalentes em felídeos. Os resultados do presente estudo são contrários à literatura, que considera a presença do cão como maior fator de risco, uma vez que esses animais são os hospedeiros do parasito *T. canis*, considerado a maior causa da Toxocaríase humana. Esses resultados podem estar relacionados a dados amostrais, podendo os indivíduos entrevistados possuírem maior número de gatos infectados do que cães, não descartando, assim a possibilidade de infecção por *T. cati* e ou por *T. canis*. Deve-se ressaltar, que o felino pode se infectar também por *T. canis*, o que aumenta a probabilidade de contaminação do solo por ovos dessa espécie.

O hábito de geofagia e o contato com areia não se relacionaram com a presença de anticorpos anti-*T.canis*, podendo não oferecer risco de infecção para toxocaríase. Estes resultados não corroboram com os relatos feitos por Holland et al. (1995) e por Ajayi et al. (2000) que observaram associação altamente significativa entre soropositividade para *Toxocara* e geofagia. Acredita-se que, os resultados desta pesquisa correlacionem-se com os métodos de investigação, já que envolveram fatores de ordem pessoal, podendo os indivíduos sentirem-se constrangidos ao relatar alguns destes hábitos ou estar ligados a fatores que exigiriam memória dos entrevistados. Neste caso as informações poderiam não ser dadas com exatidão, em relação ao tempo correto do fato.

A análise epidemiológica revelou a importância do local de contato, mostrando que as variáveis casa, juntamente com a associação casa e escola não correlacionam com a sorologia positiva. Tal fato, indicou que a variável escola possui grande importância epidemiológica, podendo ser considerado fator de risco para as crianças que brincam nestes locais. Esses resultados contrastam-se com as observações feitas por Worley et al. (1984), na Irlanda e por Holland et al. (1995), nos Estados Unidos, que comentam que títulos positivos para anticorpos anti-*T. canis* não se relacionam com o fato de a criança freqüentar a escola e sim, ao conjunto de fatores ligados a hábitos higiênicos e comportamentais dos indivíduos. Deve-se ressaltar que a escola pode oferecer maior risco de infecção, devido a freqüente presença de parques cobertos por areia, provenientes de depósitos que não se preocupam com a origem, proteção e adequada manutenção, fato observado por Teixeira, (2002) que avaliou as condições das instituições de ensino infantil de Uberlândia, Minas Gerais.

6.3- Avaliação das variáveis clínicas segundo análise de prontuários médicos.

Problemas respiratórios se correlacionaram significativamente com a positividade de anticorpos anti-*Toxocara* sp. no soro das crianças examinadas. Esses resultados contradizem os resultados de Worley et al. (1984) que não observaram associação entre sinais respiratórios e sorologia positiva para *T. canis*. Por outro lado Snyder (1961), relata que, problemas respiratórios estão comumente ligados a Toxocaríase, estando presentes na maioria dos casos notificados. Através da análise deste estudo, pode-se conjecturar que esses distúrbios se mostraram específicos, podendo estar relacionados à infecção por *Toxocara* nos indivíduos.

Em relação a sinais como dor de cabeça, dor abdominal e crises convulsivas, observa-se que esses males não se relacionaram com a sorologia positiva para toxocaríase. Esses resultados não corroboram com os relatos de Machado; Achkar (2003) e González et al. (2000), ressaltaram que a Toxocaríase está associada a múltiplos quadros clínicos, principalmente sinais como, febre, dor abdominal, cefaléia e convulsões. Nota-se que os sinais clínicos apresentados pela Toxocaríase humana, são variados, podendo esta ser confundida com outras doenças. Sendo assim, pode-se conjecturar que os resultados apresentados neste estudo, estejam associados às características da amostra estudada, indivíduos que procuram atendimento hospitalar para tratamento de outras enfermidades com sintomas semelhantes a Toxocaríase.

Alterações como, anemia e eosinofilia não mostraram relação estatística significativa com presença de anticorpos anti-*Toxocara* sp. Estes resultados corroboram com os dados da pesquisa de Anaruma-Filho (2002), que também não correlacionou estas alterações com a prevalência de Toxocaríase. Abe-Jacob et al. 1984, Radman et al. 2000 e Magnaval et al.

2001, observaram que, embora a anemia e a eosinofilia sejam descritas em casos clínicos de Toxocaríase, o encontro destes sinais não tem sido assinalado em indivíduos com sorologia positiva e sintomas compatíveis com esta zoonose. Porém para níveis de eosinófilos superior a 20% observou-se associação estatística significativa, o que poderia associar estes valores à infecção por *Toxocara* sp ou a processos alérgicos. Dessa forma, pode-se presumir que os resultados do presente trabalho são devido à multiplicidade de causas apresentadas, tanto para a eosinofilia quanto para a anemia, uma vez que, estas disfunções se associam a várias enfermidades apresentadas pela população estudada.

Conclusão

7- CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos no estudo da frequência de anticorpos anti-*Toxocara* sp. em amostras de soro de crianças atendidas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, HC- UFU Uberlândia Minas Gerais, pode-se concluir que:

- ✓ Detectou-se frequência de 8,7% de positividade para anticorpos anti-*T. canis* nas amostras de soro.
- ✓ A frequência observada, sugere precedente contato das crianças com o helminto, o que não possibilita definir a real situação da Toxocaríase na região.
- ✓ Quantitativamente os títulos da reação sorológica (ELISA), variaram entre 160 a títulos maiores que 10.240.
- ✓ As variáveis biológicas e sociais sexo, idade, procedência e zona de origem não podem ser consideradas fatores de risco para Toxocaríase humana.
- ✓ As variáveis ambientais, presença de animal e local de contato com areia podem ser consideradas fatores de risco para Toxocaríase humana.
- ✓ Os sinais clínicos problemas respiratórios podem se associar a Toxocaríase humana.

Anexo

8-ANEXO
8.1-ANEXO I

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E
PARASITOLOGIA APLICADAS

TERMO DE CONSENTIMENTO

Eu _____,
Identidade: _____ Órgão Expeditor: _____ Estado: _____. Sob

Consinto na colheita de amostras de sangue de _____. Sob responsabilidade legal, estas serão reaproveitadas de amostras usadas para fins hospitalares, sendo utilizadas somente para realização da pesquisa de anticorpos anti-*Toxocara canis* em soro, a ser realizada no Laboratório de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia, pela docente Dra. Márcia Cristina Cury e a discente Cristiane Rodrigues Teixeira.

Terei a garantia de receber a resposta de qualquer pergunta, ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a investigação.

Terei, também a garantia de recusar a participar ou até retirar meu consentimento em qualquer fase da pesquisa sem penalizações ou prejuízo no que se refere ao atendimento.

Terei, a garantia de que receberei os resultados de todos os exames realizados nesta pesquisa.

Será respeitado o caráter confidencial das informações fornecidas, não sendo permitida a minha identificação.

Assinatura

Uberlândia, ____/____/____.

8.2- ANEXO II

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

Número do Prontuário: _____ Data: ____/____/____
Identificação _____

- 1- Idade da Criança? _____
- 2- Sexo: Masculino ☐ Feminino ☐
- 3- Naturalidade (Cidade) _____
- 4- Origem: Urbana ☐ Rural ☐.
- 5- A criança possui cão ou gato em casa ? Sim ☐ Não ☐.
- 6- Que animal possui? Cão ☐ Gato ☐ Cão/Gato ☐.
- 7- A criança possui o hábito de geofagia (comer terra ou areia)? Sim ☐ Não ☐.
- 8- A criança brinca com freqüência em bancos de areia ou terra ? Sim ☐ Não ☐
- 9- Onde a criança brinca com areia ou terra ? Casa ☐ Escola ☐ Clube ☐ Locais Públicos ☐ Casa/Escola ☐.
- 10- Resultado de exame Sorológico: Positivo ☐ Negativo ☐.
- 11- Título da Reação Sorológica: _____

Referências Bibliográficas

9- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ABE-JACOB, C. M. et al. Larva migrans Visceral por *Toxocara canis*. Estudo das características clínicas e laboratoriais de 7 casos humanos. *Revista Associação Medicina Brasileira*, v. 30, p. 187-191, 1984.

ABE-JACOB, C. M. *Análise evolutiva dos parâmetros clínico-laboratoriais da toxocaríase visceral na infância*. 1995. 173f. Tese (Doutorado em Medicina) - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

ABE-JACOB, C. M. et al. Clinical and laboratorial features of visceral toxocariasis in infancy. *Revista Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 36, p. 19-26, 1995.

ALONSO, J. M. et al. *Toxocara* seroprevalence in children from a subtropical city in Argentina. *Revista Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 42, n.4, p.235-327, 2000.

ALDERETE, J. M. S. et al. Prevalence of *Toxocara* infection in schoolchildren from the Butantã region, São Paulo, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 98, n.5, p. 593-597, 2003.

ANARUMA-FILHO, F. *Toxocaríase humana e parasitoses intestinais em áreas sob risco de enchentes no município de Campinas, Estado de São Paulo, Brasil*. 2002. 80f. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, São Paulo. 2002.

ANARUMA-FILHO, F. et al. Human toxocariasis: a seroepidemiological survey in municipality of Campinas (SP) *Revista Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 44, n.6, p. 303-307, 2002.

ANARUMA-FILHO, F. et al. Human toxocariasis: incidence among residents in the outskirts of Campinas, State of São Paulo, Brazil. *Revista Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* v. 45, n. 5, p. 293-294, 2003.

*As Bibliografias estão de acordo com ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, NBR 6023: Referências bibliográficas. Rio de Janeiro: ABNT, 2002. 24p.

AYAYI, O. O. et al. Frequency of human toxocariasis in Jos, Plateau State, Nigeria. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 2, p.147-149, 2000.

BACH-RIZZATTI, B. C. **Desenvolvimento de teste imunoenzimático ELISA, para o diagnóstico da toxocaríase humana..** 1984. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1984.

BARRIGA, O. O. A critical look at importance, prevalence and control of toxocariasis and possibilities of immunological control. **Veterinary Parasitology**, v. 29, p. 195-234. 1988

BASS, J. L. et al. Asyntomatic toxocariasis in children. **Clinical Pediatrics**, v. 26, n. 9 p. 441-446, 1987.

BEAVER, P. C. et al. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans: Report of three cases. **Pediatrics**, v. 9 n. 1, p. 7-19, 1952.

BEAVER, P. C. Observation In the epidemiology of *Ascaris* in region of high hookworm endemicity. **Journal of Parasitology**, v. 38, p.445-453, 1952.

BEAVER, P. C. et al. Chronic eosinofilia due to visceral larva *migrans* . Report of three cases. **Pediatrics**, v. 9, p. 7-19, 1952.

BEAVER, P. C. The nature of visceral larva migrans. **Journal of Parasitology**, v. 55, p. 312, 1969.

BURKE, T. M.; ROBERSON, E. L. Prenatal and lactational transmission of *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*: experimental infection of the bitch at midpregnancy and parturition. **International Journal Parasitology**, v. 15, n. 5, p. 485-490, 1985.

CAMARGO, E. D. et al. Standartization of dot-Elisa for the serological diagnosis of toxocariasis and comparison of assay with Elisa. **Revista Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 34, n. 1, p.55-60, 1992.

CAMPOS-JÚNIOR, D. et al. Frequência de soropositividade para antígenos de *Toxocara canis* em crianças de classes sociais diferentes **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36,n. 4, p. 509-513,2003.

CHAVES-BORGES, F.A.; MINEO, J. R. Medidas de biossegurança em laboratório. Uberlândia . EDUF, 1997, 55p.

CHIEFFI, P. P.; MÜLLER, E. E.. Prevalência de parasitismo por *Toxocara* sp. no solo de localidades públicas da zona urbana do município de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. **Revista de Saúde Pública São Paulo**, v. 10, p. 367-372, 1976

CHIEFFI, P. P. et al. Contato domiciliar e profissional com cães como fatores de risco para infecção humana por larva de *Toxocara*. **Revista Instituto Medicina Tropical de São Paulo**, v. 30, p. 379-382, 1988.

CHIEFFI, P. P. et al. Visceral larva migrans: a seroepidemiology survey in five municipalities of São Paulo State. Brazil. **Revista Instituto Medicina Tropical de São Paulo**, v. 32, p. 204-210, 1990.

COSTA-CRUZ, J. M.; NUNES, R. S.; BUSO, A. G. Presença de ovos de *Toxocara* spp. em praças públicas da cidade de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 36, n. 1, p. 39-42, 1994.

EHRHARD, T.; KERNBAUM, S. *Toxocara canis* et toxocarose humaine. **Bulletin Institute Pasteur**, v. 77, p. 225-287, 1979.

EMBIL, J.A. et al. Seroepidemiologic survey of *Toxocara canis* infection in urban and rural children. **Public Health**, v. 102, p. 129-133, 1988

FENOY, S.; CUÉLLAR, C.; GUILLÉN, J. L. Serological evidence of toxocariasis in patients from Spain with a clinical suspicion of visceral larva migrans. **Journal of Helminthology**, v. 71, p. 9-12, 1997.

FERREIRA, L. F. et al. Sobre a presença de ovos de *Toxocara*, em praças do Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 10, p. 51-54, 1976.

FULLBORN, F. Askarisin fektion durch verzehren eigekapselten larven unber gelungene intrauterine askarisin fektion. **Archive Schiffs-Tropen-Hygiene**, v. 73, p. 34-43, 1921.

GILLESPIE, S. H. et al. The spectrum of ocular toxocariasis. **Epidemiology Reviews**, v. 7, p. 415-418, 1993.

GLICKMAN, L. T.; CYPESS, R. H.; CRUMRINE, P. K. *Toxocara* infections and epilepsy in children. **Journal of Pediatrics**, v. 1, p. 75-78, 1979.

GLICKMAN, L.T.; et al. Evaluation of serological tests for larva *migrans*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 27, n. 3, p. 492-498, 1978.

GLICKMAN, L.T.; SCHANTZ, P. M., Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. **Epidemiology Reviews**, v. 3, p. 230-250, 1981.

GLICKMAN, L.T. et al. Pica patterns, toxocariasis and elevated blood lead in children. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 30, p. 77-80, 1981.

GÓNZALEZ, M. T. R. et al. Toxocariasis con afectación Hepática. **Acta Gastroentologica Latinoamericana**, v. 30, n. 3, p.187-190, 2000.

HANSEN, M. F.; OLSON, L. J. ; ACKERT, J. E. Improved techniques for culturing and administering Ascarid eggs to experimental chicks. **Experimental Parasitology**, v. 3, p. 364, 1954.

HERRMANN, N.; GLICKMAN, L. T.SCHANTZZ, P. M. et al. Seroprevalence of zoonotic toxocariases in the United States: 1971-1973. **American Journal of Epidemiology**, v. 122, p. 890-896, 1985.

HOLLAND, C.; et al. Seroepidemiology of toxocarosis in school children. **Parasitology**. v. 110, p. 535-545, 1995.

HUNTLEY, C. C.; COSTAS, M. C.; LYERLY, A. Visceral larva *migrans* syndrome: clinical characteristics and immunologic studies in 51. **Pediatrics**, v. 36, p. 523-536, 1965.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Visceral larva *migrans* and pyomyositis: A case report. **Revista do Instituto Medicina Tropical de São Paulo**, v. 40, n. 6, p. 383-385, 1998.

LESCANO, S. A. Z. et al. Soil contamination in human infection *Toxocara* sp. in urban area of Lima, Peru. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, n. 6, p. 733-734, 1998.

LJUSNTRÖM, I.; van KNAPEN, F. An epidemiological and serological study of *Toxocara* infection in Sweden. **Scand. J. Infect. Dis.**, v. 21, p. 87-93, 1989.

LOWRY, V. H.; ROSEMBROUCH, N. J.; FARR, A. L. ; RANDALL, R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-271, 1956.

LYNCH, N. R. et al. Seroprevalence of *Toxocara canis* infection in tropical Venezuela. **Transaction Royal Tropical Medicine and Hygiene**, v. 82, p. 275-281, 1988.

MACHADO, A. B.; ACHKAR, M. E. Larva *migrans* visceral: relato de caso. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 78, n. 2, p. 215-219; 2003.

MAGNAVAL, J. F. et al. Highligts of human toxocariasis. **Korean Journal Parasitology** , v. 39, p. 1-11, 2001.

MARTÍNEZ-BARBABOSA, I. et al. The prevalence of *Toxocara cati* in domestic cats in Mexico City. **Veterinay Parasitology**, v. 114, p. 43-49, 2003.

MATOS, M. F. C. et al. Presence of anti-Toxocara antibodies in children selected at Hospital Universitário, Campo Grande, MS, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 39, n. 1, p. 49-50, 1997.

MATSUMURA , K.; ENDO, R. Enzyme-Linked immunosorbent assay for toxocariasis it application to the sera of children. **Zbl. balkt. Hyg., I. Abt. Orig. A.**, v. 253, p. 402-406, 1982.

MINVIELLE, M.C. et al. Seroprevalence of toxocariasis in blood donors of Gualeguaychú, Argentina. **Transaction Royal Tropical Medicine and Hygiene**, v. 94, p. 373-375, 2000.

MOREIRA-SILVA, S.F. et al. Prevalence of anti-*Toxocara* antibodies in a random sample of inpatients at a children's hospital in Vitória, Espírito Santo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 40, n. 4, p. 259-261, 1998.

NUNES, C. M. et al. Ocorrência de larva migrans na areia de áreas de lazer das escolas municipais de ensino infantil, Araçatuba, SP, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, n. 6, p. 656-658, 2000.

- OVERGAAAW, P. A. M. Aspects of *Toxocara* epidemiology: human toxocarosis. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 23, p. 215-231, 1997.
- PRIETO NOVOA, et al. *Toxocara canis*: un problema de salud público y medicina veterinária. **Med. Vet.**, v. 12, n. 1, p. 7-12, 1995.
- RADMAN N. E.; et al. Human toxocarais. Its seroprevalence in the city of La Plata. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p. 281-285, 2000.
- RODRIGUES, P. C. **Bioestatística**. Niterói: EDUFF, 1996. 227p.
- SANTARÉM, V. A.; SARTOR, I. F.; BERGAMO, F. M. Contaminação, por ovos de *Toxocara* spp., de parques e praças públicas de Botucatu, São Paulo, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, n. 6, p. 529-532, 1998.
- SAVIGNY, D. H. "In vitro" maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of *Toxocara* ES antigen for use in serodiagnostic tests for visceral larva migrans. **Journal of Parasitology**, v. 61, p. 781-782, 1975.
- SAVIGNY, D. H.; VOLLER, A. ELISA for toxocariasis using larval secretory-excretory antigens. **Transaction Royal Tropical Medicine and Hygiene**, v. 73, p. 106, 1978.
- SAVIGNY, D. H.; VOLLER, A.; WOODRUFF, A. W.. Toxocariasis serological diagnoses by enzyme immunoassay. **Journal. Clinical of Pathology**. v. 32, p. 284-288, 1979.
- SCHACHER, J. F. A contribution to the life history and larval morphology of *Toxocara canis*. **Journal of Parasitology**, v. 43, p. 599, 1957.
- SCHANTZ, P. M.; MEYER, D.; GLICKMAN, L. T. Clinical, serologic and epidemiologic characteristics of ocular toxocarosis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 28, p. 24-28, 1979.
- SCHANTZ, P. M. *Toxocara* larva migrans now. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 41, n. 3, p. 21-34, 1989.

SCHULTZ, S.; KROERGER, A. Soil contamination with *Ascaris lumbricoides* eggs as an indicator of environmental hygiene in urban area of north-east Brazil. *Journal Tropical Medicine and Hygiene*, v. 95, p. 95-103, 1992.

SHIELDS, J. A. Ocular toxocariasis. A Review. *Survey of Ophthalmology*, v. 28, n. 5, p. 361-381, 1984.

SMITH, M. H. D.; BEAVER, P. C. persistency and distribution of *Toxocara* larvae in the tissues of children and mice. *Pediatrics*, v. 12, p. 491-497, 1953

SPRENT, J. F. A. Observations on the development of *Toxocara canis* (Werner, 1782) in the dog. *Parasitology*, v. 48 p. 184-209, 1958.

STOYE, M. Galaktogene und pränatale infektionen mit *Toxocara canis* been Hund (Beagle). *Desutsche Tierärztliche Wocheschrift*, v. 83, p. 89-128, 1976

SYNDER, C. H. Visceral larva *migrans*. Ten years experience. *Pediatrics*, v. 28, p. 85-91, 1961.

TAYLOR, M. R. H. et al. Clinical features of covert toxocariasis. *Scandinavian Journal Disiase*, v. 19, p. 693-696, 1978.

URBAN, J. F.; DOUVRES, F. W.; TROMBA, F. G. A rapid method for hatching *Ascaris suum* eggs in vitro. *Proc. Helminth. Soc. Wash*, v. 48, p. 241, 1981.

WEBSTER, G. A. On prenatal infection and the migration of *Toxocara canis*, WERNER, 1782, in dogs. *Can. J. Zool.*, v. 36, p. 435, 1958.

WILDER, H. C. Nematode endophthamitis. *Trans. Am. Acad. Ophthamol Otolaryngol.*, v. 55, p. 99-109, 1950.

WORLEY, G. et al. *Toxocara canis* infection: clinical and epidemiological associations with seropositiviyin kindergarten children. *Journal of Infectious Diseases*, v. 149, p. 591-591, 1984.