

INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO PARA TOXOCARIÁSE EM ZONA RURAL DO MUNICÍPIO DE TAUBATÉ, SÃO PAULO, BRASIL

SOROEPIDEMIOLOGICAL INVESTIGATION INTO TOXOCARIASIS IN A RURAL AREA IN TAUBATÉ - SÃO PAULO STATE - BRAZIL

Herminia Yohko Kanamura

Departamento de Biologia da Universidade de Taubaté
Instituto Adolfo Lutz – São Paulo

Ana Júlia Urias dos Santos Araújo

Departamento de Biologia da Universidade de Taubaté

Edite Hatsumi Yamashiro Kanashiro

Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (LIM 48)

RESUMO

O método imunoenzimático (ELISA-IgG) foi utilizado para detectar anticorpos anti-*Toxocara* em 604 amostras de sangue, coletadas em papel filtro, de escolares, funcionários e professores de escolas de ensino fundamental, localizadas em área rural do município de Taubaté, no estado de São Paulo. A frequência encontrada para anticorpos contra antígenos de excreção-secreção de larvas de *Toxocara canis*, na população estudada, foi de 67,2%, variando de 65,3 a 90,9% de acordo com a faixa etária. Foi observada positividade mais elevada na faixa etária acima de 20 anos, mas não houve diferença significativa entre os sexos ou faixas etárias. Entre as cinco localidades estudadas, positividade maior foi em Barreiro, com 88,8%, e menor em Monjolinho, com 39,0%. Nas demais localidades, Caieiras, Pinheirinho e Registro, os índices de positividade observados foram respectivamente de 76,0, 67,2 e 63,8%. Os dados soroepidemiológicos obtidos neste trabalho fornecem indicações quanto aos altos riscos de exposição à infecção pelo *Toxocara canis* da população rural de Taubaté.
PALAVRAS-CHAVE: toxocaríase, ELISA, sorologia, epidemiologia

INTRODUÇÃO

O *Toxocara canis* é um parasito intestinal comum de cães, sendo o homem um hospedeiro não habitual, que adquire a infecção por ingestão de ovos, mas no qual o parasito não consegue atingir a fase adulta, e as manifestações clínicas da doença são decorrentes da migração e persistência de larvas vivas nos tecidos, caracterizando a síndrome da larva migrans visceral (SLMV). Vários agentes têm sido propostos como causadores da SLMV em humanos, mas o *T. canis* é sem dúvida o agente que mais comumente se relaciona com esta síndrome. As manifestações clínicas da toxocaríase são bastante diversas e dependem de vários fatores, como resposta imune do hospedeiro, além de número, padrão de migração e distribuição das larvas nos diferentes tecidos, sendo os mais frequentemente afetados fígado, pulmão, cérebro, olhos, rim entre outros (JACOB *et al.*, 1987). Grande número de casos permanecem provavelmente não diagnosticados, pois as infecções com número reduzido de larvas podem ser assintomáticas, além das dificuldades encontradas no diagnóstico etiológico. O exame parasitológico de fezes é caracteristicamente negativo, pois *T. canis* não completa seu ciclo no homem, e a detecção do parasito depende de procedimentos invasivos como biópsias, nem sempre possíveis de serem realizados, dependendo do órgão atingido. Assim, o diagnóstico da toxocaríase se baseia em dados epidemiológicos e clínicos, estes últimos muito variados e pouco característicos, além de

alterações laboratoriais que incluem leucocitose, eosinofilia, hipergamaglobulinemia e elevação nos títulos de iso-hemaglutininas anti-A e anti-B (JACOB *et al.*, 1994).

O diagnóstico definitivo da toxocaríase seria possível pelo encontro da larva em tecidos do hospedeiro, mas mesmo em biópsia do fígado, o órgão mais comumente afetado, este achado é raro. As limitações dos métodos parasitológicos estimularam o desenvolvimento de técnicas imunológicas para detecção de anticorpos específicos ao parasito no soro. Essas técnicas imunológicas são também importantes para o diagnóstico da toxocaríase ocular, permitindo detecção de anticorpos em fluidos oculares. Entre as várias metodologias já descritas, a técnica de ELISA, utilizando antígeno de excreção e secreção de larvas de *T. canis* (DE SAVIGNY; VOLLER; WOODRUFF, 1979), é a que tem apresentado resultados mais promissores quanto aos níveis de sensibilidade e especificidade, passando a ser largamente empregada e aceita como padrão para o imunodiagnóstico da toxocaríase (GLICKMAN; SCHANTZ; GRIEVE, 1986). No presente trabalho, empregando-se o teste imunoenzimático ELISA, determinou-se a frequência de indivíduos com anticorpos IgG contra antígeno de excreção e secreção de larvas de *T. canis* (TES), com o objetivo de se avaliar o risco a que estaria exposta a população escolar rural do município de Taubaté à infecção por este parasito.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de sangue: Foram coletadas, durante o primeiro semestre de 1999, em papel filtro Whatman nº3, cortado em tiras de 1,0 cm de largura por 10,0 cm de comprimento, e processadas de acordo com metodologia já descrita (FERREIRA; CARVALHO, 1982). Para obtenção do eluato (sangue eluído), correspondendo aproximadamente à diluição de 1:20 do soro, pedaços com área de 1,0 cm² foram mergulhados e macerados em 330 µl de solução salina tamponada com fosfatos (SSTF), e mantidos em repouso, por 18 a 24 horas, em refrigerador. Foram avaliadas no total 604 amostras de sangue provenientes de escolares com idade variando de 6 a 19 anos, e de funcionários e professores na faixa etária entre 20 e 46 anos, residentes em cinco localidades na zona rural do município de Taubaté, Estado de São Paulo: Barreiro (107), Caieiras (100), Monjolinho (82), Pinheirinho (58) e Registro (257). Quanto ao sexo, 311 amostras eram provenientes de indivíduos do sexo feminino e 280 masculino. Fichas epidemiológicas incompletas não permitiram identificação do sexo de 13 indivíduos. Foram incluídas no estudo, como grupo controle, 15 amostras de sangue, também coletadas em papel filtro, de indivíduos residentes em área urbana do município de Taubaté, todos com idade acima de 20 anos.

ELISA-IgG: Foi realizado segundo técnica já descrita (ELEFANT *et al.*, 2001). Para execução do método, placas de poliestireno de fundo plano (Nunc, Brand Products, Dinamarca) foram sensibilizadas com o antígeno de excreção-secreção de larvas de *T. canis* (TES), na concentração protéica de 0,3 mg por cavidade. O eluato a 1/20, obtido como já descrito, foi diluído em meio contendo antígeno total de *Ascaris suum* (KANAMURA; HOSHINO-SHIMIZU; SILVA, 1981), de modo a permitir absorção de anticorpos contra determinantes antigênicos comuns e obter-se uma diluição final correspondente a 1/160. Utilizou-se conjugado anti-IgG-humano-peroxidase (Sigma Chemical Company, St Louis, U.S.A) e como mistura cromógena, peróxido de hidrogênio e ortofenilenodiamina. As amostras foram ensaiadas em duplicata, tendo sido consideradas como positivas amostras cujas médias aritméticas das leituras de absorbância foram superiores ao limiar de reatividade. Este foi determinado, em cada dia de reação, pela média aritmética das leituras de absorbâncias de oito eluatos negativos, acrescida de três desvios-padrões.

Análise Estatística: Os resultados obtidos pelos métodos imunológicos foram inseridos no programa EPI-INFO, versão 6.04 da Organização Mundial de Saúde (Dean *et al.*, 1995). A partir deste programa foram calculados os índices de positividade e os intervalos de confiança.

Aspectos éticos: O presente trabalho obteve parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté (protocolo nº 057/99).

RESULTADOS

Das 604 amostras da zona rural examinadas, 406 foram reativas para anticorpos contra antígenos de excreção-secreção de *T. canis*. De acordo com os dados da Tabela 1, observa-se tendência a níveis de positividade sorológica mais elevados à medida que aumenta a idade dos indivíduos avaliados, embora sem significância estatística nas diferenças detectadas. Quando se comparam os dados para o grupo “>20 anos” da

área rural com os do grupo controle, constituídos por indivíduos com idade superior a 20 anos, residentes em área urbana do município, verifica-se soroprevalência significativamente menor para esse grupo controle.

A Tabela 2 mostra os dados de soroprevalência de acordo com a localidade de residência dos indivíduos envolvidos no estudo. A positividade para anticorpos anti-*T.canis* observada na população residente em Barreiro foi significativamente maior que a encontrada para Pinheirinho, Registro e Monjolinho. Já esta última mostrou soroprevalência significativamente menor que as demais localidades estudadas.

Quanto ao sexo, de acordo com os dados da Tabela 3, entre os casos sorologicamente positivos para *T. canis*, 208 eram do sexo feminino e 192 masculino. Não se observou diferença significativa entre os dois sexos, analisando-se os intervalos calculados com 95% de confiança.

Tabela 1 – Frequência de amostras positivas para anticorpos anti-*T. canis*, de acordo com a faixa etária, entre escolares, funcionários e professores residentes na zona rural de Taubaté-SP, 1999

FAIXA ETÁRIA (anos)	Número de amostras		Positividade (%) (Intervalo de Confiança)
	Total	Positivas	
6 - 10	283	181	64,0 (58,0-69,5)
11 - 15	255	175	68,6 (62,5-74,2)
16 - 19	55	40	72,7 (58,8-83,5)
> 20	11	10	90,9 (57,1-99,5)
Total	604	406	67,2 (63,3-70,9)
Grupo controle (>20 anos)	15	1	6,7 (0,3-34,0)

Tabela 2 – Frequência de amostras positivas para anticorpos anti-*T. canis*, de acordo com a localidade, entre escolares, funcionários e professores residentes na zona rural de Taubaté-SP, 1999

LOCALIDADE	Número de amostras		Positividade (%) (Intervalo de Confiança)
	Total	Positivas	
Barreiro	107	95	88,8 (80,9-93,8)
Caieiras	100	76	76,0 (66,2-83,7)
Monjolinho	82	32	39,0 (28,6-50,4)
Pinheirinho	58	39	67,2 (53,5-78,6)
Registro	257	164	63,8 (57,6-69,6)
Total	604	406	67,2 (63,3-70,9)
Grupo controle (Zona urbana)	15	1	6,7 (0,3-34,0)

Tabela 3 - Frequência de amostras positivas para anticorpos anti-*T. canis*, de acordo com o sexo, entre escolares, funcionários e professores residentes na zona rural de Taubaté-SP, 1999

SEXO	Número de Amostras		Positividade (%) (Intervalo de Confiança)
	Total	Positivas	
F	311	208	66,9 (61,3-72,0)
M	280	192	68,6 (62,7-73,9)
Total	591	400	67,7 (63,7-71,4)

DISCUSSÃO

No presente trabalho, foi realizado um inquérito soroepidemiológico para avaliar a frequência de indivíduos com anticorpos anti-*Toxocara canis* em uma população rural de Taubaté. Ovos de *T. canis* têm sido encontrados, contaminando o solo, mais freqüentemente que ovos de outros ascarídeos, e a ingestão de ovos larvados de *Toxocara canis* constitui uma das principais causas de larva migrans visceral no homem. No Brasil, embora ainda não bem estabelecidas as taxas de infecção das populações em geral, é evidente a presença de fatores essenciais para a ocorrência da doença como o grande número de cães infectados e a freqüente contaminação dos solos com ovos do parasito, como já demonstrados por outros autores (CHIEFFI; MULLER, 1976; DUWEL *et al.*, 1984; FERREIRA; OLIVEIRA; CAMILO-COURA, 1986). São poucos os trabalhos no Brasil que relatam resultados de estudos soroepidemiológicos para a toxocaríase. Chieffi *et al.* (1990), estudando cinco municípios no Estado de São Paulo (São Paulo, Campinas, Santos, Marília e Presidente Prudente), encontraram positividade de 3,6%. Moreira-Silva *et al.* (1998), em Vitória, ES, detectaram 39% de positividade para anticorpos anti-*Toxocara* quando investigaram crianças internadas em um hospital infantil da cidade. Alderete (2000), avaliando escolares do subdistrito do Butantã em São Paulo, encontrou soropositividade de 38,8%.

As positivities encontradas na população rural de Taubaté, de 67,2% no total das amostras e 65,3% em crianças com idade entre 6 e 10 anos, mostram uma necessidade de se avaliar os dados epidemiológicos, como contato com cães, geofagia e graus de contaminação da população canina e do solo. Quando se compara a soropositividade de 90,9%, observada no grupo com idade superior a 20 anos, constituído principalmente por funcionários das escolas rurais estudadas, com a de 6,7%, encontrada entre indivíduos de mesma faixa etária residentes em zona urbana do município, pode-se sugerir o alto grau de exposição da população rural aos ovos do *T. canis*. Apesar de todas as amostras terem sido submetidas à absorção com extrato antigênico de *A. suum*, não é possível descartar reações cruzadas com outras parasitoses, freqüentes na população avaliada, como detectadas em inquérito coproparasitológico. Em levantamento realizado em 1998, os índices de positividade para helmintos variaram, de acordo com a localidade, de 8,1% (Caieiras) a 26,2% (Pinheirinho). Das cinco localidades rurais estudadas, a de Barreiro foi a que apresentou uma frequência estatisticamente mais elevada de anticorpos anti-*Toxocara* (88,8%), enquanto Monjolinho apresentou a menor soropositividade (39,0%). No entanto, de acordo com os dados do inquérito coproparasitológico de 1998, essas duas localidades apresentaram índices de positividade para helmintos bastante comparáveis, como 15,0% e 14,7%, respectivamente para Barreiro e Monjolinho. Os dados apresentados no presente trabalho fornecem indicações quanto aos diferentes padrões de contato com o parasito e sugerem a necessidade de continuidade deste estudo, ampliando-se as áreas a serem pesquisadas. Estudos mais detalhados das variáveis ambientais e sociais poderão contribuir para o melhor entendimento dos fatores de risco envolvidos na transmissão do parasito nas diferentes localidades rurais e auxiliar no controle da toxocaríase no município de Taubaté.

ABSTRACT

The immunoenzymatic method (ELISA-IgG) was used to detect anti-*Toxocara* antibodies in 604 blood samples on filter papers collected from students, employees and teachers of elementary schools in a rural area of the municipality of Taubaté, São Paulo State, Brazil. The frequency of antibodies against *Toxocara canis* excretory-secretory antigens, in the studied population, was 67.2%, ranging from 65.3 to 90.9% according to the group age. The higher positivity rate was observed with the people who are more than 20 years old, but the differences were not significant by sex and age. Among the five studied localities, prevalence of positive samples was higher in Barreiro, with 88.8%, and lower in Monjolinho, with 39.0%. In other localities, Caieiras, Pinheirinho and Registro, the positivity rates were respectively 76.0, 67.2 and 63.8%. The seroepidemiological data obtained in this paper indicate a high risk of exposition to *Toxocara canis* infection of the population living in the rural area of Taubaté.

KEYWORDS: toxocariasis, ELISA, serology, epidemiology

AGRADECIMENTOS

Aos alunos da XXXII turma do Curso de Medicina da Universidade de Taubaté pela participação no trabalho de campo e a Beatriz Rodrigues Alves, pelo suporte técnico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDERETE, J. M. S. *Soroprevalência da infecção por Toxocara em escolares do subdistrito do Butantã (São Paulo)*. 2000. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.

CHIEFFI, P. P.; MULLER, E. E. Prevalência de parasitismo por *Toxocara canis* em cães e presença de ovos de *Toxocara* sp no solo de localidades públicas da zona urbana do município de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. *Rev. Saúde Pública S. Paulo*, v. 10, p. 367-372, 1976.

CHIEFFI, P. P. *et al.* Visceral larva migrans: A seroepidemiological survey in five municipalities of São Paulo state, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v. 32, p. 204-210, 1990.

DEAN, A. G. *et al.* Epi Info, Version 6: a word processing, database, and statistics program for public health on IBM-compatible microcomputers. C.D.C., Atlanta, Georgia, U.S.A., 1995.

DE SAVIGNY, D. H.; VOLLER, A.; WOODRUFF, AW. Toxocariasis: serological diagnosis by enzyme immunoassay. *J.Clin. Path.*, v. 32, p. 284-288, 1979.

DUWEL, D. Prevalence of *Toxocara* eggs in the sand in children's playground in Frankfurt. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, v. 78, p. 633-636, 1984.

ELEFANT, G. R. *et al.* Toxocaríase. In: FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. M. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001, p. 323-332.

FERREIRA, C. S.; CARVALHO, M. E. Padronização de uso de papel-filtro como suporte de material para reações sorológicas. *Rev.Bras.Malar.*, v. 34, p. 82-86, 1982.

FERREIRA, L. F.; OLIVEIRA, E.; CAMILO-COURA, L. Sobre a presença de ovos de *Toxocara* em praças da cidade do Rio de Janeiro. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 10, p. 1-4, 1986.

GLICKMAN, L.; SCHANTZ, P. M.; GRIEVE, R. B. Toxocariasis. In: WALLS, K. W.; SCHANTZ, P. M. Immunodiagnosis of Parasitic Diseases. Vol1. Helminthic diseases (London), Academic Press, 1986, p. 201-231.

JACOB, C. M. A. *et al.* Síndrome da Larva Migrans Visceral por *Toxocara canis*. *Pediatr. São Paulo*, v. 9, p. 9-12, 1987

JACOB, C. M. A. *et al.* Clinical and laboratory features of visceral toxocariasis in infancy. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 36, p. 19-26, 1994.

KANAMURA, H. Y., HOSHINO-SHIMIZU, S.; SILVA, L. C. Solubilization of antigen *S.mansoni* adult worms for the passive hemagglutination test. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, v. 23, p. 92-95, 1981.

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. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v. 40, p. 259-261, 1998.