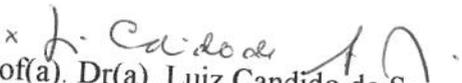


ROSANA APARECIDA TREVISAN PEREIRA

Este exemplar corresponde à versão final da
Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso
de Pós-Graduação Ciências Médicas da
Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP,
para obtenção do título de Mestre em Ciências
Médicas, área de Ciências Biomédicas do(a)
aluno(a) **Rosana Aparecida Trevisan Pereira**.
Campinas, 27 de Agosto e 2003.

x 
Prof(a). Dr(a). Luiz Candido de Souza Dias
Orientador(a)

**DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO E SOROLÓGICO DA
TOXOCARÍASE, ESQUISTOSSOMOSE MANSONI E
PARASITOS INTESTINAIS.**

CAMPINAS

2003

**UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE**

714 054,067

ROSANA APARECIDA TREVISAN PEREIRA

**DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO E SOROLÓGICO DA
TOXOCARÍASE, ESQUISTOSSOMOSE MANSONI E
PARASITOS INTESTINAIS.**

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas, da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre
em Ciências Médicas, área de Ciências Biomédicas.*

Orientador: *Prof. Dr. Luiz Candido de Souza Dias*

CAMPINAS

2003

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Luiz Cândido de Souza Dias

Membros:

1. Profa.Dra. Miralva Aparecida de Jesus Silva

2. Prof.Dr. Carlos Roberto Silveira Corrêa

3. Prof.Dr. Luiz Cândido de Souza Dias

Curso de pós-graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 27/08/2003

DEDICATÓRIA

Aos pais, Antonio e Maria, sem os quais eu não existiria e dos quais herdei a perseverança e a dignidade.

A meu esposo, Clodoaldo, que incentivou o término deste trabalho com carinho e amor.

À Maria Desatadora dos Nós, que nos momentos difíceis ouviu minhas preces.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelo dom da inteligência e sabedoria, permanecer ao meu lado nos momentos difíceis durante o andamento deste trabalho.

Ao Prof.Dr. Luiz Cândido de Souza Dias, pela oportunidade no Laboratório de Parasitologia do Laboratório de Patologia Clínica, do Hospital de Clínicas da Unicamp, o que permitiu desenvolver esta pesquisa; pelo exemplo de dinamismo, competência profissional e disponibilidade e, sobretudo, pela paciência e amizade diante de todos os imprevistos na condução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos Roberto Silveira Corrêa, do Departamento de Medicina Preventiva e Social da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, pelo companheirismo, amizade, apoio técnico-científico e pela valiosa participação como membro da banca do Exame de Qualificação.

À pesquisadora Edite H. Y. Kanashiro, do Instituto de Medicina Tropical da USP, por sua amizade e empenho profissional, contribuindo de forma decisiva no meu crescimento profissional.

Ao Prof. Dr. Luiz Augusto Magalhães, do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da Unicamp, pela valiosa participação como membro da Banca de Qualificação.

À Prof. Dra. Maria Cecília Barisson Villares, do Departamento de Patologia Clínica da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, pela valiosa participação como membro da Banca de Qualificação.

Às pesquisadoras Guita R. Elefant e Elisabete O. de Mello, do Instituto de Medicina Tropical da USP, pela atenção e amizade.

À amiga e companheira de trabalho, Célia Regina Mendes, pelas valiosas sugestões e auxílio nesta pesquisa.

Ao Artur Guido Muniz Ribeiro Junior, pela coleta das amostras biológicas que geraram esta pesquisa.

À coordenadoria e às secretárias da Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, pela atenção e colaboração.

Ao Jorge Airton Cicala, funcionário do Setor de Informática do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Unicamp, pela amizade e auxílio no uso de programas de computação.

Às secretárias Silvia, Panebianco e Marlúcia F. Façanha, do Departamento de Patologia Clínica da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp pela ajuda e amizade.

À amiga e colega de trabalho, Gracinda de Lourdes Jorge, pela amizade e incentivo nas horas difíceis.

À Marlene Aparecida Dias Pinto, do Comitê de Ética e pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp pela atenção e amizade

Aos colegas de trabalho do Laboratório de Imunologia, do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas da Unicamp, pela colaboração e amizade.

Aos colegas do Laboratório de Parasitologia Clínica do Hospital de Clínicas da Unicamp, Angela Terezinha Lauand Teixeira, Sueli Aparecida de Oliveira, José Sérgio Palma, pelo companheirismo e aprendizagem.

Ao Instituto de Medicina Tropical, da USP, pelo auxílio no aprendizado da técnica ELISA.

À minha família, por acreditar em meu potencial profissional.

Aos meus padrinhos e amigos, Suzelei Aranha Silveira, Sérgio Rocha, Dóris de Cássia Faber e Pedro Augusto Faber, pelo carinho e afeto.

À Cristiane Seraphin, pela valiosa amizade e ajuda.

Ao Centro de Bioterismo da Unicamp, pela doação dos vermes de *Toxocara canis*.

A todos que doaram amostras de sangue para padronização da técnica utilizada neste estudo.

Aos funcionários da Sucen, de Pedro de Toledo, pela ajuda na coleta das amostras.

Ao Alexandre Alegretti da Silva, pela amizade e colaboração em transportar material didático e de pesquisa.

À população do município de Pedro de Toledo, pela valiosa colaboração.

O meu muito obrigada a todos que de alguma forma contribuíram para meu sucesso profissional.

	<i>Pág</i>
RESUMO	<i>xvii</i>
ABSTRACT	<i>xxi</i>
1 - INTRODUÇÃO	25
2 - OBJETIVOS	53
3 - MATERIAL E MÉTODOS	57
3.1 - Área estudada	59
3.2 - Amostragem	59
3.3 - Variáveis.....	59
3.4 - Amostras de sangue.....	60
3.5 - Amostras de fezes.....	60
3.6 - Sorologia para <i>Toxocara canis</i>	60
3.7 - Sorologia para <i>Schistosoma mansoni</i>	67
3.8 - Exame de fezes pelo método de Kato-Katz.....	69
3.9 - Exame de fezes pelo método de Coprotest®.....	70
3.10 - Análise Estatística.....	70
4 - RESULTADOS	71
5 - DISCUSSÃO	93
6 - CONCLUSÕES	107
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111
8 - ANEXOS	127



RESUMO

O estudo foi realizado no município de Pedro de Toledo, situado no Vale do Rio Ribeira de Iguape, São Paulo. A população estudada foi escolhida de forma aleatória e depois caracterizada quanto à área de moradia, sexo e idade. Tive-se o interesse em estimar a soroprevalência para toxocaríase e esquistossomose mansoni e prevalência de parasitos intestinais.

A toxocaríase é uma zoonose comum em cães e gatos e é causada por *Toxocara canis*.

A prevalência para toxocaríase foi revelada pela técnica imunoenzimática de ELISA, com uso de antígeno proveniente de larvas de *Toxocara canis* contra anticorpos anti-*Toxocara canis* IgG. A coleta de sangue foi realizada em papel de filtro, pela técnica de punção digital, sendo todas as amostras testadas em duplicata.

A técnica utilizada para diagnóstico da infecção por *Schistosoma mansoni* foi a reação de imunofluorescência indireta IgM para a detecção de anti-*Schistosoma mansoni*.

As amostras de fezes foram examinadas pelos métodos parasitológicos de Coprotest® e Kato-Katz.

A análise de dados indicou que a prevalência para *Toxocara canis* foi mais elevada (26,8%) em indivíduos mais jovens. Também estava mais associada a moradores da área urbana (50,7%). Quanto ao sexo dos examinados a toxocaríase foi mais prevalente nos homens (43,2%).

Neste estudo, a prevalência sorológica para a esquistossomose foi de 19,3%. Nos exames de fezes foram registrados índices de 2,0% no Kato-Katz e 0,9% Coprotest®. A média geométrica foi de 24 ovos por grama de fezes, indicando intensidade leve de infecção. Houve diferença acentuada entre as prevalências sorológica e parasitológica. A análise de dados encontrou que a prevalência geral para helmintos intestinais foi de 43,6% e de 44,3% respectivamente para as técnicas de Coprotest® e Kato-Katz. Os helmintos mais prevalentes foram *Ascaris lumbricoides* (37,6%), *Trichuris trichiura* (17,3%) e ancilostomatídeos (10,4%). As helmintíases foram mais frequentes na zona rural. Neste estudo relatou-se diferença significativa no diagnóstico da infecção causada por *Trichuris trichiura* pelos métodos de Kato-Katz 17,3% e 7,8 no Coprotest®. Devido a essa diferença,

compararam-se amostras positivas e negativas do método Coprotest® com o número de ovos por grama de fezes (opg) obtido pelo Kato-Katz. Quando o Coprotest® era negativo foi verificado que a intensidade de infecção foi leve.

Quanto aos protozoários intestinais o índice registrado foi de 26,1%, segundo técnica de Coprotest®. Porém quando consideradas apenas as espécies patogênicas (*Giardia intestinalis* 10,4%, *Blastocystis hominis* 4,8% e *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, 1,3%) a prevalência foi menor (14%). O protozoário intestinal mais prevalente foi a *Entamoeba coli* 12,6%.

Desde 1980 é desenvolvido na região programa de controle para a infecção causada por *Schistosoma mansoni*, visto que a região ainda é considerada de baixa endemicidade. Apesar da não erradicação da infecção os coeficientes de prevalência tem se mostrado cada vez menores, embora exista um residual de transmissão senso confirmado pelo exame parasitológico.

Neste estudo encontram-se altos índices para toxocaríase e parasitoses intestinais o que comprova a necessidade de medidas de controle e vigilância sanitária. Também seria importante alertar a população com medidas de prevenção contra as infecções.



ABSTRACT

This study was conducted in Pedro Toledo, Vale do Rio Ribeira de Iguape, State of Sao Paulo. The population sample was randomly chosen and then classified according to the residential area, sex and age. Our purpose was to estimate the seroprevalence of toxocariasis and schistosomiasis mansoni as well as the prevalence of intestinal parasites.

Toxocariasis is a zoonosis caused by *Toxocara canis* and is commonly found in cats and dogs.

The immunoenzymatic ELISA technique, which utilizes the antigen from the *Toxocara canis* larvae against anti-*Toxocara canis* IgG antibodies, was applied to obtain toxocariasis prevalence. Blood samples were collected on filter paper using the finger puncture technique and duplicate samples were tested.

The indirect IgM immunofluorescence test technique for detection of anti- *Schistosoma mansoni* was utilized in the diagnosis of infections caused by *Schistosoma mansoni*

The stool samples were examined by the Coprotest® and the Kato-Katz parasitological methods.

Data analysis indicated that *Toxocara canis* prevalence was higher (26.8%) in young individuals and demonstrated a higher relationship with residents of urban areas (50.7%). Toxocariasis was also found to be more prevalent in males (43.2%).

In our study, the serological tests revealed that the prevalence of schistosomiasis was 19.3%. The stool examination results registered 2.0% for the Kato-Katz test and 0.9% for the Coprotest®. The geometric mean was 24 eggs per gram of fecal matter, indicating a slight infection level. The difference between results of the serological and parasitological tests was very clear.

Data analysis revealed that the general prevalence of intestinal helminthes using the Coprotest® and Kato-Katz tests was 43.6% and 44.3%, respectively. The most prevalent helminthes were: *Ascaris lumbricoides* (37.6%), *Trichuris trichiura* (17.3%) and *ancylostomatidae* (10.4%). Helminthiasis were more common in the rural area. This study exposes a significant difference in diagnoses of infections caused by the *Trichuris trichiura*

utilizing the Kato-Katz (17.3%) and the Coprotest® (7.8%) methods. Therefore, the positive and negative samples of the Coprotest® method were compared with number of eggs per gram (epg) of fecal matter obtained by the Kato-Katz. When the Coprotest® results were negative, the level of infection was found to be low.

According to the Coprotest® technique, the level of intestinal protozoa was 26.1%. However, when only the pathogenic species were considered (*Giardia intestinalis* 10.4%, *Blastocystis hominis* 4.8% and *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* 1.3%) the prevalence was lower (14%). The most prevalent intestinal protozoa were *Entamoeba coli* 12.6%.

The control program, initiated in this area in 1980, of infections caused by *Schistosoma mansoni*, has been continued as this area is still considered as a region of low endemicity. Although the infection has not been eradicated, prevalence coefficients have been steadily decreasing, despite the fact that residual transmission has been confirmed by parasitological exams. Our study revealed high parasitic infection rates that prove the need for control measures and sanitary surveillance, as well as the importance of warning the population and implementing preventive actions against these infections.



1 - INTRODUÇÃO

O crescente número de animais de companhia, principalmente nos grandes centros, tem estreitado o contato entre esses e o homem, aumentando a exposição humana a agentes de zoonoses. Só nos EUA, estimou-se que existiam 52 milhões de cães e 55 milhões de gatos domiciliados entre aproximadamente 60% das famílias americanas

Dentre as zoonoses parasitárias destaca-se a larva migrans visceral (LMV) ou toxocaríase. É devido à infecção causada por larvas de *Toxocara sp*, nematódeo de cães e gatos, e provavelmente a zoonose mais emergente. Outra zoonose de grande importância no mundo é a larva migrans cutânea (LMC), causada principalmente por larvas infectantes de *Ancylostoma braziliense*, ancilostomatídeo de cães e gatos (SCHANTZ, 1991).

O homem se infecta por freqüentar locais públicos onde os animais portadores de *Toxocara sp* possuem o hábito de defecar. GENNARI et al. (1999) pesquisaram amostras de fezes de cães e gatos na cidade de São Paulo e encontraram índices de positividade de 20,4%; 8,49% e 7,65% para ancilostomatídeos, *Toxocara canis* e *Giardia sp*, respectivamente.

Estes números mostram que estes animais estão muito associados às várias infecções parasitárias do homem. Outro fator importante que favorece altas taxas de prevalência para parasitoses intestinais é a falta de saneamento básico e educação sanitária.

O município de Pedro de Toledo aqui estudado é uma região de nível socioeconômico baixo, o que favorece também as altas prevalências para parasitos.

Em Nova Orleans, Lousiana, BEAVER et al. (1952) criaram o conceito de larva migrans visceral para designar a síndrome que se desenvolve no homem, quando larvas de helmintos que não lhes são específicos, migram erráticamente em seus tecidos por períodos prolongados e não conseguem completar seu ciclo biológico. Foram descritos três casos clínicos de crianças que apresentavam hepatomegalia, manifestações pulmonares e eosinofilia, tendo sido observada larva de nematódeo em cortes de fígado de um dos pacientes, posteriormente identificada como larva de *Toxocara sp*. Foi assim proposto o termo larva migrans visceral (LMV) para tal condição. Esta denominação pretendia indicar uma relação parasito hospedeiro semelhante àquela da larva migrans cutânea já conhecida.

Portanto, síndrome da larva migrans visceral é a migração de larvas de helmintos nos tecidos do fígado, pulmões, cérebro, músculos e olhos. O termo LMV é usado para indicar não propriamente a larva, porém a síndrome que produz, pois em suas migrações pelos tecidos elas determinam alterações patológicas, às vezes graves.

Segundo BEAVER (1969), o termo larva migrans visceral se aplica apenas em situações onde há migração e persistência de larvas vivas por períodos prolongados em tecidos de hospedeiros não habituais, comportando-se o homem como hospedeiro paratênico. Esta denominação é aplicada ao hospedeiro não habitual, quando não ocorre o desenvolvimento do parasito, mas este se mantém vivo até que o hospedeiro definitivo possa ingeri-lo (KAYES, et al., 1985). Esta forma de infecção em hospedeiros paratênicos pode representar uma forma de proteção ao parasito, permitindo uma longa sobrevivência a estes agentes. Com base nesta definição, ficam excluídos deste conceito agentes como *Dirofilaria* e outros filarídeos, *Angiostrongylus*, *Capillaria*, *Lagochilascaris* e outros nematódeos em que o homem se caracteriza mais como o hospedeiro final do que hospedeiro paratênico ou intermediário (BEAVER, 1969). Dos agentes causadores da LMV em humanos os mais citados são as espécies do gênero *Toxocara*, particularmente *Toxocara canis* que, em estágios larvais, por migração errática, ocasionam esta importante zoonose. É considerado como um dos mais comuns parasitos mundiais, cuja prevalência pode chegar até a 81% da população de cães (SOULSBY, 1982). *Toxocara canis* é a espécie de helminto encontrada com maior frequência em casos humanos submetidos à biópsia hepática ou de outros órgãos (GLICKMAN e SCHANTZ, 1981). *Toxocara canis* é o principal agente da LMV, em consequência do seu grande parasitismo em cães de jovens.

Destaca-se que *Toxocara canis* por peculiaridades de seu ciclo biológico e pelo padrão de migração larvária que conferem ao parasito a capacidade de ser o agente mais frequentemente implicado na etiologia da LMV. Assim de forma não totalmente correta, passou-se a utilizar o termo Toxocaríase Humana com sinônimo da LMV na literatura médica.

Em estudos sorológicos em humanos, a frequência de anticorpos anti-*Toxocara canis* atingiu 7% da população nos EUA, 5% no Canadá e 3,6% no Brasil, Estado de São Paulo (CHIEFFI, 1984).

Para compreender a epidemiologia da toxocaríase há necessidade do conhecimento de ciclo de vida e dos fatores que influenciam na distribuição e persistência dos ovos no ambiente (GLICKMAN e SCHANTZ, 1981), o que torna possível medidas efetivas de prevenção da infecção no homem, cães e gatos.

O gênero *Toxocara sp* pertence ao filo *Nematelmintes*, classe *Nematoda*, ordem *Ascaroidea*, família *Ascaridae* e subfamília *Ascarinae* (SOULSBY, 1965). Este gênero contém várias espécies de parasitos de animais carnívoros e de elefantes. A espécie de interesse médico é *Toxocara canis*. Outra espécie deste mesmo gênero é *Toxocara cati*, parasito do gato, mas não tem o mesmo interesse médico, porque suas larvas não migram nas vísceras dos hospedeiros anormais. O mesmo também acontece com *Toxascaris leonina*, que é um parasito de felídeos.

Toxocara canis parasita o intestino delgado dos cães e apresenta biologia semelhante ao *Ascaris lumbricoides*, parasito comum do tubo digestivo do homem (REY, 1991). *Toxocara canis* também pode ser observado em gatos, raposas, guepardos, tigres e roedores (BEAVER, 1956; KERR-MUIR, 1994). Além do homem, outros animais que podem servir como hospedeiros paratênicos para *Toxocara canis* são ratos, galinhas e pombos (SCHANTZ e GLICKMAN, 1983). Os vermes adultos são menores que o *Ascaris lumbricoides*. Os machos medem de 4 a 6 cm e as fêmeas de 6 a 10 cm de comprimento, com presença de três lábios que precedem a boca e apresentam também expansões cervicais chamadas aletas cefálicas. A fêmea ovipõe uma média diária de aproximadamente 200.000 ovos, e isso ocorre em período fértil de sua vida. Esta grande quantidade de ovos pode resultar em extensa contaminação ambiental por ovos de *Toxocara canis* (GLICKMAN e SCHANTZ, 1981). Os animais infectados com *Toxocara canis* podem contaminar o ambiente com milhões de ovos por dia. A vida média dos vermes adultos é de quatro meses. Nos cães jovens, com menos de seis meses de idade, praticamente quase todos os vermes são eliminados espontaneamente.

Os ovos de *Toxocara canis* são subglobosos, medindo de 85 por 75µm e apresentam 3 camadas: a mais externa ou capa mamilonada, a central composta por proteína e quitina e a camada interna, de natureza lipídica, funciona como barreira principal contra a permeabilidade do ovo (WILSON, 1978).

Os ovos são eliminados com as fezes e não são embrionados. Ao caírem no solo, necessitam de um período de tempo para o desenvolvimento larval para se tornarem infectantes. Em condições favoráveis de umidade, temperatura (15-35°C) e oxigenação, ocorrem duas mudas dentro do ovo. Aproximadamente 10 a 12 dias após a postura, ocorre a formação da larva de primeiro estágio (L1) no interior do ovo, e após mais 8 a 15 dias a L1 sofre uma muda e se torna uma larva de segundo estágio (L2). Em torno de 28 dias, a L2 atinge o estágio infectante L3 dentro do ovo e assim os ovos tornam-se infectantes (ARAUJO, 1972; MAUNG, 1978). Os ovos são muito resistentes aos fatores ambientais e podem permanecer viáveis durante muitos meses no solo (SOULSBY, 1965).

Sendo favoráveis as condições ambientais para o desenvolvimento das larvas dentro dos ovos, entre 2 a 5 semanas após terem sido expulsos do útero, os ovos tornam-se infectantes (GLICKMAN e SCHANTZ, 1981).

Os ovos de ascarídeos desenvolvem-se melhor em solos de tipo argiloso, principalmente quando não há exposição permanente e direta à luz solar, que exerce efeito deletério sobre as larvas. No caso particular de ovos de *Toxocara*, também se verifica melhor evolução em solos cuja superfície é constituída por camada argilosa. Os ovos são concentrados pela ação das chuvas, localizando-se em delicada película de lodo, situado logo abaixo da superfície do solo, recoberto por uma fina camada de argila coloidal (BEAVER, 1975).

Dentre todos os ovos de *Toxocara canis* que são eliminados com as fezes dos cães infectados, a parcela que conseguirá embrionar-se adequadamente e atingir o estágio infectante dependerá das condições ambientais, especialmente da temperatura e taxa de umidade no solo. Quando a umidade é relativamente alta e a temperatura se mantém entre 15 e 35°C, cerca de 85% dos ovos que atingem o solo tornam-se infectantes.

Vários trabalhos relatam a alta prevalência de ovos de *Toxocara canis* em solo, principalmente, em parques infantis, jardins domésticos e praças públicas que são lugares muito freqüentados pelas pessoas, principalmente por crianças. Os índices de prevalência variam em várias localidades do mundo entre 10% e 60% (GLICKMAN e SCHANTZ, 1981) e (HOLLAND, et al., 1991). No Brasil, inquéritos realizados por CHIEFFI e MULLER (1976) e FERREIRA et al., (1976) mostraram respectivamente as taxas de prevalências: na cidade de Londrina foi de 60% e Rio de Janeiro 41,6%

A larva L3 de *Toxocara canis* secreta produtos antigênicos, denominados antígenos de excreção e secreção (TES). Estes produtos são formados por moléculas de glicoproteínas. Entretanto, são abundantemente liberados por meio de poros excretores de glândulas e orifícios orais e anais da larva, podendo ser transitoriamente depositados na cutícula da larva para posterior liberação. Esses produtos estão envolvidos na apresentação antigênica ao hospedeiro (MAIZELS et al., 1984).

Os cães são infectados pela ingestão do ovos de *Toxocara canis* embrionados com L3 e o padrão da migração da larva depende da idade do animal.

Quando ovos infectantes são ingeridos por cães jovens com menos de 5 semanas, estes ao chegarem no estômago dos animais sofrem a ação dos sucos gástrico e digestivo. Agora as membranas dos ovos se rompem e as L3 eclodem à luz do intestino delgado. As L3 medindo 20 por 400 μm atravessam a mucosa intestinal, penetram nos vasos sanguíneos e linfáticos, chegam ao fígado em um período aproximado de 24 a 48 horas, passando logo ao coração e pulmões através dos vasos sanguíneos. Nos pulmões algumas larvas rompem a parede dos capilares e alvéolos e passam aos brônquios. Pelos movimentos ciliares do tecido epitelial que reveste as vias respiratórias, as larvas atingem a traquéia e faringe, podem ser deglutidas, atingindo então o intestino delgado onde se desenvolvem até a forma adulta. Após 4 a 5 semanas que o animal contraiu a infestação pode-se encontrar os ovos de *T. canis* nas fezes. Este tipo de migração recebe o nome de migração traqueal .

As larvas que atingem os pulmões e não fazem a via traqueal, entram na veia pulmonar e distribuem-se no do sistema circulatório por todo o corpo. As larvas podem ser encontradas em tecidos somáticos principalmente nos pulmões, fígado, rins e músculos (DUBEY, 1978). Esta forma de migração é chamada migração somática (DUBEY, 1978; LLOYD e SOULSBY, 1983).

Algumas larvas de *T. canis* após executarem migração somática em cães jovens, se encistam nos tecidos. Estas permanecerão quiescentes no corpo destes animais mesmo após o cão tornar-se mais velho. Isto explica porque as cadelas ao ficarem prenhes infectam seus filhotes.

Normalmente, em cães com menos de 5 meses de idade, a maioria das L3 realizam migração traqueal. Em animais com mais de 6 meses de idade quase todas as larvas sobreviventes distribuem-se nos tecidos onde permanecem encistadas. A quantidade de larvas infectantes também influi sobre o padrão de migração.

Intrauterinamente, ocorre infecção pré-natal dos filhotes, quando as larvas migram através da placenta da cadela. A origem das larvas pode ser uma infecção nova adquirida durante a prenhez ou L3 adquiridas anteriormente que estavam encistadas em tecidos. Durante a gestação, aproximadamente no 42º dia da prenhez, ocorre a migração transplacentária. Provavelmente, por ação hormonal as L3 se desencistam e atingem o feto. As L3 migram para o fígado dos fetos infectados onde permanecem até o nascimento dos cães. A seguir, migram para os pulmões e através dos brônquios e traquéia são deglutidas e no intestino atingem a forma adulta. Após a quarta semana do nascimento dos cães, pode-se encontrar ovos de *Toxocara canis* em suas fezes.

Após a fase aguda da infestação, quase sempre os cães e gatos infectados se recuperam e expulsam os vermes espontaneamente, durante os seis primeiros meses de vida (SCHANTZ e GLICKMAN, 1983).

A presença de larvas no colostro canino é constatada logo após o parto, sendo máxima durante a segunda semana de lactação (STOYE, 1979). Durante a lactação a cadela pode adquirir carga significativa de vermes adultos e eliminar grande número de ovos em suas fezes. Com o fim da amamentação, os vermes são eliminados (SOULSBY, 1983). Portanto, através do leite as cadelas lactentes também podem infectar seus filhotes com L3. Então, se uma cadela se infecta nos 42º dias da gestação o número de larvas transmitidas por via transplacentária excede o número transmitido durante a lactação. Se a infecção ocorre mais tarde, aumenta a possibilidade de transmissão transmamária.

A infecção pré-natal por intermédio da placenta da cadela é a forma mais importante de transmissão em cães. Vários estudos mostraram que quase 100% dos filhotes de cães são infectados *in utero* (LLOYD et al., 1983; SCOTHORN et al., 1965). A infecção transplacentária pode ocorrer em gestações sucessivas, mesmo na ausência de reinfecção entre elas (OVERGAAUW, 1997; BURKE e ROBERTSON, 1983). As vias

transplacentária e mamária enfatizam a importância do cão recém-nascido como hospedeiro para as formas adultas de *T.canis* e, por conseguinte, como a principal fonte de infecção para o homem. Também as cadelas que amamentam podem ser importante fonte de contaminação ambiental, conforme mencionado anteriormente. Nesta fase elas podem adquirir uma carga significativa de vermes adultos e assim eliminar grande número de ovos em suas fezes.

Em gatos o ciclo vital de *Toxocara canis* é semelhante ao dos cães, exceto pela não ocorrência da transmissão transplacentária da larva. Epidemiologicamente, é um fato importante, determinando infecção menos freqüente nos filhotes (SCHANTZ e GLICKMAN, 1983).

O homem adquire a toxocaríase pela ingestão de ovos infectantes contendo larvas de terceiro estágio de *Toxocara sp.*

Os ovos podem estar presentes em solo e nos pêlos dos animais como cão e gato. Entretanto, SCHANTZ (1989) informa que a ingestão de vísceras cruas ou mal cozidas de hospedeiros paratênicos é outra possível fonte de aquisição da toxocaríase. BEAVER (1962) observou que pessoas que tinham ingerido fígado cru para tratamento de anemia perniciosa apresentavam a possibilidade de ter adquirido a doença, pois apresentavam hipereosinofilia. O primeiro caso de toxocaríase após a ingestão de fígado de carneiro cru foi apresentado nos EUA (SALEM e SCHANTZ, 1996). Também no Japão e Suíça há relatos de associação entre toxocaríase e ingestão de carne crua (NAGAKURA et al., 1989; STÜRCHER, et al., 1990).

Após a ingestão dos ovos contendo L3, a eclosão fica na dependência de um estímulo específico fornecido pelo hospedeiro. O valor adaptativo desse processo é evidente, pois os primeiros estágios larvários podem resistir melhor às condições desfavoráveis do meio ambiente, permanecendo dentro do ovo até serem ingeridos por seus hospedeiros. O estímulo mais importante para provocar a eclosão dos ovos de *Ascaris* e *Toxocara* é o gás carbônico. Fatores coadjuvantes são a presença de agentes redutores, o valor do pH, a temperatura e a presença de sais. No entanto, sem a presença do gás carbônico dissolvido ou do ácido carbônico não dissociado não ocorre eclosão dos ovos

(REY, 1991). Este estímulo agindo sobre a larva, ainda que durante um tempo limitado, desencadeia o mecanismo de eclosão, com a secreção de várias enzimas (quitinase, lipase e protease). As enzimas dissolvem a camada externa do ovo ou ao menos uma pequena área da membrana do ovo por onde a larva força passagem. A membrana interna que envolve a larva L3 pode ser digerida ou pode se romper liberando-a. Tal fenômeno acontece no tubo digestivo, mais precisamente no intestino delgado. As L3 penetram na mucosa intestinal e através da veia porta migram para o fígado, seguem os canais vasculares, atingem os pulmões, de onde são disseminadas pela circulação sistêmica, podendo ser, depois, encontradas em qualquer tecido ou órgão, como o fígado, pulmões, coração e cérebro (SCHANTZ e GLICKMAN, 1983).

Dependendo da resistência conferida pelo diâmetro dos vasos sanguíneos dos tecidos, a disseminação pode ser impedida ocorrendo a lesão da parede do vaso. Através desta lesão as larvas migram pelos tecidos vizinhos, podendo produzir manifestações clínicas variadas ou permanecerem quiescentes, dependendo da sua localização (GLICKMAN e SCHANTZ, 1981).

As manifestações clínicas e patológicas resultam de danos mecânicos ocasionados pela presença e migração larvária nos tecidos e pela resposta inflamatória decorrente da resposta imunológica ocorrida pela presença das larvas e também em resposta à liberação de antígenos TES pelas larvas migrantes (SCHANTZ e GLICKMAN, 1983).

Os tecidos afetados mostram abscessos múltiplos e granulomas eosinofílicos de tipo alérgico.

As manifestações clínicas na infecção por *Toxocara canis* apresentam amplo espectro, podendo existir desde casos assintomáticos até, mais raramente, outros com evolução fatal. Estes normalmente resultam de envolvimento do miocárdio e do sistema nervoso central ou de uma exagerada resposta imunológica do hospedeiro (GLICKMAN e SCHANTZ, 1981; FRIEDMAN e HERVADA, 1960). A grande variabilidade de manifestações clínicas está relacionada com frequência da infecção, padrão de migração larvária e a resposta imune do hospedeiro (SCHANTZ, 1989).

SCHANTZ e GLICKMAN (1983) acreditam que as infecções produzidas por um número pequeno de larvas são as mais comuns e geralmente assintomáticas, este é o motivo de muitos casos não serem diagnosticados.

As formas clínicas da doença são síndrome da larva migrans visceral e toxocaríase ocular. Também são descritas a toxocaríase oculta (“Covert Toxocariasis”) e formas atípicas.

Nesta forma clínica os pacientes acometidos geralmente são crianças menores de 5 anos de idade, por haver associação freqüente entre contato com cães jovens parasitados, geofagia ou hábitos de levar objetos não comestíveis à boca (MOK, 1968; GLICKMAN et al., 1979; GILLESPIE, 1987; JACOB et al., 1987). A doença também acomete adultos, porém de uma forma mais rara (EHRHARD e KERNBAUM, 1979; CHIATTONE et al., 1983).

Em um significativo número de casos, os sintomas são leves ou mesmo ausentes, sendo a infecção identificada somente após achado ocasional de hipereosinofilia, ou sibilância recorrente associada às condições epidemiológicas favoráveis (BEAVER, 1962). Os achados clínicos mais comuns são: anemia, febre, manifestações pulmonares e hepatomegalia (BEAVER, 1956; SNYDER, 1961, EHRHARD e KERNBAUM, 1979; JACOB et al., 1994). BEAVER et al. (1952) observaram presença de anemia nos primeiros casos descritos de toxocaríase, sendo provavelmente multifatorial, já que condições epidemiológicas propícias são comuns à deficiência de ferro e à toxocaríase.

Quando as L3 de *Toxocara canis* invadem o globo ocular durante sua migração, ocorre a síndrome da larva migrans visceral ocular ou toxocaríase ocular. Esta síndrome acomete os olhos ocorrendo tipicamente de forma unilateral. No entanto, ocasionalmente, pode ocorrer de forma bilateral. Esta forma da doença é mais comum em crianças, mas pode ocorrer em adultos. A L3 quando está presente na circulação sistêmica, através da artéria central da retina passa para o humor vítreo.

As manifestações clínicas mais comuns na toxocaríase ocular são: estrabismo, leucocoria, perda visual, dor e hiperemia ocular (GIRDWOOD, 1986). As lesões freqüentemente associadas são: endoftalmite, granuloma retiniano central, periférico ou de pólo posterior, catarata e deslocamento da retina (WILDER, 1950; RICHER e STILES, 1987; SHIELDS, 1984).

No caso da toxocaríase ocular, o quadro laboratorial é pobre, devido à presença de carga antigênica insuficiente para desencadear elevação do número de eosinófilos e hipergamaglobulinemia.

Nas formas atípicas ou formas ocultas de larva migrans visceral ocorrem manifestações clínicas inespecíficas tais como dor abdominal recorrente, cefaléia, astenia e hepatomegalia. A eosinofilia pode estar presente, apesar de altos títulos sorológicos para *Toxocara canis*. Outra forma atípica que atinge o adulto jovem do sexo feminino apresenta astenia crônica, erupção cutânea e dor no hipocôndrio direito. Na grande maioria dos casos há detecção de elevados níveis de gamaglutamiltranspeptidase, associados a altos níveis de anticorpos anti-toxocara.

O termo formas atípicas foi proposto por TAYLOR et al. (1987), ressaltando que a toxocaríase oculta é mais comum que toxocaríase visceral ou toxocaríase ocular e, em alguns casos, a eosinofilia pode estar ausente.

NATHWANI et al. (1992) recomendam que deve-se pesquisar toxocaríase naquelas crianças que apresentam dor abdominal recorrente, independente de eosinofilia, evitando exames invasivos e muitas vezes desnecessários.

O conhecimento da epidemiologia da toxocaríase é essencial para que este importante parasito possa ser prevenido. Em 1979, o comitê de especialistas em zoonoses parasitárias da Organização Mundial da Saúde já considerava que a toxocaríase era um problema de Saúde Pública, com o qual era necessário preocupar-se e que sua importância estava subestimada.

Segundo SCHANTZ (1989), a freqüência relativa de diagnósticos de LMV parece estar mais relacionada com a disponibilidade de serviços e recursos diagnósticos do que a real prevalência.

Muitos estudos sorológicos conduzidos em diferentes regiões do mundo mostram maior prevalência em países tropicais e em desenvolvimento, geralmente associada com baixo nível socioeconômico e moradia em área rural (THOMPSON et al., 1986; LYNCH et al., 1988). Condições de higiene precárias parecem propiciar a

transmissão da infecção. MAGNAVAL et al (1994), em La Reunion, uma ilha tropical do Oceano Índico, encontraram uma correlação significativa com sexo, idade e ausência de fornecimento de água.

LYNCH et al (1993) encontraram altos níveis de soroprevalência, com pico de positividade de 36,4%, em um grupo de 368 crianças residentes em favelas de Caracas, Venezuela.

No Brasil, CHIEFFI (1984) encontrou uma positividade de 3,6% em 2.025 soros provenientes de cinco municípios do Estado de São Paulo, de diferentes faixas etárias e ambos os sexos, com predomínio discreto do sexo masculino e de indivíduos menores de 15 anos. CASEIRO (1996), no município de Santos, SP, avaliando 2.056 escolares de 4 a 15 anos, encontrou positividade de 24,7%, com predomínio do sexo masculino e associação com geofagia.

No Canadá, EMBIL et al. (1988) encontraram uma prevalência de 14% na área urbana e 19,5% na área rural, sendo nesta última considerada a posse de cães como importante fator de risco.

Observa-se ainda que a tendência dos índices elevados ocorre em pacientes residentes em municípios de maior densidade demográfica como São Paulo, Campinas e Santos. (CHIEFFI et al, 1990).

Em estudo recente na cidade de Campinas, em alguns bairros foram analisadas por sorologia ELISA, 225 amostras de sangue com positividade de 24% (ANARUMA, 1999).

Ainda no Brasil, no município de Vitória, no Espírito Santo, foram estudadas crianças internadas em hospital pediátrico, sendo encontrado 39% para *Toxocara canis*. A positividade predominou nos meninos (MOREIRA-SILVA et al, 1998). Afim de determinar a prevalência de anticorpos anti-*Toxocara* na população infantil mediante teste de ELISA os resultados apresentados foram 73% em crianças que possuíam cães nas suas residências, 57% em crianças com antecedência a hábitos de geofagia e 37,9% apresentaram sorologia positiva apenas (ALONSO et al, 2000).

No homem, a soroprevalência para larva migrans visceral foi de 6,7% nos EUA, 4,7% no Canadá, 7,% na Austrália, 4% no Japão, 16,4% no Zimbawe e 29,1% na América Latina (BARRIGA, 1988).

A prevalência sorológica humana para *Toxocara canis* pode ser estabelecida utilizando a técnica de ELISA e geralmente varia dependendo da composição demográfica e da população estudada. A soroprevalência em alguns países também foi relatada, sendo 7,1% na Holanda, 3,6% no Japão, 2,6% no Reino Unido e 4,6 a 7,3% nos EUA (GLICKMAN e SCHANTZ, 1981).

RADMAN et al (2000) descreveram a soroprevalência em humanos para *Toxocara canis* na cidade de La Plata, Argentina, associando com idade, presença e ausência de sinais clínicos e fatores de risco à infecção, sendo encontrada positividade de 39%.

Em estudo epidemiológico realizado na República Eslováquia, por HAVASIOVÁ et al (1993) foi constatado 13,6% de infectados. Em estudo epidemiológico feito na Espanha, foi encontrado 29,4% de prevalência de infecção em cães. Ainda foi revelado índice de 3,7% para ovos do parasito no solo (CONDE GARCIA et al, 1989). Em humanos a soroprevalência foi de 8,5% na área urbana e 4,6% na rural (CONDE GARCIA et al, 1989).

No Continente Africano, na Nigéria, AJAYI et al. (2000) observou 29,8% de positividade para sorologia contra *T.canis*.

A quantidade de cães e a contaminação de solo são preponderantes para adquirir infecção por *Toxocara canis*. Os ovos desse parasito estão facilmente presentes em jardins, praças públicas, parques infantis, etc, devido à grande quantidade de cães que os freqüentam.

A prevalência da contaminação do solo por ovos de *Toxocara canis* em diversos lugares do mundo varia entre 10% e 60%.

Os ovos de *Toxocara canis* são muito resistentes a fatores ambientais e podem permanecer em solo argiloso por muito tempo e em temperatura entre 15°C e 35°C. Após embrionados, estes ovos tornam-se infectantes e quando ingeridos contaminam mais

crianças que adultos. A geofagia é um fator de risco, claramente associado à infecção. A ingestão de carne mal cozida com presença de larva do parasito também é uma forma de infecção por *Toxocara canis*.

Existem também indícios de que variações sazonais interferiram na presença de ovos viáveis de *Toxocara canis* no solo (CHIEFFI e MULLER, 1978), e em algumas ocasiões haveria maior probabilidade de ocorrerem infecções em seres humanos (CHIEFFI, 1984). Na Espanha, CONDE GARCIA et al. (1989) encontraram 3,5% de positividade em amostras de solo de áreas urbanas e 8,9% em áreas rurais. A diferença foi estatisticamente significativa no verão mas não no inverno. Os autores observaram que o risco pode estar reduzido durante os meses de inverno, porque neste período as crianças brincam por tempo menor em áreas externas, o que reduziria a possibilidade de contato com os ovos.

BORG e WOODRUFF (1973) examinaram 800 amostras de terra de praças públicas de Londres, Glasgow, Brighton, Cardiff, Norwich, e Birmingham, por método da flutuação em ZnSO₄, encontrando 244 amostras positivas para ovos de *Toxocara canis*. Foram examinadas 170 crianças que brincavam nestes parques e 4,1% tiveram teste cutâneo positivo com antígeno de *Toxocara canis*.

Baseados em observações de aproximadamente 42.000 cães, (GLICKMAN e SCHANTZ, 1981) constataram que 15% estavam infectados por *Toxocara canis*. Entretanto, a prevalência foi de 90% se fossem considerados somente cães com menos de 12 semanas (BARRIGA, 1988).

GENNARI et al. (1999) examinaram fezes de cães e gatos na cidade de São Paulo e encontraram 8,5% de positividade para ovos de *Toxocara canis*. No Japão, SHIMIZU (1993) assinalou 68% de positividade em fezes de animais jovens.

Na América do Sul, em Santiago (Chile), CASTILLO et al. (2000) encontraram 13,5% de positividade em amostras de fezes de cães coletadas em praças e parques da cidade. Na Turquia, foi registrado índice de prevalência de 30,6% para ovos de *Toxocara canis* em solo (OGE e OGE, 2000). Ainda em solos foram encontradas taxas de 17,6; 4,1; 2,4; 1,8 e 1,2% para ancilostomatídeos, *Toxascaris leonina*, *Trichuris sp.*, *Taenia sp* e *Enterobuis vermicularis*, respectivamente.

A frequência de contaminação de parques e praças públicas em Botucatu, Estado de São Paulo, por ovos de *Toxocara sp* foi de 17,5% em seis praças (SANTARÉM et al., 1998).

O diagnóstico da toxocaríase decorre de manifestações clínicas compatíveis com a síndrome excluindo outras patologias, da utilização de dados epidemiológicos característicos e da sorologia. Considera-se sorologia positiva para *Toxocara canis*, por ELISA com antígeno toxocara-excreção-secreção (TES), quando o título for maior ou igual a 160. Na interpretação da sorologia para se detectar a toxocaríase ocular deve-se tomar, como significativos da infecção, títulos inferiores aos que são encontrados na forma visceral.

A larva de *Toxocara canis* que infecta o homem ou outro hospedeiro paratênico não tem seu ciclo de vida por completo e desse modo o ovo não é encontrado em exame parasitológico de fezes. Outro método seria o de biópsia de órgãos como fígado, pulmão e cérebro para encontrar a larva. É um processo de difícil realização com alto risco para o paciente.

Na síndrome da larva migrans visceral causada por *Toxocara canis*, a larva infectante dificilmente é isolada ou demonstrada pela biópsia. O diagnóstico é baseado em sinais clínicos, dados laboratoriais, geofagia e contato com cães, especialmente jovens. Valores aumentados de leucócitos, eosinófilos, globulinas com níveis séricos elevados de IgG e IgM e títulos altos de iso-hemaglutininas são dados importantes que auxiliam no diagnóstico da toxocaríase.

Devido às limitações das técnicas parasitológicas para detectar a toxocaríase humana, foram desenvolvidos métodos práticos e sensíveis de imunodiagnóstico para anticorpos específicos. São utilizados vários métodos como: intradermorreação, reações sorológicas de fixação de complemento, floculação de bentonita, precipitação da larva ou de seus antígenos em gel de ágar, hemaglutinação indireta, imunofluorescência direta ou indireta, radioimunoensaio e testes imunoenzimáticos. Os antígenos utilizados nessas reações incluem extratos somáticos de vermes adultos, de ovos embrionados ou de larvas íntegras ou seccionadas e produtos metabólicos coletados *in vitro*.

O antígeno apropriado para uso em testes sorológicos para pesquisa do *Toxocara canis* no homem ou outro hospedeiro paratênico deve ser derivado de larva infectante L3, pois é mais sensível que os antígenos de vermes adultos.

O antígeno é extraído de L3 derivada de ovos embrionados e mantidas por vários meses em meio de cultura definido, isento de macromoléculas, produzindo então material com atividade imunogênica e antigênica importantes para os estudos imunológicos de parasitos.

Este produto metabólico é denominado antígeno de excreção e secreção (TES). O TES é composto de distintas moléculas de proteínas que são excretadas e também liberadas da superfície da larva. O rendimento e a composição deste antígeno pode variar, segundo detalhes técnicos da manutenção das larvas. O TES produzido *in vitro* também é encontrado ao redor da larva no tecido do hospedeiro paratênico e é importante para a sobrevivência do parasita *in vivo*. A larva de *Toxocara canis* produz protease semelhante à elastase, que degrada proteína. É provável que a larva a utilize, durante a migração por meio dos tecidos.

Com relação ao sistema imune, o TES induz eosinofilia em camundongos, se administrado em grandes quantidades. Linfócitos T humanos respondem ao TES, através de células Th2, produzindo citocinas IL-4 e IL-5. A primeira estimula célula B e amplifica a resposta do IgE, e a segunda é importante para a estimulação do eosinófilo.

A maioria dos anticorpos monoclonais dirigidos contra o TES produzidos em diferentes laboratórios reage com os determinantes antigênicos formados por carboidratos. Estes anticorpos anticarboidratos reconhecem epítomos sensíveis ao tratamento com periodato encontrados em proteínas de diferentes pesos moleculares. Ligam-se a diferentes glicoproteínas, através de uma presumível cadeia lateral de oligossacárides comum.

Por meio de anticorpos monoclonais pode-se detectar antígeno de *Toxocara canis* em soros de animais e pacientes infectados, confirmando, desse modo, a liberação *in vivo* deste produto, que pode ser útil para o diagnóstico.

Em função da alta reatividade antigênica com anticorpos humanos e de animais infectados e pela praticidade de sua obtenção *in vitro*, o TES é recomendado como antígeno padrão para ser utilizado nos testes diagnósticos sorológicos da toxocaríase humana.

Com a introdução do teste de ELISA utilizando o antígeno TES de larva de terceiro-estágio de *Toxocara canis* obteve-se uma técnica importante, passando a ser largamente empregada e aceita como padrão para imunodiagnóstico.

O título significativo para o diagnóstico da toxocaríase visceral, quando correlacionado com as manifestações clínicas e os dados epidemiológicos e laboratoriais, é igual ou superior a 160. Título inferior pode significar formas inaparentes ou assintomáticas ou mesmo reação cruzada. A reação cruzada pode ocorrer com soros de indivíduos poliparasitados por helmintos nos quais o processo de absorção com antígeno de *Ascaris suum* é insuficiente, provavelmente devido à carga parasitária e à complexidade antigênica que estimula o sistema imune (FERREIRA e ÁVILA, 1996).

A sensibilidade e especificidade do teste para detectar e quantificar a resposta imune varia de acordo com a preparação e com o método sorológico. Com relação à toxocaríase há pequenas diferenças quantitativas e qualitativas que possam ser demonstradas. Não têm sido detectadas variações significativas quanto à eficiência diagnóstica de diferentes lotes de antígenos TES preparados e testados em diversos laboratórios. Este fato sugere que se caminha para uma padronização desse antígeno.

Um problema que se relaciona com o tipo de antígeno e o teste imunológico da toxocaríase é a especificidade, devido à ocorrência de reações cruzadas que são observadas em soros de pacientes infectados com outros parasitos.

O antígeno TES não é gênero específico possui estrutura antigênica semelhante a outros helmintos. Soros de animais infectados com *Ascaris suum*, *Toxocara cati*, *Toxocara pteropodis* e de pacientes com ascaridíase, filariose e estrogiloidíase reagem com TES.

Uma maneira prática para evitar essa reação cruzada é absorver a amostra de soro com extrato antigênico de *Ascaris sp* antes de ser analisada.

Para obter resultados que expressem total especificidade em estudos populacionais, em áreas de endemicidade variada, deve-se fazer absorção de soros com extrato antigênico dos diferentes parasitas não homólogos sugestivos a induzirem a reação-cruzada.

Na Venezuela, foi feito um inquérito soropidemiológico para avaliar a especificidade do ELISA com o TES. Então as amostras só foram processadas após absorção com extratos antigênicos dos parasitas: *Ascaris lumbricoides*, *Necator americanus*, *Ancylostoma duodenale*, *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis*, *Strongyloides ratti*, *Schistosoma mansoni*, *Taenia sp*, *Dirofilaria immitis*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Leishmania sp*, e *Trypanosoma cruzi*. Esse procedimento não invalida os inquéritos epidemiológicos feitos em diferentes países para indicar a prevalência dos anticorpos anti *Toxocara canis* na população. (FERREIRA e ÁVILA, 1996)

A sensibilidade para o diagnóstico sorológico da toxocaríase depende da resposta imune do hospedeiro paratênico.

A síndrome da larva migrans visceral causada por infecção com carga larvária alta resulta sem grande produção de anticorpos. Nesses casos a sensibilidade do ELISA com TES é muito alta. Para avaliar essa sensibilidade são realizados testes com anticorpos da classe G.

A sensibilidade do teste é função do título de reatividade, tomado como limite de positividade. As limitações impostas pela falta de método de confirmação e ou exclusão da toxocaríase impedem uma avaliação satisfatória do teste utilizado para fins de imunodiagnóstico. Além disso, a presença de títulos positivos no teste ELISA entre pacientes com pouco ou nenhum sinal clínico de toxocaríase visceral ou toxocaríase ocular pode estar indicando a prevalência de casos assintomáticos de toxocaríase. O título do anticorpo, em humanos com toxocaríase visceral, pode persistir por grande período de tempo, mesmo sem sinais clínicos ou laboratoriais compatíveis com a infecção.

A resposta imune é individual com variação de paciente para paciente. Provavelmente, isto se deve ao desaparecimento gradual da memória do sistema imune e seu aumento pela estimulação derivada da contínua ingestão de ovos larvados ou da reativação de larvas encistadas em tecidos.

Na pesquisa de anticorpos no soro ou humor aquoso em caso de toxocaríase ocular os níveis séricos do anticorpo circulante são geralmente inferiores aos encontrados na toxocaríase visceral. Este fato está relacionado com número de larvas infectantes ou com maior intervalo de tempo entre o início da infecção e a intervenção clínica e laboratorial.

A seleção de título menor para o limite de reatividade aumenta o valor preditivo e com isso permitiria excluir a toxocaríase em casos de lesão ocular suspeita. Quando se adota limite de reatividade menor, aumenta-se a probabilidade de detectar casos de indivíduos infectados assintomáticos.

Além do estudo da toxocaríase houve também interesse em estudar as parasitoses intestinais e a esquistossomose mansoni em Pedro de Toledo, já que o local é considerado área endêmica para *Schistosoma mansoni*.

A esquistossomose é uma doença de veiculação hídrica, cujos agentes etiológicos são representados por trematódeos de gênero *Schistosoma*. No Brasil, a única espécie existente é *Schistosoma mansoni*, que causa a esquistossomose mansoni.

Schistosoma mansoni desenvolve sua fase adulta nos vasos sangüíneos do homem e de outros mamíferos. Habita preferencialmente as vênulas do plexo hemorroidário superior e os ramos mais finos das veias mesentéricas, particularmente da mesentérica inferior. Os ovos são eliminados com as fezes e ao alcançarem coleções de água doce liberam os miracídios, forma infectante para o hospedeiro intermediário, moluscos do gênero *Biomphalaria*. Os miracídios, ao penetrarem pelos tecidos do molusco, transformam-se em esporocistos que por poliembionia geram as cercárias, larvas infectantes para o hospedeiro vertebrado. Estas, ao serem eliminadas pelos moluscos, na água, nadam até encontrar o vertebrado e, quando em contato, penetram ativamente pela pele do mesmo, perdendo a cauda e se transformando em esquistossômulo. Este é o último estágio larval do parasito, ao ganhar a circulação geral, passa pelo coração e pulmões e migra finalmente para o fígado (REY, 1991).

Os parasitos que chegam no sistema porta intra-hepático completam o seu desenvolvimento alcançando a fase adulta. Os vermes adultos acasalam-se, migram para as vênulas da parede intestinal e iniciam a postura. Parte dos ovos atravessam a submucosa intestinal e são eliminados pelas fezes, dando continuidade ao ciclo; a outra parte fica retida nos tecidos.

Uma área caracterizada como importante na transmissão da esquistossomose no Estado de São Paulo, onde a SUCEN vem trabalhando desde a década de 70, é o município de Pedro de Toledo, no Vale do Ribeira como já dito anteriormente. Apesar dos esforços, no controle, ainda foi relatado um aumento nos índices de prevalências da esquistossomose de 4% em 1970 para 12% em 1978 (DIAS et al., 1989).

DIAS et al. (1989) encontraram uma prevalência de esquistossomose de 22,8% utilizando método parasitológico de Kato-Katz. Paralelamente, DIAS et al. (1992a) obtiveram nesta mesma população índices de prevalência de 55,5% e 51,8% utilizando, respectivamente, métodos imunodiagnósticos de imunofluorescência indireta e intradermorreação. A partir de modelo probabilístico, em que se considerou como válidos os índices de sensibilidade e especificidade dos métodos imunodiagnósticos, estimou-se como sendo 44,3% a prevalência verdadeira da esquistossomose no município em questão (DIAS et al., 1992a).

A comparação de dados de prevalência obtidos por métodos parasitológicos e imunológicos demonstraram a falta de sensibilidade dos métodos parasitológicos de fezes na detecção de indivíduos infectados com baixas cargas parasitárias. As técnicas imunológicas vêm se tornando cada vez mais úteis no diagnóstico da esquistossomose, constituindo-se hoje importante instrumento quando utilizadas em inquéritos populacionais, para o conhecimento dos diferentes aspectos epidemiológicos da doença.

A introdução de metodologia sorológica em áreas de baixa endemicidade para esquistossomose, como as do Estado de São Paulo, é de grande interesse, pois permite avaliar a prevalência mais próxima da verdadeira do que a observada pelos métodos parasitológicos.

A metodologia sorológica, que tem se mostrado útil em estudos epidemiológicos, especialmente nos realizados em algumas áreas do Estado de São Paulo, é a reação de imunofluorescência indireta (RIF). No presente trabalho, foram utilizados substratos antigênicos que vêm sendo utilizados na reação como cortes parafinados de verme adulto para detecção de anticorpos IgM contra antígenos presentes no tubo digestivo do parasito (KANAMURA et al., 1991).

A reação de imunofluorescência indireta tem se mostrado útil em estudos populacionais, devido à facilidade de obtenção dos cortes parafinados e à estabilidade do antígeno em temperatura ambiente por longos períodos. O fato de o antígeno poder ser distribuído, sem necessidade de resfriamento, torna o método mais acessível para os laboratórios que não mantêm o ciclo do parasito. Entretanto, a leitura subjetiva ao microscópio de fluorescência, que não permite a automação, representa uma das grandes limitações do teste, para a aplicação em estudos mais amplos.

A importância da esquistossomose, no quadro das endemias parasitárias, deve-se a sua vasta distribuição, sendo encontrada em 74 países na África, Oriente Médio, América do Sul, Caribe, Filipinas e sudeste da Ásia (WHO, 1997). No Brasil, acredita-se existir no mínimo 2,5 milhões de portadores da esquistossomose mansoni e cerca de 25 milhões de indivíduos expostos ao risco de contraí-la (PASSOS e AMARAL, 1998). Embora não existam dados precisos, as estimativas mostram a extensão da parasitose, justificando a necessidade de esforços cada vez maiores, visando ao controle desta importante endemia parasitária (KATZ e PEIXOTO, 2000)

As parasitoses intestinais constituem-se num grave problema de Saúde Pública, sobretudo nos países de terceiro-mundo, sendo um dos principais fatores debilitantes da população, associando-se freqüentemente a quadros de diarreia crônica e desnutrição, comprometendo, como consequência, o desenvolvimento físico e intelectual, particularmente das faixas etárias mais jovens da população (PEDRAZZANI et al., 1988; SALATA et al., 1972).

A grande extensão da área endêmica, aliada ao caráter francamente expansivo da doença no território brasileiro, confere à esquistossomose mansoni uma grande relevância no panorama atual da saúde pública brasileira (PASSOS e AMARAL, 1998). A infecção é endêmica em 19 estados e no Distrito Federal (AMARAL e PORTO, 1994; GRAEFF-TEIXEIRA et al., 1999).

Ascaris lumbricoides é considerado um dos parasitos mais cosmopolitas do mundo; é conhecido vulgarmente como lombriga, e infecta cerca de 1,5 bilhões de pessoas no mundo. O homem se infecta ingerindo ovos contendo larvas infectantes. Os ovos podem

estar presentes na água ou vegetais crus contaminados com ovos do parasito, que habita à luz do intestino delgado do ser humano onde uma fêmea, após ser fecundada pelo macho, produz cerca de 200 ovos por dia, os quais são expulsos com as fezes, ainda não embrionados, contaminando o solo. No solo em condições favoráveis os ovos tornam-se infectantes (PESSOA, 1982).

Quando os ovos estão presentes no solo, estes podem se disseminar pelo vento, enxurrada, insetos e varrição. Os ovos de *Ascaris lumbricoides* são muito resistentes no meio externo. Em condições adversas podem permanecer em estado de vida latente (PESSOA, 1982). Graças à sua membrana albuminosa suporta o ressecamento e baixas temperaturas.

Os ovos embrionados de *Ascaris lumbricoides* uma vez ingeridos eclodem no intestino delgado, liberam as larvas, que penetram na circulação sangüínea e linfática atingindo subseqüentemente os capilares e alvéolos pulmonares. A partir dos alvéolos por intermédio dos brônquios e traquéia atingem a faringe, e então são deglutidas e atingem o intestino delgado onde vão se tornar vermes adultos, os quais podem migrar para outras regiões.

O diagnóstico da infecção é feito por meio de pesquisa de ovos nas fezes. Os métodos parasitológicos mais utilizados são o de sedimentação espontânea (método de Lutz), Coprotest® e o método de Kato-Katz (CIMERMAN e CIMERMAN, 1999).

A prevalência mundial talvez esteja em torno de 30%. Porém é muito desigual de lugar para lugar. No Brasil, sobre um milhão de exames coproparasitológicos feitos anualmente pelos serviços de saúde (Sucam) a prevalência geral foi de 36,7%, em 1976, mostrando tendência para o declínio nos anos secativos (42,2% em 1974). Na Amazônia, as taxas foram superiores a 60%, enquanto que no Nordeste oscilaram entre 33% e 50% delas foram elevadas em Alagoas (78%) e Sergipe (92%) baixando para 33% ou menos no Sul do país (REY, 1991)

Em São Paulo, na área urbana, FERREIRA (1994) encontrou 23,8% de indivíduos infectados por *Ascaris lumbricoides*. Em Botucatu, no Estado de São Paulo, GUIMARÃES e SOGAYAR. (1995) constataram positividade de 26,4%.

No Estado de Minas Gerais foi encontrado um coeficiente de prevalência de 59,5% (CAMPOS et al., 1988). Ainda em Minas Gerais no município de Bambuí, um estudo em escolares (ROCHA et al., 2000) detectou 4,8% parasitados por *Ascaris lumbricoides*.

Trichuris trichiura é um nematóide cujo adulto vive no intestino grosso do homem, mais precisamente no ceco. Seus ovos são eliminados com as fezes no meio externo, contaminando o solo, onde ocorre o embrionamento. O homem se infecta ingerindo os ovos embrionados que eclodem no intestino, liberando as larvas que migram pelo organismo, indo se alojar no ceco. No ceco as larvas evoluem em vermes adultos. Este parasito não tem tendência para migrar para outros locais do corpo. Completado o desenvolvimento, os vermes adultos fixam-se na mucosa, onde mantêm mergulhada a extremidade cefálica (REY, 1991).

Trichuris trichiura é considerado um verme cosmopolita e muitas vezes acompanha o parasitismo por *Ascaris*, devido à resistência de seus ovos ao meio ambiente e ao modo de transmissão. As crianças são as que apresentam maior índice de prevalência dessa verminose. O peridomicílio é o principal local de transmissão. No Brasil, a prevalência é de 51% em crianças. As taxas encontradas nas diversas regiões são distintas, sendo 37,3% em São Paulo (MOURA e SOUZA JUNIOR, 1995). O diagnóstico é feito pelo exame de fezes pelos métodos de sedimentação espontânea (método de Lutz), Coprotest® ou pelo método de Kato Katz (NEVES et al., 2001).

Ancilostomíase designa a doença causada no homem pela ação de *Ancylostoma duodenale* ou de *Necator americanus*, ou ainda pela presença de ambos. A diferença entre ambos é a existência de placas ventrais cortantes na cápsula bucal do *Necator americanus* e a presença de dentes na cápsula bucal do *Ancylostoma duodenale*. Estes são elementos de fixação na mucosa intestinal do duodeno, permitindo desta forma uma sucção constante do sangue do hospedeiro.

Os ovos desses parasitos são eliminados com as fezes, contaminado desta forma o solo, no qual as larvas eclodem e evoluem para um estágio infectante. Para que as larvas sejam viáveis elas necessitam de solo úmido, e outros fatores também influenciam a população de larvas, tais como pH do solo e textura argilosa.

O homem em contato com solo, contaminado pelas larvas infectantes, contamina-se pela penetração ativa destas através da pele. Em seguida, as larvas caem em pequena quantidade na corrente circulatória e principalmente na circulação linfática, de onde alcançam o ducto torácico e subseqüentemente a corrente circulatória, até atingirem os capilares pulmonares. As larvas atravessam os capilares pulmonares e alcançam os alvéolos pulmonares, neste local desenvolvem sua cápsula bucal provisória. A seguir as larvas, são levadas pelo epitélio ciliado da mucosa respiratória, atingem a traquéia e em seguida a faringe. Na faringe, a larva pode ser expectorada ou engolida. Se for engolida, a larva atinge o intestino e se desenvolve em verme adulto.

Ocorre um desenvolvimento freqüente de anemia em pacientes sujeitos às infecções intensas por ancilostomatídeos, especialmente quando há também certo grau de deficiência alimentar, fazendo desta verminose um dos mais sérios problemas médicos e sanitários (NEVES et al, 2001).

No Brasil, ocorre um predomínio do *Necator americanus*. Todavia, *Ancylostoma duodenale* é encontrado em 20% a 30% dos indivíduos infectados (CHAN, 1997). A prevalência mais recente, segundo a SUCAM, no período de 1974 a 1976, foi de 20%. Isto permite imaginar que existiam cerca de 22 milhões de indivíduos parasitados (REY,1991).

O diagnóstico é feito por exame de fezes, por método qualitativo de concentração de ovos. Para se avaliar a intensidade de infecção do paciente, usa-se o método quali-quantitativo de Kato-Katz, cujo resultado expressa o número de ovos do parasita por grama de fezes (NEVES et al, 2001).

Strongyloides stercorales é um helminto que infecta cerca de 100 milhões de seres humanos ao redor do mundo. A fêmea habita o duodeno, no interior das criptas das mucosas onde deposita seus ovos já embrionados. Neste local, as larvas não infectantes saem de dentro dos ovos e são eliminadas com as fezes, contaminando assim o solo. Estas larvas rabditóides no solo sofrem uma muda e transformam-se em filarióides ou infectantes (REY,1991). O homem em contato com solo contaminado com as larvas infectantes, se infecta pela penetração ativa das larvas através da pele. A seguir as larvas, alcançam a

corrente sangüínea e linfática, ocorrendo em seguida um ciclo pulmonar. Nos alvéolos pulmonares atingem o estágio de fêmea adolescente. Nesta fase de desenvolvimento, a larva se dirige à traquéia e faringe com conseqüente deglutição. As formas que atingem o intestino se desenvolvem em vermes adultos.

Uma particularidade do seu ciclo é a auto-infecção interna que permite a este nematódeo sobreviver durante anos dentro do hospedeiro. Ele causa infecção crônica, na maior parte das vezes, que pode ser assintomática ou oligossintomática. Auto infecção externa é a decorrente da transformação de larvas rhabditóides em filarióides infectantes, na região anal e perianal contaminada com fezes. A penetração das larvas faz-se através da pele ou da mucosa retal, com invasão da rede venosa e ciclo pulmonar (REY, 1991).

Estudos realizados comprovam que 10% dos pacientes portadores do HIV apresentaram *Strongyloides stercorales* nas fezes (FERREIRA e BORGES, 1996). As larvas podem ser encontradas nas fezes, aspirado duodenal, escarro, lavado broncoalveolar e líquido. As técnicas adequadas para diagnóstico nas fezes são os métodos de Baerman ou Rugai. No Município de São Paulo, em área urbana, FERREIRA et al (1994) encontraram positividade de 0,2% para *Strongyloides stercorales*. No Estado de Minas Gerais, foi encontrado índice de prevalência de 0,3% para este parasito (ROCHA, 2000).

Giardia intestinales ou *Giardia lamblia* é um protozoário flagelado do tubo digestivo. A forma trofozoíta do parasito se encontra na mucosa do duodeno. As forma de cisto são eliminadas junto com as fezes para o meio externo. No meio ambiente, contaminam a água de uso diário ou mesmo alimentos irrigados com água contaminada com esgoto doméstico. O homem se infecta ingerindo água ou alimentos contaminados com estes cistos. A maioria das infecções é assintomática. A giardíase é encontrada no mundo todo, atingindo, principalmente crianças (10 meses a 12 anos). No Brasil, a taxa de prevalência é de 28,5% (GUIMARÃES e SOGAYAR, 1995). Os casos sintomáticos dependem de fatores não bem conhecidos e estão relacionados com: cepas e o número de cistos ingeridos, deficiência imunitária do paciente, e principalmente a uma baixa acidez do suco gástrico. O diagnóstico da giardíase é feito por meio de exame parasitológico de fezes como Lutz, Faust, Coprotest® e também por método imunoenzimático (Ensaio em microplaca Alexon ProSpect Giardia) (MACHADO et al., 2001).

Entamoeba histolytica e *Entamoeba dispar* são protozoários conhecidos comumente como amebas e parasitam o ser humano habitando sob forma de trofozoíta no intestino grosso, principalmente na válvula ileocecal e reto. Juntamente com as fezes são eliminadas formas císticas do parasito, contaminando água e alimentos. O homem se infecta ingerindo estes cistos, que acidentalmente estão presentes nos alimentos e na água.

Entamoeba histolytica e *Entamoeba dispar* são morfológicamente idênticas, não sendo possível diferenciá-las pelos métodos parasitológicos. A diferenciação das mesmas só é possível através da análise de isoenzimas, detectadas pelos métodos imunológicos e PCR. *Entamoeba histolytica* é patogênica e *Entamoeba dispar* não patogênica (DE CARLI, 2001).

O complexo *Entamoeba histolytica/ Entamoeba dispar* infecta 10% da população mundial, sendo 90% dos casos assintomáticos. Estes são reservatórios importantes da protozoose. Na região Sul do Brasil, a prevalência varia de 2,5 % a 11%. No Sudeste, varia de 10 a 20% e em Manaus é de 19% (FERREIRA e ÁVILA, 2001). O diagnóstico é feito por exame parasitológico de fezes utilizando colorações especiais, como hematoxilina férrica. É importante a realização da morfometria, para auxiliar na diferenciação com *Entamoeba hartmani* e outros comensais do tubo digestivo.

Blastocystis hominis é um protozoário frequentemente encontrado nas fezes de pessoas com e sem manifestações gastrointestinais, imunocompetentes e imunossuprimidos (UDKOW e MARKELL, 1993). A maior parte dos portadores de *Blastocystis hominis* não apresenta sintomas específicos e relata dor abdominal, flatulência, alteração do ritmo intestinal, náuseas e vômitos. Em pacientes imunodeprimidos a ocorrência destes sintomas, parece ser mais grave e têm sido descritos quadros de diarreia intensa com desidratação e desnutrição (STENZEL e BOREHAM, 1996). A prevalência para o parasito, no Estado de São Paulo, gira em torno de 2,94% (PIRES DE MATOS et al., 1998) e depende da população estudada e do método utilizado.

Os objetivos deste trabalho foram manter e padronizar cultura de larvas de *T.canis* para a obtenção do antígeno TES; padronizar a técnica ELISA no diagnóstico da toxocaríase, determinar soroprevalência humana para *Toxocara canis* pelo ELISA IgG em

área onde o nível socioeconômico da população envolvida é baixo, avaliar a prevalência sorológica por RIFI IgM para *Schistosoma mansoni*; já a prevalência parasitológica e intensidade de infecção para *Schistosoma mansoni* pelos métodos de Kato-Katz e Coprotest®; a prevalência e intensidade de infecção das parasitoses intestinais pelos métodos de Kato-Katz e Coprotest®.



2 - OBJETIVOS

GERAL

Aperfeiçoar a técnica de imunodiagnóstico de ELISA IgG, anti-Toxocara para sua aplicação em estudos soropidemiológicos no município de Pedro de Toledo, sendo esta uma região que apresenta nível socioeconômico baixo, falta de saneamento básico e endêmico para esquistossomose mansoni. Avaliar os índices de prevalência para esquistossomose mansoni e parasitos intestinais.

ESPECÍFICOS

- Otimizar a técnica de ELISA IgG com uso de antígeno TES de Toxocara sp em amostras de sangue coletadas em papel de filtro.
- Avaliar soroprevalência para a Toxocariase humana em habitantes de Pedro de Toledo.
- Determinar a intensidade de infecção e prevalência parasitológica para *S.mansoni* pelos métodos de Kato-Katz e Coprotest®.
- Determinar a soroprevalência para *S.mansoni* pela RIF IgM.
- Estimar as taxas de prevalências e intensidade de infecção dos parasitos intestinais em amostragem da população, por meio de exames de fezes (métodos de Kato-Katz e Coprotest®).



3 – MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - ÁREA ESTUDADA

O município de Pedro de Toledo está localizado na região do Vale do Rio Ribeira de Iguape, na Costa Sul do Estado de São Paulo. A região compreende uma área de 631 Km² com relevo bastante irregular e formado por vários vales que margeiam as montanhas da Serra do Mar. O clima na região é tropical e a umidade e temperatura são altas. Os Rios Itariri e do Peixe são as principais coleções líquidas que cortam a região. A população total do município é de 9.178 indivíduos (IBGE, 2000). Esta área é considerada área endêmica para esquistossomose mansoni. Cerca de 5.000 indivíduos vivem em áreas com risco de transmissão por *Schistosoma mansoni*.

3.2 - AMOSTRAGEM

Este estudo foi desenvolvido no período de janeiro à fevereiro de 2000 e abrangeu indivíduos residentes em áreas urbana e rural. As amostras foram selecionadas por critério aleatório, utilizando-se o programa Epi-Info, da Organização Mundial de Saúde (DEAN et al., 1995). Procedeu-se a uma amostragem representativa da população do município de Pedro de Toledo, contendo 300 indivíduos independente de idade, sexo e zona de moradia.

3.3 - VARIÁVEIS

As informações sobre as variáveis deste estudo foram obtidas por meio de visita domiciliar, ocasião em que o indivíduo ou responsável (eis) pela família foram informados sobre as finalidades do trabalho e, após consentimento verbal, assinaram a carta de consentimento livre e esclarecido de pesquisa após sua leitura. Tal esclarecimento esteve de acordo com as formas da Comissão de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (parecer número 212/2000 aprovado em 12/09/2000).

3.4 - AMOSTRAS DE SANGUE

Foram coletadas amostras de sangue humano em papel de filtro (Whatman nº 3®). A coleta do sangue era feita em cadernetas confeccionadas utilizando-se tiras de papel de filtro cortadas na largura de 1cm, separadas por tiras de papel celofane e protocoladas segundo ocorria a coleta. A coleta foi realizada na residência de cada indivíduo, utilizando-se luvas descartáveis, seguindo as regras de precauções universais e com descarte adequado do material contaminado. Após o consentimento do indivíduo, fez-se a desinfecção com álcool 70%. O sangue era colhido utilizando-se uma lanceta descartável para perfurar a polpa digital, desprezando a primeira gota com algodão e deslizando-se a fita sobre o dedo, visualizando-se a mancha uniforme formada pelo sangue absorvido no papel de filtro. As fitas eram secas em temperatura ambiente e posteriormente conservadas a -20°C.

Todas as amostras do sangue enviadas ao laboratório foram eluídas e posteriormente submetidas às técnicas sorológicas de ELISA IgG (Enzime-Linked Immunosorbent Assay) para *Toxocara canis* e RIFI IgM (Reação de Imunofluorescência Indireta) para *Schistosoma mansoni*.

3.5 - AMOSTRAS DE FEZES

Na ocasião da coleta de sangue foram entregues, aos indivíduos sorteados, um coletor universal para acondicionar uma amostra de fezes a fresco. No laboratório, uma parte das fezes (cerca de 1,4 gramas) era colocada em frasco coletor contendo 10 ml de formalina a 10%, tamponada (pH 7,2) para o processamento da técnica do Coprotest®, e outra parte das fezes foram submetidas à técnica de Kato-Katz (KATZ et al.,1972)

3.6 - SOROLOGIA PARA *TOXOCARA CANIS*

3.6.1 - Obtenção de vermes adultos de *Toxocara canis*

Cães jovens, submetidos a tratamento com anti-helmíntico, Mebendazole eliminaram exemplares de vermes adultos de *Toxocara canis* nas fezes. Os animais foram cedidos pelo Biotério do Centro Multi-Institucional de Bioterismo, da Unicamp. Feita a identificação dos vermes, eles eram separados por sexo. As fêmeas foram lavadas em água corrente e seguidamente em solução salina fisiológica.

3.6.2 - Obtenção dos ovos de *Toxocara canis*

As fêmeas foram retiradas da solução fisiológica e posteriormente colocadas em placas de Petri, com solução acidificada de HCl, pH 3,0. Com o auxílio de tesoura, bisturi e pinça faziam-se cortes no terço anterior do corpo dos vermes e retirava-se os úteros. Os úteros colocados em placas de Petri, eram rompidos para permitir a liberação dos ovos. Os ovos eram coletados em cálice de sedimentação. Os ovos foram lavados com água destilada por centrifugação (1000 rpm), durante dois minutos, por quatro vezes consecutivas, para remover a solução acidificada.

Após a última lavagem decantou-se o sobrenadante transferindo-se os ovos para um frasco vedado com tampão de algodão contendo formalina 2%. Os ovos eram mantidos em estufa de cultura a 28°C por aproximadamente 28 dias, sob agitação diária, para favorecer a oxigenação. Este processo permitiu o embrionamento dos ovos com a formação das larvas até o terceiro estágio (L3) (ARAUJO, 1972; MAUNG, 1978).

3.6.3 - Obtenção e cultura das larvas L3 de *Toxocara canis*

Semanalmente, uma gota do concentrado de ovos era transferida para uma lâmina para visualizar com auxílio de microscópio óptico o desenvolvimento das larvas dentro dos ovos.

Constatado o bom desenvolvimento das larvas, procedeu-se a três ciclos de lavagens dos ovos com solução salina fisiológica, por centrifugação a 1000 rpm por 2 minutos, para remover a formalina. Nestas lavagens, após cada centrifugação, o sobrenadante foi removido com auxílio de pipeta Pasteur, para evitar perda de ovos.

Os ovos foram ressuspensos em solução de hipoclorito de sódio a 5%, em temperatura ambiente, por aproximadamente 15 minutos, com a finalidade de remover as camadas protéica e quitinosa da membrana dos ovos. Durante este processo foi feito acompanhamento por microscopia óptica, para evitar que as larvas saíssem do interior dos ovos.

Uma vez retirada a capa protetora do ovo, acrescentou-se à solução contendo os ovos, 2 partes de solução salina fisiológica, com a intenção de interromper a ação do hipoclorito e possível morte das larvas. Reiniciou-se novo ciclo de três a quatro lavagens com solução salina fisiológica por centrifugação a 1000 rpm, por 3 minutos, até a completa retirada de qualquer resíduo de hipoclorito de sódio. Em todos os procedimentos das lavagens usou-se tubos plásticos cônicos para evitar a adesão dos ovos nas paredes dos tubos.

Assepticamente, os ovos foram ressuspensos em meio de cultura Eagle (meio mínimo essencial), contendo antibiótico gentamicina (80 µg/ml) e transferidos para um Erlenmeyer com pérolas de vidro e imã. Os ovos foram submetidos à agitação lenta em agitador-aquecedor magnético (FANEM, mod.258) durante 30 a 45 minutos, para mecanicamente ocasionar a ruptura da membrana dos ovos e a consequente liberação das larvas de terceiro estágio. O momento em que ocorria a liberação das larvas foi monitorado, visualizando periodicamente uma gota da suspensão de larvas ao microscópio. Ao final da liberação das larvas, transferiu-se esta suspensão para um aparelho de Baermann modificado, constituído de um funil de vidro em cuja extremidade foi adaptada um tubo de borracha e posterior a este uma ponta de pipeta Pasteur. A borracha era fechada com auxílio de uma pinça de Hoffman. No funil existia uma gaze dobrada duas vezes com fina camada de algodão entremeada e umedecida com Eagle e gentamicina (80 µg/ml). Este aparelho foi colocado em suporte adequado dentro do fluxo laminar, à temperatura ambiente por cerca de 4 horas, com a finalidade de estimular a migração das larvas até a extremidade do funil. Passadas 4 a 5 horas coletou-se cerca de 5ml da suspensão em tubo de ensaio com capacidade de 15ml.

Novamente acrescentou-se ao funil pequena quantidade Eagle e com gentamicina (80 µg/ml) que permaneceu por uma noite, com a finalidade de recuperar todas as larvas que estavam presas. No dia seguinte, coletou-se novamente algumas alíquotas desta suspensão. Os tubos foram identificados e mantidos em estufa de cultura a 37°C durante 7 dias. Neste período observou-se que à medida que as larvas eliminavam seus produtos de secreção e excreção no meio, este mudava sua cor original vermelha para amarelo. Passado este período, aspirou-se o sobrenadante assepticamente com auxílio de

pipeta graduada e pêra. Volumes de meio estéril, foram colocados nos tubos com larvas e estes retornaram à estufa (DE SAVIGNY, 1975), para continuar a incubação. Nestas condições, as larvas permaneciam metabolicamente ativas por vários meses.

Periodicamente, observou-se uma gota da suspensão das larvas ao microscópio para avaliar sua motilidade e verificar se houve contaminação por outros microrganismos. Confirmada a contaminação, era desprezada a suspensão.

Ao meio aspirado contendo os produtos de excreção e secreção das larvas, adicionou-se o inibidor de proteases PMSF (phenylmethylsulfonyl fluoride-Sigma) à 200mM, a uma concentração de 5µl por ml de antígeno coletado. Preservou-se em alíquotas de aproximadamente 15ml a -20°C, para posterior processamento.

3.6.4. Obtenção do antígeno de larvas de *Toxocara canis*

Ao verificar que havia um volume aproximado de 600 ml das diversas partidas dos sobrenadantes (antígeno de secreção e excreção) que estavam armazenados a -20°C, aquelas partidas foram descongeladas, misturadas e acrescentou-se novamente 5µl de solução de PMSF a 200 mM por ml de antígeno coletado. A concentração e dosagem do antígeno foi realizada no Laboratório de Toxocaríase, do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, da USP. A mistura foi colocada em aparelho concentrador de proteínas Amicon, utilizando a membrana YM 10 a uma pressão de 25 libras no compressor, sendo necessário colocar o concentrador sobre um agitador magnético para manter as proteínas em suspensão. A seguir, a concentração protéica foi determinada pelo método de Lowry (LOWRY et al.,1951), sendo esta concentração de 600 ug/ml. A este antígeno obtido acrescentou-se novamente 5µl de solução de PMSF a 200 mM por ml de antígeno. O antígeno era armazenado em pequenas alíquotas de 1000µl em tubos plásticos com capacidade de 1500µl, a -20°C, até o momento do uso.

Determinou-se a dose ótima de antígeno por meio da técnica de dosagem em bloco, utilizando-se soros positivos e negativos padrões para anticorpos anti-*Toxocara*, cedidos pelo Laboratório de Toxocaríase, do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, da USP.

3.6.5 - Obtenção de extrato antigênico de *Ascaris lumbricoides* para absorção dos eluatos e soros.

Foram preparados extratos de *Ascaris lumbricoides* que eram utilizados na absorção dos soros a serem examinados, com o objetivo de retirar anticorpos não específicos que poderiam apresentar reações cruzadas com antígenos de *Toxocara canis*.

Também foram gentilmente cedidos pelo Laboratório de Toxocariase, do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, USP, exemplares de vermes adultos *Ascaris lumbricoides* que foram lavados com água destilada e solução fisiológica.

Os vermes foram cortados em fragmentos e macerados em graal de porcelana com pistilo, colocando-se água destilada até que se tornasse uma mistura homogênea. A mistura foi transferida para um Becker e acrescida de solução NaOH 1,5N. A mistura permaneceu em repouso por 2 horas em temperatura ambiente. O pH foi acertado para pH 7, neutralizando com solução de HCl 1N. Filtrou-se a mistura em gaze dobrada duas vezes, o filtrado foi centrifugado a 15.000 rpm, por 20 minutos a 4°C. O sobrenadante obtido foi filtrado em papel de filtro comum e posteriormente em filtro Millipore de 0,22 µm, com a finalidade de reter impurezas. Acrescentou-se 1/3 do volume total de éter sulfúrico, sob agitação manual periodicamente para remover a camada etérea.

Determinou-se dosagem protéica pelo método de Lowry (LOWRY et al., 1956). Pequenas alíquotas contendo 1ml foram conservadas a -20°C até o momento do uso.

3.6.6 - Titulação do antígeno ES

Foram utilizadas placas de poliestireno rígido, com 96 cavidades com fundo plano (Corning Costar Corporation). Foi adicionada a cada cavidade 100µl do antígeno ES nas seguintes diluições em bloco 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600 e 1:3200. O antígeno ES era diluído em solução tampão carbonato 0,05 M, com pH ajustado para 9,6. Em seguida, a placa era incubada em câmara úmida a 37°C por 1 hora, para permitir a adequada fixação do antígeno nas paredes das cavidades. Posteriormente, a placa era incubada por uma noite a 4°C.

No dia seguinte, faziam-se três ciclos de lavagens das placas de 5 minutos cada, com solução salina tamponada com fosfatos (SSTF), pH 7,3 contendo Tween-20 a 0,05%, para retirar o antígeno que não se fixou na parede da cavidade. Os sítios inespecíficos nas cavidades onde o antígeno não se fixou era bloqueado com solução de albumina bovina a 1% (BSA) em SSTF-Tween. Cada cavidade da placa recebia 200µl da solução e a placa era incubada em câmara úmida em estufa a 37°C por 1 hora. Este procedimento correspondia à sensibilização das cavidades da placa. Em seguida, ocorreram três ciclos de lavagens com SSTF-Tween. Às cavidades foram adicionados soros padrões reagentes e não reagentes para toxocaríase. Os soros foram previamente adsorvidos com antígeno de *Ascaris lumbricoides* por 30 minutos em banho-maria a 37°C. Posteriormente, os soros foram adicionados nas cavidades da placa. A placa foi incubada novamente a 37°C por 40 minutos para que ocorresse a ligação antígeno-anticorpo. Passado o tempo necessário faziam-se três ciclos de lavagens com SSTF-Tween. Foi adicionado 100µl em cada cavidade o conjugado anti-IgG humana marcado com peroxidase (Sigma) com título conhecido de 1:5000 e incubou-se por 40 minutos a 37°C. Após novo ciclo de lavagens, adicionou-se em cada cavidade 100µl de solução cromógena constituída de ortofenilenodiamina peroxidase substrato, uréia e peróxido de hidrogênio (Sigma Fast). Procedeu-se à nova incubação por 20 minutos, em câmara úmida em estufa a 37°C, ao abrigo da luz. A reação enzimática foi paralisada pela adição de 50µl de solução de H₂SO₄ 2N por cavidade. A leitura da placa foi efetuada em leitor de ELISA MULTISKAN MCC/340 no comprimento de onda de 492nm.

Para interpretação dos resultados observou-se os títulos conhecidos dos soros padrões reagentes e não reagentes para toxocaríase. De acordo com os títulos concluiu-se que o antígeno ES titulado deve ser utilizado na diluição de 1:1600 que corresponde a 0,05 mg de proteína por 100µl em cada cavidade da microplaca.

3.6.7 - Titulação do conjugado imunoenzimático

Placas de poliestireno foram sensibilizadas com antígeno ES na razão de 1:1600 e a seguir realizou-se a titulação em bloco do conjugado anti-IgG humana marcada com peroxidase (Sigma). Os soros padrões utilizados na reação foram os mesmos para titulação do antígeno ES.

Inicialmente, ao conjugado foi adicionado glicerina anidra p.a. pH 7,0 volume a volume, com a intenção de conservar o conjugado. Pequena parte do conjugado foi diluído com SSTF Tween nas seguintes razões: 1:2000, 1:4000, 1:8000. As reações foram realizadas em duplicata. Considerou-se como título ótimo a máxima diluição do conjugado 1:5000, esta capaz de fornecer título máximo do soro reagente e que não apresentava atividade com os soros não reagentes para toxocaríase.

3.6.8 - Preparação do soro limiar de reatividade

Após a sensibilização da placa com o ES foi feito um pool de soros reagentes e um outro pool com soros não reagentes para toxocaríase. Misturou-se 1 μ l do soro reagente com 49 μ l do não reagente. Desta mistura produziu-se as seguintes diluições: 1:80, 1:160, 1:320, 1:640 e 1:1380. A razão 1:320 correspondeu ao “cut off” do eluato que é a região de corte do teste sorológico, com densidade óptica igual a 0,5. Para a comparação dos resultados também foram utilizados os mesmos soros já mencionados na titulação do antígeno ES.

3.6.9 - Teste Imunoenzimático de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (baseado na técnica descrita por DE SAVIGNY et al. 1979 e modificada por BACH-RIZZATTI 1984)

Eluatos - a partir das tiras de papel de filtro Whatman® n°3, contendo sangue coletado da polpa digital, foram cortados pedaços com área de 1,0 cm². Estes foram mergulhados e macerados em 330 μ l de SSTF, de forma a obter-se uma diluição equivalente a 1:20 do soro (FERREIRA e CARVALHO, 1982; SILVA et al., 1998). Antes de se extrair o eluato (sangue eluído) esta preparação foi deixada a 4°C por uma noite.

Fez-se a adsorção com extrato antigênico de *Ascaris lumbricoides* na razão de 1:200 correspondendo a 6,2mg/ml de proteína, em banho-maria a 37°C por 30 minutos. Após adsorção os eluatos foram diluídos em 1:160 e 1:320. Para os ensaios eram usados soros e eluatos reagentes e não reagentes com títulos conhecidos, soro limiar de reatividade e controle branco.

A reação foi realizada em placas de poliestireno iguais as já descritas. Cada uma das cavidades foi sensibilizada com 100µl de solução antigênica, a uma proporção de 1:1600. A seguir as placas eram incubadas por 40 minutos a 37°C. A seguir era feito o bloqueio dos sítios inespecíficos com solução de BSA 1%, ocorria novo ciclo de lavagens. Às placas foram adicionados 100 µl dos eluatos e soros previamente adsorvidos com a solução antigênica de *Ascaris lumbricoides*. Efetuou-se novo ciclo de lavagens e novamente a placa foi incubada com 100µl do conjugado anti-IgG humana marcado com peroxidase, diluído a razão de 1:5000 em SSTF-Tween 0,05% por 40 minutos a 37°C. Após novo ciclo de lavagens adicionou-se 100µl de solução cromógena constituída de ortofenilenodiamino (OPD) peroxidase substrato, uréia e peróxido de hidrogênio e incubou-se por 20 minutos a 37°C ao abrigo da luz, a reação enzimática era interrompida pela adição de 50µl solução de H₂SO₄ 2N por cavidade. A leitura da placa foi efetuada em leitor de ELISA SPETRA no comprimento de onda de 492 nm.

Para a interpretação dos resultados consideram-se soros não reagentes aqueles que apresentam reações com leitura inferior a 0,5 de absorbância. Este valor corresponde a duas vezes a média das absorbâncias obtidas com soros de indivíduos sem afecção patológica aparente (normais) acrescidos de 3 desvios-padrão.

A sorologia pelo método de ELISA com antígeno ES evidencia principalmente anticorpos da classe IgG e tem se mostrado de fácil reprodução, sendo amplamente aceito (SPEISER e GOTTESTEIN, 1984; GLICKAMN et al., 1978).

3.7 - SOROLOGIA PARA *SCHISTOSOMA MANSONI*

Reação de Imunofluorescência Indireta para pesquisa de anticorpos IgM específico para *Schistosoma mansoni* (RIFI)

Os eluatos obtidos a partir das amostras de sangue em papel de filtro também foram submetidos ao método de imunofluorescência indireta contra anticorpos IgM específico para *Schistosoma mansoni*.

3.7.1 - Preparação das lâminas contendo antígeno de *Schistosoma mansoni*

3.7.1 - 1 Obtenção de vermes adultos

O ciclo de vida de *Schistosoma mansoni* foi mantido no Laboratório de Parasitologia Clínica no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Unicamp. Hamsters (*Mesocricetus auratus*) foram infectados por via subcutânea com aproximadamente 200 a 300 cercárias de *S.mansoni* (cepa BH). Passadas 6 a 7 semanas após a infecção, os animais foram submetidos à técnica de perfusão (SMITHERS e TERRY, 1965) para a obtenção de vermes adultos. Após a lavagem, com salina fisiológica até remoção completa do sangue, os vermes machos eram separados e agrupados a cada 50 vermes.

3.7.1-2 - Cortes parafinados de vermes adultos de *Schistosoma mansoni*

Os grupos contendo 50 exemplares de vermes machos adultos de *Schistosoma mansoni* foram embrulhados, em um pedaço papel manteiga, medindo aproximadamente 4cm² para que eles se mantivessem unidos, e depois estes eram amarrados com cordonê. Cada embrulho contendo as porções de vermes eram mergulhados em fixador de Rossman's por 2 horas à temperatura ambiente. Após esse tempo os vermes foram incubados em metilbenzoato por 4 a 6 horas. O metilbenzoato era trocado três a quatro vezes. Para a desidratação usou-se etanol absoluto e xilol, segundo metodologia histológica clássica e incluídos na parafina (Merk, Germany), de acordo com metodologia descrita por Nash.(NASH, 1978).

Para a preparação das lâminas foram feitos cortes seriados de 5µm dos vermes em micrótomo. Cerca de 10 cortes foram espontaneamente aderidos em cada lâmina de vidro. As lâminas eram secas em temperatura ambiente. Após secagem as lâminas permaneceram em estufa a 60°C por uma noite. Posteriormente os vermes fixados nas lâminas foram desparafinados em xilol durante uma hora a 37°C e depois novamente eram colocadas em xilol por 15 minutos à temperatura ambiente. Para a rehidratação foram feitos banhos em etanol em diluições decrescentes de 100, 90, 80, 70, 50,30% por 10 minutos

cada e por último um banho com solução SSTF. Cada corte aderido às lâminas, foi delimitado com uso de esmalte para unha, para que a amostra posteriormente depositada sobre o corte não escorresse. As lâminas foram utilizadas na técnica de RIFI para pesquisa de anticorpos IgM contra estruturas relacionadas ao tubo digestivo do verme. (SILVA et al, 1992).

3.7.1-3 - Reação de imunofluorescência indireta

Aproximadamente 20µl de eluatos na diluição equivalente a 1:20, soro padrão positivo, negativo e controle branco foram depositados em duplicidade, sobre as áreas delimitadas nas lâminas de vidro contendo os cortes parafinados dos vermes. As lâminas eram incubadas em câmara úmida a 37°C durante 50 minutos. Após incubação, com auxílio de uma pisseta contendo solução SSTF, esguichava-se sobre os retículos e posteriormente as lâminas eram postas em cuba para dois ciclos de lavagem com SSTF por 10 minutos cada. Em seguida as lâminas eram secas à temperatura ambiente. Posteriormente era depositado aproximadamente 20µl do conjugado fluorescente anti-IgM (Bio-lab, RJ-Brasil), diluído a 1:320 em SSTF contendo 0,25mg% de azul de Evans. As lâminas eram novamente incubadas por 50 minutos e procedeu-se novo ciclo de lavagens. As lâminas foram secas e montadas com duas gotas de glicerina tamponada pH 9,6 e lamínulas. A leitura foi realizada em microscópio de fluorescência (Olympus BX-FLA) dotado de epifluorescência com lâmpada de mercúrio 100W, filtro de excitação BP 450-480, filtro barreira BA 515 e usando o aumento de 100X. Para a pesquisa de anticorpos IgM nos soros considerados positivos as reações que apresentavam +, ++, +++ de fluorescência ao nível do tubo digestivo do verme. (KANAMURA et al.,1991). Em cada ensaio foram utilizados soro padrão positivo em diluição seriada de 1:20, 1:40 e 1:80 , padrão negativo numa diluição correspondente a 1:20 do soro e controle branco.

3.8 - EXAME DE FEZES PELO MÉTODO DE KATO-KATZ

As fezes após terem sido coletadas a fresco, eram processadas segundo método de Kato-Katz. (KATZ et al., 1972). Prepararam-se três lâminas de cada paciente. A leitura era realizada em microscópio óptico comum em aumento de 100X e era examinada toda a área contendo fezes. Determinou-se a média aritmética da contagem dos ovos encontrados

nas três lâminas e esta foi multiplicada por 24, para obter-se o número de ovos por grama de fezes (opg). A determinação da intensidade de infecção de ovos por grama de fezes foi avaliada segundo o Quadro 1.

Quadro 1 - Classificação da intensidade de infecção, segundo número de ovos por grama de fezes (WHO, 1993; Rey, 1991 e Pessoa, 1982)

Parasitas	Intensidade de infecção		
	Leve	Moderada	Intensa
<i>Ascaris lumbricoides</i>	<5.000	5.001-10.000	>10.000
<i>Trichuris trichiura</i>	<5.000	5.001-10.000	>10.000
Ancilostomatídeos	<2.600	2.601-12.600	>12.600
<i>Schistosoma mansoni</i>	<100	101-400	>400

3.9 - EXAME DE FEZES PELO MÉTODO DE COPROTEST®(CERQUEIRA, 1988)

As fezes também foram submetidas ao método de Coprotest® (CERQUEIRA, 1988). O procedimento realizado foi de acordo com as instruções do fabricante (NL-Comércio Exterior Ltda – SP- Brasil), com uma pequena modificação: a agitação dos tubos com acetato de etila foi feita manual e individualmente ao contrário da instrução que preconiza agitação em estante. Após a coleta em campo parte das fezes humanas eram colocadas no coletor próprio do kit (com capacidade de 1,4 gramas) com 10 ml de formalina a 10% tamponada (pH 7,2) e enviadas ao Laboratório de Parasitologia Clínica do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, para serem processadas.

3.10 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos pelo exame parasitológico de fezes pelos métodos imunodiagnósticos foram inseridos no programa EPI-INFO versão 6.04 da Organização Mundial da Saúde. (DEAN et al., 1995). Montou-se um arquivo I, que serviu para cadastramento dos indivíduos e respectivos resultados laboratoriais para análise dos dados. A partir deste arquivo foi calculado intervalo de confiança entre os dados.



4 - RESULTADOS

Padronização da técnica de ELISA

A cultura de larvas de *Toxocara canis* para a obtenção de antígeno foi mantida por 18 meses em boas condições. Durante este tempo foi possível coletar grande quantidade de proteínas larvais. A seguir, foi determinada a concentração protéica pelo método de Lowry e utilizou-se este antígeno na diluição de 1:1600. A padronização da técnica de ELISA foi realizada com sucesso e pode ser aplicada neste atual estudo em Pedro de Toledo.

Variáveis

Foram selecionadas de forma aleatória 45 residências com 230 pessoas, que consentiram em participar da pesquisa. Foi possível coletar 195 amostras de sangue para sorologia para *Toxocara canis* e *Schistosoma mansoni*.

Os indivíduos de sexo feminino constituíram-se em 51,3% da amostragem e os de sexo masculino 48,7%. (Tabela 1). Quanto à zona de moradia 59,8% eram da zona rural e 40,2% da zona urbana (Tabela 1).

Apenas 53,1% das residências possuíam fossas, todas em estado precário de conservação, com revestimento superior de madeira ou coberta com terra e plásticos (Tabela 1). A rede coletora de esgoto atinge apenas 31,7% das casas da zona urbana. A ausência de instalação receptora de dejetos humanos foi constatada em 15,2% das moradias (Tabela 1). A área rural não dispõe de rede de água e esgoto.

Foi observado que apenas 26,8% dos indivíduos tinham o hábito de ingerir água filtrada e 73,2% ingeriam água não filtrada (Tabela 1).

Toxocaríase

Foram realizadas 183 sorologias, nas quais 72 indivíduos (39,3%) se mostraram reagentes para anticorpos anti *Toxocara canis* (Tabela 2).

A Tab. 2 mostra a soroprevalência pela técnica de ELISA IgG para toxocaríase humana por idade e zona de moradia. Entre 101 indivíduos com até 15 anos de idade, 26,8% foram reagentes (Tabela 2). Em contraste, para as outras 82 amostras pertencentes a indivíduos com idade superior a 16 anos, foram reagentes apenas 12,6%, havendo diferença estatística entre os grupos etários.

As prevalências registradas dentre os 72 reagentes foram de 50,7% para habitantes da área urbana e 31,5% para área rural (Tabela 2).

Em relação ao sexo dos indivíduos, a prevalência da toxocaríase em 178 indivíduos foi de 43,2% para homens e 38,1% para mulheres (Tabela 3). Estes resultados não mostram diferença significativa.

Schistosoma mansoni

Foram observadas 14 amostras que eram reagentes para anticorpos anti-*Toxocara canis* e para anticorpos anti-*Schistosoma mansoni* situação esta que sugeria a ocorrência de reações cruzadas entre os parasitos. Estas amostras foram novamente analisadas e previamente adsorvidas antagonicamente com os antígenos dos mesmos. Não foi observada mudança nos resultados das reações sorológicas.

Foi estudada a prevalência para *Schistosoma mansoni* pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI-IgM) contra anticorpos anti-*Schistosoma mansoni*. Foram analisadas idade e zona de moradia de 181 indivíduos submetidos à sorologia, sendo (19,3%) reagentes (Tabela 4). Os índices de prevalência foram semelhantes nas zonas rural e urbana (Tabela 4). Salienta-se que estas prevalências são contrárias às observadas para toxocaríase, onde a prevalência era maior na zona urbana (50,7%) (Tabela 2).

A esquistossomose mansoni acomete principalmente os indivíduos com idade acima de 16 anos (Tabela 5). Não houve diferença significativa dos índices de prevalência entre sexos e grupos etários.

Os índices de prevalência pelo exame de fezes foi de apenas 2,0% pelo método de Kato-Katz e de 0,9% pelo Coprotest® (Tabela 6). Os portadores de *Schistosoma mansoni* apresentaram infecções leves, ou seja, com menos de 100 ovos por grama de fezes (Tabela 07) (Quadro 1).

Helmintos intestinais

Ao todo foram examinadas 230 e 202 amostras de fezes respectivamente pelos métodos de Coprotest® e Kato-Katz (Tabela 6). Devido às amostras de fezes serem insuficientes para executar ambas as técnicas ou por serem fezes líquidas, inadequadas para realização do método de Kato-Katz, foram feitos 202 exames por esta técnica. Encontrou-se uma positividade de 43,6% e 44,3% para helmintos intestinais, respectivamente, para as técnicas de Coprotest® e Kato-Katz (Tabela 6)

A prevalência para helmintos por Coprotest® foi maior na zona rural 58,5% (Tabela 8).

Dentre os helmintos intestinais a maior frequência observada foi para *Ascaris lumbricoides* com 32,2% no Coprotest® e 37,6% no Kato-Katz (Tabela 6). Este geohelminto ocorre muito mais nos indivíduos residentes na zona rural (56,5%) do que naqueles da zona urbana (15,2%) (Tabela 9).

Pelo método de Coprotest®, os helmintos intestinais foram igualmente detectados tanto em homens quanto em mulheres com taxas de prevalências de 41,2% e 37,8%, respectivamente (Tabela 10). Destaca-se diferença significativa nas taxas de infecção por helmintos intestinais entre jovens (26,8%) e adultos (12,2%) (Tabela 10).

Trichuris trichiura foi igualmente prevalente nas áreas rural e urbana pelo método parasitológico de Kato-Katz. Este parasito infecta tanto homens quanto mulheres, sendo mais prevalente nos jovens (Tabela 11).

A prevalência para *Strongyloides stercorales* foi de 13,0% (Tabela 6), sendo mais prevalente (11,3%) nos indivíduos da área rural (Tabela 12). Ao contrário dos outros parasitos, *Strongyloides stercorales* é mais freqüente (8,4%) nos indivíduos com idade superior a 16 anos (Tabela 12).

Os índices de prevalência para ancilostomatídeos foi de 7,4% em 202 amostras por Kato-Katz e de 10,4% em 230 amostras por Coprotest® (Tabela 6).

Foram determinadas médias geométricas da intensidade de infecção por helmintos, em 202 amostras de fezes, pelo método de Kato-Katz (Tabela 7). A intensidade de infecção para *Ascaris lumbricoides* foi intensa (mais de 10.000 ovos por grama de fezes) (Quadro 1) em 61,9% dos examinados (Tabela 7). Entre os infectados por *Trichuris trichiura*, 33 indivíduos (94,3%) estavam levemente parasitados. *Schistosoma mansoni* e ancilostomatídeos só apresentaram casos com intensidade de infecção leve (Tabela 7).

Protozoários intestinais

Segundo exames de fezes pelo método de Coprotest® foi observado que 26,1% dos indivíduos eram portadores de alguma espécie de protozoário. Porém, se forem consideradas somente as espécies de protozoários intestinais capazes de causar morbidade (*Giardia intestinales*, *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* e *Blastocystis hominis*) a prevalência cai para 14% (Tabela 13). Foram registrados índices de prevalência de 4,8% para *Blastocystis hominis* e 1,3% para *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* (Tabela 13).

Entre os protozoários intestinais, *Entamoeba coli* foi a mais freqüente, apresentando uma prevalência de 12,6% pelo método de Coprotest® (Tabela 13). Dentre os positivos para protozoários intestinais, não houve diferença significativa quanto à área de habitação (Tabela 14). Observa-se que indivíduos com idade abaixo de 15 anos tanto na área rural como na urbana revelaram altas prevalências, 17,9% e 20,5%, respectivamente (Tabela 14).

Não houve diferença significativa entre os índices de prevalência para protozoários intestinais quanto ao sexo dos indivíduos (Tabela 15).

Giardia intestinales estava mais freqüentemente parasitando crianças e adolescentes (<15 anos), não havendo diferença significativa entre as zonas de moradia (Tabela 16).

Tabela 1 - Distribuição das freqüências das variáveis categóricas em porcentagem dos 224 habitantes de Pedro de Toledo-SP,2000

Variável	Freqüência		Intervalo de confiança 95%
	número	%	
SEXO	Feminino	115 51,3	44,6-58,0
	Masculino	109 48,7	41,9-55,4
ZONA	Rural	134 59,8	53,1-66,2
	Urbana	90 40,2	33,7-46,9
ESGOTO	Fossa	119 53,1	46,4-59,8
	Rede	71 31,7	25,7-38,3
	Ausência	34 15,2	10,9-20,7
ÁGUA	Filtrada	60 26,8	21,2-33,2
	Não filtrada	164 73,2	66,8-78,8

Tabela 2 - Índices de prevalência para *Toxocara canis* por ELISA-IgG, segundo zona de moradia e idade, em 183 habitantes de Pedro de Toledo, 2000

Idade	ZONA					
	Rural		Urbana		Total	
	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%
<15	63	25	23,1 (15,8-32,4)*	38	24	32,0 (22,0-43,9)*
≥15	45	9	8,3 (4,1-15,6)*	37	14	18,7 (10,9-29,7)*
Total	108	34	31,5 (23,1-41,2)*	75	38	50,7 (39,0-62,3)*
				101	49	26,8 (20,6-33,9)*
				82	23	12,6 (8,3-18,5)*
				183	72	39,3% (32,3-46,8)

*= Intervalo de confiança 95%

Tabela 3 - Índices de prevalência para *Toxocara canis* por ELISA-IgG, segundo sexo e idade, em 178 habitantes de Toledo-SP, 2000

Idade	SEXO									
	Masculino				Feminino				Total	
	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	
<15	52	25	30,9 (21,3-42,2)*	46	24	24,7 (16,8-34,7)*	98	49	27,5 (21,2-34,8)*	
≥15	29	10	12,3 (6,4-22,0)*	51	13	13,4 (7,6-22,2)*	80	23	12,9 (8,5-19,0)*	
Total	81	35	43,2 (32,4-54,7)*	97	37	38,1 (28,6-48,6)*	178	72	40,4% (33,2-48,1)	

*= Intervalo de confiança 95%

Tabela 4- Índices de prevalência para *Schistosoma mansoni* por RIFI-IgM, segundo zona de moradia e idade, em 181 habitantes de Pedro de Toledo-SP, 2000

Idade	ZONA								
	Rural		Urbana		Total				
	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%
<15	61	6	5,6 (2,3-12,4)*	38	6	6,7 (2,5-15,5)	99	12	6,6 (3,6-11,6)*
≥15	45	15	14,2 (8,4-22,6)*	37	8	10,7 (5,0-20,5)*	82	23	12,7 (8,4-18,6)*
Total	106	21	19,8 (12,9-28,9)*	75	14	18,7 (10,9-29,7)*	181	35	19,3 (14,0-26,0)

*= Intervalo de confiança 95%

Tabela 5 - Índices de prevalência para *Schistosoma mansoni* por RIFI-IgM, segundo sexo e idade, em 181 habitantes de Pedro de Toledo-SP, 2000

Idade	SEXO						Total		
	Masculino			Feminino					
	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%
<15	52	6	7,3 (3,0-15,8)*	47	6	6,1 (2,5-13,2)*	99	12	6,6 (3,6-11,6)*
≥15	30	9	9,8 (4,6-18,8)*	52	14	14,1 (8,2-22,9)*	82	23	12,7 (8,4-18,6)*
Total	82	15	18,3 (10,9-28,7)*	99	20	20,2 (13,1-29,7)*	181	35	19,3 (14,0-26,0)*

*= Intervalo de confiança 95%

Tabela 6 - Índices de prevalência para helmintos intestinais por Coprotest® (n=230) e Kato-Katz (n=202) em habitantes de Toledo-SP, 2000

Helmintos	Coprotest®			Kato-Katz		
	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%
<i>Ascaris lumbricoides</i>	230	74	32,2 (26,2-38,7)*	202	76	37,6 (31,0-44,7)*
<i>Strongyloides stercoralis</i>	230	30	13,0	-	-	-
<i>Trichuris trichiura</i>	230	18	7,8 (4,8-12,3)*	202	35	17,3 (12,5-23,4)*
Ancilostomatídeos	230	24	10,4 (6,9-15,3)*	202	15	7,4 (4,4-12,2)*
<i>Enterobius vermiculares</i>	230	4	1,7%	-	-	-
<i>Schistosoma mansoni</i>	230	2	0,9 (0,2-3,4)*	202	4	2,0 (1,0-5,3)*
<i>Hymenolepis nana</i>	230	2	0,9 (0,2-3,4)*	202	0	0
Total	230	154	67,0 (60,4-72,9)*	202	130	64,4 (57,3-70,9)*

*=Intervalo de confiança 95%

Tabela 7 - Intensidade de infecção quanto ao número de ovos por grama de fezes detectado pelo método de Kato-Katz, em habitantes de Pedro de Toledo-SP, 2000

Parasitas	Intensidade de infecção				Ovos por grama de fezes	
	leve	moderada	severa	total de parasitados	Média geométrica	
<i>Ascaris lumbricoides</i>	24 31,6%	05 6,6%	47 61,9%	76	4.212	
<i>Trichuris trichiura</i>	33 94,3%	01 2,3%	01 2,3%	35	97	
<i>Schistosoma mansoni</i>	04 100%	0 0	0 0	04	24	
Ancilostomatídeos	15 100%	0	0	15	35	

Tabela 8 - Índices de prevalência para helmintos intestinais por Coprotest®, segundo zona de moradia e idade, em 179 habitantes de Pedro de Toledo-SP, 2000

Idade	ZONA											
	Urbana					Rural					Total	
	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%
<15	36	06	8,2 (3,4-17,7)*	62	41	38,7 (29,5-48,7)*	98	47	26,2 (20,1-33,4)*			
≥15	37	09	12,3 (6,1-22,6)*	44	21	19,8 (12,9-28,9)*	81	30	16,8 (11,8-23,2)*			
Total	73	15	20,5 (12,3-31,9)*	106	62	58,5 (48,5-67,9)*	179	77	43,0 (35,7-50,6)*			

* =Intervalo de confiança 95%

Tabela 9 - Índices de prevalência para *Ascaris lumbricoides* pelo método de Kato-Katz segundo zona de moradia e idade, em 158 habitantes de Pedro de Toledo-SP, 2000

Idade	ZONA											
	Urbana					Rural					Total	
	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%
<15	35	06	9,1 (3,7-19,4)*	56	36	39,1 (29,3-49,9)*	91	42	26,6 (20,0-34,3)*			
≥15	31	04	6,1 (2,0-15,6)*	36	16	17,4 (10,6-27,0)*	67	20	12,7 (8,1-19,1)*			
Total	66	10	15,2 (7,9-26,6)*	92	52	56,5 (45,8-66,7)*	158	62	39,2 (31,7-47,3)*			

* =Intervalo de confiança 95%

Tabela 10 - Índices de prevalência para helmintos intestinais por Coprotest®, segundo sexo e idade, em 183 habitantes de Pedro de Toledo-SP, 2000

Idade	SEXO						Total		
	Masculino			Feminino					
	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%
<15	55	25	29,4 (20,3-40,4)*	46	24	24,5 (16,6-34,4)*	101	49	26,8 (20,6-33,9)*
≥15	30	10	11,8 (6,1-21,0)*	52	13	13,3 (7,5-22,0)*	82	23	12,6 (8,3-18,5)*
Total	85	35	41,2 (30,8-52,4)*	98	37	37,8 (28,3-48,2)*	183	72	39,3 (32,3-46,8)*

*= Intervalo de confiança 95%

Tabela 11 - Índices de prevalência para *Trichuris trichiura* pelo método de Kato-Katz, segundo zona de moradia e idade, em 158 habitantes de Pedro de Toledo-SP, 2000

Idade	ZONA						Total		
	Urbana			Rural			examinados	positivos	%
	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%			
<15	35	07	10,1 (4,7-21,2)*	56	12	13,0 (7,2-22,1)*	91	19	12,0 (7,6-18,3)*
≥15	31	05	16,1 (6,1-34,5)*	36	06	6,5 (2,7-14,2)*	67	11	7,0 (3,7-12,4)*
Total	66	12	18,2 (10,1-30,0)*	92	18	19,6 (12,3-29,4)*	158	30	19,0 (13,3-26,2)*

* =Intervalo de confiança 95%

Tabela 12 - Índices de prevalência para *Strongyloides stercoralis* por Coprotest®, segundo zona de moradia e idade, em 179 habitantes de Pedro de Toledo-SP, 2000

Idade	Zona Urbana				Zona Rural				Total	
	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	
<15	36	01	1,4 (0,1-8,4)*	62	03	2,8 (0,1-8,7)*	98	04	2,2 (0,7-6,0)*	
≥15	37	06	8,2 (3,4-17,6)*	44	09	8,5 (4,2-15,9)*	81	15	8,4 (4,9-13,7)*	
Total	73	07	9,6 (4,3-19,3)*	106	12	11,3 (6,2-19,3)*	179	19	10,6 (6,7-16,3)*	

* =Intervalo de confiança 95%

Tabela 13 - Índices de prevalência para protozoários intestinais, em 230 amostras de fezes, pelo método de Coprotest®, em habitantes de Pedro de Toledo-SP, 2000

Parasitas	infectados	
	número	%
<i>Entamoeba coli</i>	29	12,6
<i>Endolimax nana</i>	20	8,7
<i>Giardia intestinalis</i>	18	7,9
<i>Blastocystis hominis</i>	11	4,8
<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>	03	1,3
<i>Iodameba butschlii</i>	02	0,9

Tabela 14 - Índices de prevalência para protozoários intestinais pelo método de Coprotest®, segundo zona de moradia e idade, em 179 habitantes de Pedro de Toledo-SP, 2000

Idade	ZONA									
	Rural				Urbana				Total	
	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	
<15	62	19	17,9 (11,4-26,8)*	36	15	20,5 (12,3-31,9)*	98	34	19,0 (13,7-25,7)*	
≥15	44	10	9,4 (4,9-17,1)*	37	07	9,6 (4,3-19,3)*	81	17	9,5 (5,8-15,0)*	
Total	106	29	27,4 (19,4-37,0)*	73	22	30,1 (20,2-42,1)*	179	51	28,5 (22,1-35,8)*	

* =Intervalo de confiança 95%

Tabela 15 - Índices de prevalência para protozoários intestinais por Coprotest®, segundo sexo e idade, em 179 habitantes de Pedro de Toledo-SP, 2000

Idade	SEXO								
	Masculino				Feminino				Total
	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	examinados	positivos	
<15	53	16	19,3 (11,7-29,7)*	45	18	18,8 (11,8-28,3)*	98	34	19,0 (13,7-25,7)*
≥15	30	8	9,6 (4,6-18,6)*	51	09	9,4 (4,7-17,5)*	81	17	9,5 (5,8-15,0)*
Total	83	24	28,9 (19,7-40,1)*	96	27	28,1 (19,7-38,4)*	179	51	28,5 (22,1-35,8)*

* =Intervalo de confiança 95%

Tabela 16 - Índices de prevalência para *Giardia intestinalis* pelo método de Coprotest®, segundo zona de moradia e idade, em 179 habitantes Pedro de Toledo-SP, 2000

Idade	ZONA											
	Urbana					Rural					Total	
	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%	examinados	positivos	%
<15	36	08	11,0	62	06	5,7	98	13	7,3			
			(5,2-21,0)*			(2,3-12,4)*			(4,1-12,4)*			
≥15	37	01	1,4	44	01	0,9	81	02	1,1			
			(0,1-8,4)*			(0,1-5,9)*			(0,2-4,4)*			
Total	73	09	12,3	106	07	6,6	179	16	8,9			
			(6,1-22,6)*			(2,9-13,6)*			(5,4-14,4)			

*=Intervalo de confiança 95%



5 - DISCUSSÃO

A síndrome da larva migrans visceral (LMV) é uma patologia ainda pouco diagnosticada, principalmente nos locais que apresentam condições propícias para seu desenvolvimento. Com relação à prevalência de infecção por *Toxocara sp*, há poucos dados na literatura nacional, principalmente na faixa etária escolar. Muitos trabalhos publicados referem-se à população supostamente doente ou a grupos etários muito heterogêneos, incluindo crianças e adultos.

A soroprevalência para países desenvolvidos geralmente é baixa, variando de 1 a 7% (PORTUS et al., 1989; BUIJS et al., 1994; JIMENES et al., 1997), já nos países em desenvolvimento encontram-se taxas de até 86% (THOMPSON et al., 1986). CHIEFFI (1984) estudando 2.025 soros de indivíduos de cinco municípios, do Estado de São Paulo, de várias faixas etárias, encontrou 3,6% de positividade. No município de Santos, São Paulo, CASEIRO (1996) avaliou 2.056 escolares com idade entre 4 e 15 anos e registrou uma positividade de 24,7%.

No presente trabalho foi avaliada prevalência sorológica da toxocaríase em habitantes do município de Pedro de Toledo, São Paulo. Foram registrados índices de prevalência de 38,5% de positividade da parasitose.

Foi utilizado o teste sorológico imunoenzimático de ELISA para anticorpos anti-IgG contra *Toxocara canis*. Sabe-se que os anticorpos podem persistir por muitos anos após o início da infecção por *Toxocara sp* (GLICKMAN e SCHANTZ, 1981).

Quanto à zona de moradia, foram encontrados índices de prevalência de 50,7% e 31,5% para área urbana e rural, respectivamente (Tabela 2). Os indivíduos que vivem na área urbana se infectariam mais com *Toxocara sp* porque há áreas de comum acesso aos animais e ao homem, além do confinamento de espaço físico entre eles. Esta situação favorece o contato mais íntimo entre ambos. Na zona rural apesar do acesso do homem e de animais ao mesmo espaço físico, este é maior, diminuindo o contato do homem com os ovos larvados. Acredita-se que a existência de grande quantidade de cães nas áreas urbana e rural favoreceria o desenvolvimento da infecção entre os habitantes.

Houve diferença significativa entre os coeficientes de prevalência nas faixas etárias. Nota-se que a infecção é mais freqüente em jovens com até 15 anos de idade (26,8%) e de 12,6% em indivíduos com idade superior a 16 anos (Tabela 2). ANARUMA

FILHO et al. (2002) em estudo realizado na zona urbana do município de Campinas, relataram soroprevalência de 23,9% para toxocaríase, sendo 27,7% indivíduos com menos de 15 anos de idade e 20,5% mais velhos. Crianças com idade inferior a 15 anos normalmente têm hábitos de geofagia e uncofagia e podem ingerir ovos de parasitos explicando a alta prevalência (26,8%) nesta faixa etária do presente estudo (Tabela 2).

As manifestações clínicas nos indivíduos não foram pesquisadas. Todavia a distribuição por faixa etária da soropositividade para *Toxocara canis* se correlaciona com as manifestações clínicas da toxocaríase, que são menos freqüentes em crianças abaixo de 2 anos ou acima de 15 anos (GLICKMAN et al., 1975). Essas idades correspondem à menor soroprevalência em decorrência, provavelmente, de menor exposição à infecção. Crianças mais velhas e adultos expostos às mesmas condições ambientais podem estar livres da infecção ou ingerir quantidade menor de ovos.

EMBIL et al. (1988), na zona rural da Nova Escócia, encontraram uma prevalência de 15,3% em crianças de 0 a 6 anos e de 25,6% em crianças de 7 a 15 anos. Em crianças da área urbana, as taxas registradas foram de 13,7 e 14,6%, respectivamente nos grupos etários de 0 a 6 anos e 7 a 15 anos. Acredita-se que a toxocaríase é mais freqüente nesses dois grupos etários. Registrou-se aqui um índice de 32% na área urbana e 23,1% na rural em crianças com até 15 anos de idade (Tabela 2).

Em cinco municípios de São Paulo, CHIEFFI et al. (1990) relataram soroprevalência de 3,6% para *Toxocara canis* e observaram que os soros de indivíduos com menos de 15 anos de idade eram mais reagentes (6,4%). Ainda com relação à idade, é importante citar o estudo de MAGNAVAL et al. (1994) em La Reunión no Oceano Índico, onde foi relatada soroprevalência de 92,8% para adultos e adolescentes com idade acima de 15 anos de idade em população com baixo nível socioeconômico.

BUNDY et al. (1987) avaliaram em Santa Lúcia, nas Antilhas, duas comunidades de baixo nível socioeconômico observando que a soropositividade para toxocaríase foi marcante, com coeficientes variados e elevados de 40% a 60% nas idades de 5 a 15 anos e declinando nos adultos.

Quando avaliou-se a soroprevalência para toxocaríase quanto ao sexo, detectou-se 43,2% para homens e 38,1% para mulheres, não havendo estatisticamente diferença (Tabela 3). Nos indivíduos com menos de 15 anos de idade constatou-se que os de sexo masculino foram mais prevalentes que os do sexo feminino, 30,9% e 24,7%, respectivamente (Tabela 3). Na cidade de Campinas, foram registradas taxas de prevalência de 24,1% e 23,5% para mulheres e homens, respectivamente. CHIEFFI et al. (1990) observaram que a predominância da toxocaríase estava relacionada aos homens (3,7%). Entretanto não houve diferença significativa quanto aos sexos.

Em Vitória, no Estado do Espírito Santo, MOREIRA-SILVA et al. (1998) registraram 39% de positividade em crianças internadas em hospital pediátrico. As prevalências foram de 44,6% para meninos e 31,8% para as meninas, não ocorrendo diferença estatisticamente significativa.

Os dados acima revelam que tanto no presente estudo como nos demais a toxocaríase ocorre em ambos os sexos e em proporções semelhantes.

A toxocaríase é uma zoonose que está intimamente ligada às condições de vida e densidade demográfica. Quando esta é alta, há maior número de indivíduos com a presença anticorpo anti-*Toxocara sp.* Onde acontece maior concentração populacional é provável que o contato entre o homem e o cão seja mais estreito ou haja maior exposição a ambientes contaminados por fezes de cães (CHIEFFI, 1984). Deve-se ressaltar que, nas condições populacionais atuais de Pedro de Toledo, este é um fato comum.

Dentre os fatores de risco para a ocorrência da doença destaca-se a contaminação do solo com ovos de *Toxocara canis* (NUNES et al., 1997).

Neste estudo não foi avaliada a contaminação do solo com os ovos de *Toxocara canis*, mas mediante os altos índices de soroprevalência registrados (39,3%) (Tabela 2), acredita-se que seria interessante a realização de posteriores estudos em amostras de solo de Pedro de Toledo. Alguns autores procederam a estudos em solo de algumas regiões. CHIEFFI e MULLER, (1976) na cidade de Londrina (PR), acharam 60% das amostras de solo de praças públicas contaminadas por ovos de *Toxocara canis*. Na cidade do Rio de Janeiro, FERREIRA et al. (1976) encontraram 41,6% dos solos de praças públicas com ovos do parasito.

COELHO (2001) encontrou ovos de *Toxocara sp* em 53,3% das amostras de solo retiradas de praças públicas em Sorocaba, São Paulo. No município de Botucatu, (SP) SANTARÉM et al. (1998) constataram que 17,5% dos solos de seis praças públicas estavam infectados por ovos de *Toxocara sp*.

Epidemiologicamente, é importante considerar que os cães, pelo livre acesso a locais de recreação, contaminam o solo (LUDLAM e PLATT, 1989) com suas fezes. Sabe-se que em cães parasitados podem ser encontrados até 15.000 ovos por grama de fezes (ACHA, 1986).

Fica evidente o risco de infecção humana por ovos de *Toxocara sp* particularmente em crianças que freqüentam praças e parques públicos, onde é comum a presença destes animais.

Em nosso meio não existe controle sobre locais de defecação de animais em áreas públicas, sendo, portanto, tanto o ambiente doméstico quanto o público, locais de risco para aquisição da toxocaríase.

Em Pedro de Toledo esta parasitose acomete principalmente jovens com menos de 15 anos de idade devido aos hábitos de higiene. A condição socioeconômica também é importante fator por influenciar na educação sanitária das comunidades, principalmente devido à falta de conhecimento sobre hábitos de higiene, o que favorece as elevadas taxas de prevalências das doenças parasitárias.

MACHADO et al. (1999) estudaram a freqüência das parasitoses intestinais em Mirassol (SP) e observaram que o nível socioeconômico, escolaridade, saneamento básico são determinantes das freqüências das infecções parasitárias. Em Assis, (SP), foi estudada a correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais expressos pelo número de ligações de água e esgoto e a freqüência das parasitoses. Foi observado que as taxas das parasitoses caíram, coincidindo com o aumento do número de ligações de água e esgoto na região (LUDWIG et al., 1999).

BUNDY et al. (1987) relacionaram soropositividade para *Toxocara sp* e prevalência para geohelmintos em duas comunidades de St. Lúcia, nas Antilhas. Observaram que a taxa de aquisição de infecção por *Toxocara sp* é similar ao *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*. Neste atual trabalho também observaram-se altas taxas de prevalências (39,3%) para *Toxocara sp* (Tabela 2), 37,6% e 17,3% para *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*, respectivamente (Tabela 6).

Assim podemos considerar que a toxocaríase é um problema importante de Saúde Pública em Pedro de Toledo. Assinala-se que o local possui precárias condições de higiene o que parece propiciar a transmissão da infecção.

O município de Pedro de Toledo é considerado área endêmica para esquistossomose mansoni (DIAS et al., 1992b).

As amostras sorológicas coletadas no ano de 2000 revelaram para *Schistosoma mansoni* prevalência de 19,3% (Tabela 4). Em 1998, em Pedro Toledo, OLIVEIRA et al. (2003), utilizando a mesma técnica (RIFI IgM), revelaram índice de prevalência de 33,5%. Assinala-se que desde 1980 vem sendo desenvolvido programa de controle da endemia no município. Por exame de fezes, os índices encontrados no presente trabalho foram 2,0% pelo Kato-Katz e 0,9% pelo Coprotest® (Tabela 6). A média geométrica em relação à quantidade de ovos por grama de fezes foi de 24 (Tabela 7) (Quadro 1). OLIVEIRA et al. (2003) na mesma população encontraram pelo método de Kato-Katz índice de 1,6% de positividade e média geométrica de 40,9 ovos por grama de fezes.

As porcentagens obtidas pelo método sorológico de RIFI IgM foram significativamente mais altas quando comparadas com aquelas dos métodos parasitológicos de Kato-Katz e Coprotest®. Isto confirma baixa sensibilidade diagnóstica do exame parasitológico de fezes devido à pequena carga parasitária dos infectados com menos de 100 opg (Quadro 1). As vantagens dos métodos imunodiagnósticos em relação aos parasitológicos, quando aplicados em levantamentos epidemiológicos visando ao conhecimento da incidência e prevalência da endemia, principalmente em áreas de baixa endemicidade, já foram amplamente discutidos e demonstrados em trabalhos anteriores (DIAS et al., 1971, 1992 a,b; KAWAZOE et al., 1981; DOENHOFF et al., 1993).

Ao se comparar os coeficientes de prevalência com aqueles de OLIVEIRA et al., (2003) nota-se redução na transmissão da endemia.

Apesar de não se observar a erradicação da endemia, em Pedro de Toledo, os coeficientes de prevalência, cada vez menores, indicam efetividade das medidas de controle, embora exista um residual de transmissão sendo confirmado pelo parasitológico, com a presença de ovos nas fezes em 2,0% dos indivíduos examinados. Este residual torna-se ainda mais evidente se consideramos a prevalência de 19,3% para as reações sorológicas, demonstrando o contato com cercárias e transmissão ativa do parasito. As populações de moluscos, apesar de controladas, continuam eliminando cercárias; a reinfeção também contribui para manter a endemia e ainda há falha no tratamento dos portadores. Assinala-se que em Pedro de Toledo, desde 1980, vem sendo desenvolvido intenso programa de controle de esquistossomose mansoni (SOARES, 2002)

As parasitoses intestinais constituem ainda um grave problema de Saúde Pública relacionadas ao baixo nível socioeconômico da população (WHO, 1987). Pesquisas populacionais sobre índices de prevalências dos parasitos intestinais realizadas em diversas regiões do Brasil mostraram freqüências bastante diferentes, de acordo com as condições locais de saneamento e características da amostra analisada (COURA, 1970; DIAS, 1981; CHIEFFI et al., 1988).

No presente trabalho, procurou-se dimensionar alguns parâmetros epidemiológicos das principais enteroparasitoses que acometem os habitantes do município de Pedro de Toledo.

Foram registradas altas taxas de infecção por helmintos pelo método parasitológico de Coprotest® (Tabela 10) que indicam problemas de higiene e educação.

Registraram-se altos índices de prevalência para *Ascaris lumbricoides* (37,6%) pelo método de Kato-Katz e pelo Coprotest® 32,2% (Tabela 6). Foi verificado ainda que o parasito foi mais presente nos habitantes da área rural (Tabela 9). Os indivíduos mais jovens foram os mais infectados (26,6%) (Tabela 9). A intensidade de infecção para *Ascaris lumbricoides* revelou 61,9% dos infectados apresentavam nível severo de infecção e 31,6% eram leves.

Constatou-se uma diferença significativa na taxa de infecção para *Trichuris trichiura* pelos métodos de Kato-Katz (17,3%) e Coprotest® (7,8%) (Tabela 6). MENDES (2001) em Pedro de Toledo, ao avaliar estes dois métodos também constatou diferença significativa na taxa de infecção para *Trichuris trichiura*, 16,2% para Kato-Katz e 7,5% por Coprotest®. No presente estudo, a intensidade de infecção para *Trichuris trichiura* foi leve em 94,3% dos infectados (Tabela 7). Em casos de infecções leves (Quadro 1) para este parasito, considerou-se que o método de Kato-Katz é mais eficiente do que Coprotest®. Verifica-se que as prevalências entre as áreas de moradia são semelhantes (Tabela 11). Observa-se ainda que o parasito foi mais prevalente nos indivíduos mais jovens (<15 anos).

Trabalhos anteriores em Pedro de Toledo revelaram altos índices de prevalências para diversas parasitoses. Em 1999, foi registrada uma taxa de 23,2% para *Ascaris lumbricoides* e 12,9% para *Trichuris trichiura* por técnica parasitológica de Kato-Katz (SOARES, 2002).

A prevalência para *Strongyloides stercorales*, foi de 13% (Tabela 6), sendo mais elevada na área rural, 11,3%, do que na urbana, 9,6% (Tabela 12). Todavia estes valores não são considerados estatisticamente diferentes (Tabela 12). Acredita-se que na área rural existam fatores que possivelmente estejam envolvidos na maior transmissão de *Strongyloides stercorales*, tais como ausência do uso de calçados por grande parte das pessoas possibilitando assim maior contato dos mesmos com o solo contendo larvas infectantes do parasito. Acrescenta-se ainda que algumas pessoas defecam nas proximidades de seus domicílios. Não foi registrada diferença significativa entre as idades. Porém, a prevalência foi mais elevada nos indivíduos com mais de 15 anos de idade 8,4% (Tabela 12). Em estudo no ano de 2001 em Pedro de Toledo, foi registrado índice de 14,0% para *Strongyloides stercorales* (MENDES, 2001).

A prevalência para ancilostomatídeos foi de 10,4% pelo método de Coprotest® e pelo Kato-Katz 7,4% (Tabela 6). Na zona urbana não foram detectados esses nematóides. Quanto a intensidade de infecção para ancilostomatídeos esta foi leve (< 2.600 ovos por grama de fezes) (Quadro 1). Ainda em Pedro de Toledo, em 2001, foi registrada prevalência de 8,8% pelo Coprotest® e 5,0% pelo Kato-Katz, estando todos os infectados

com intensidade leve de infecção (MENDES, 2001). Nas fazendas da Holambra (SP), a prevalência foi de 19,8% para ancilostomatídeos (KOBAYASHI et al., 1995). Esses autores acreditam que este número é elevado porque a infecção ocorre devido ao constante contato das pessoas com formas infectantes no solo. Esta conclusão torna-se aqui relevante já que os dados indicam apenas casos de ancilostomatídeos na área rural.

Ainda em Bambuí (MG) a prevalência para ancilostomatídeos em escolares foi significativamente maior entre alunos das escolas rurais (5%), contra apenas 0,6% na urbana (ROCHA et al., 2000).

Em Pedro de Toledo, constatou-se que há residências que não dispõem de instalações sanitárias (15,2%) ou apenas possuem fossas (53,1%), as quais geralmente estão em mau estado de conservação (Tabela 1). Na área rural, as fossas são muito precárias ou ainda as residências não possuem instalações receptoras de esgoto. Estas condições facilitam a alta prevalência dos enteroparasitos, principalmente, nas crianças e adolescentes. De fato registraram-se altas taxas dentre os protozoários como: *Entamoeba coli* (12,6%), *Endolimax nana* (8,7%) e *Giardia intestinales* (7,9%) (Tabela 13).

Em Holambra, São Paulo, em 1992, indivíduos da zona rural (KOBAYASHI et al., 1995) observaram 70% portadores de parasitos intestinais. Os protozoários observados foram *Blastocystis hominis*, *Endolimax nana*, *Giardia intestinales* e *Entamoeba coli*, respectivamente 37,8%, 14,0%, 10,4% e 9,9 a% (KOBAYASHI et al., 1995). As taxas de prevalência para *Entamoeba coli* e *Giardia intestinales* foram semelhantes às encontradas neste estudo (Tabela 13).

Na cidade de São Paulo, constatou-se que o protozoário mais freqüente de interesse médico foi a *Giardia intestinalis* parasitando 4,2% dos examinados, seguida por *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* com 1,5% (FERREIRA et al., 1994).

Em Assis, SP, foi realizado um estudo para estabelecer correlação entre condições de saneamento básico expressos pelo número de ligações de água e esgoto e a freqüência de parasitoses intestinais (LUDWIG et al., 1999). Foi constatada queda na freqüência das parasitoses intestinais que coincidiu com o aumento do número de novas ligações de água e esgoto (LUDWIG et al., 1999).

Neste trabalho foram relatados protozoários intestinais com altos índices de prevalência parasitando tanto crianças como adultos nas zonas rural e urbana (Tabela 14). Com relação ao sexo dos indivíduos, não houve diferença significativa nos índices de prevalência dos protozoários (Tabela 15).

Os resultados acima revelam que a contaminação por protozoários intestinais entre os indivíduos ocorre de forma semelhante, tanto na área rural como na urbana, levando em consideração que a população da zona urbana está localizada nos bairros outrora pertencentes à zona rural e que experimentaram no decorrer do tempo um processo de urbanização preservando algumas características da zona rural e com precárias condições sanitárias.

O fato de que parte da população ingere água não filtrada, colabora para que seja freqüente a infecção por ingestão de cistos de protozoários presentes na água ou alimentos contaminados. Assinala-se que as condições sanitárias são semelhantes nas zonas rural e urbana.

FERREIRA et al. (2000) estudou amostras da população residente na cidade de São Paulo. Observou quedas expressivas na prevalência das parasitoses em geral de 30% para 10,7%. No caso de helmintoses a redução foi de 22,3% para 4,8%. Em relação à *Giardia intestinales* a redução foi de 14,5% para 5,5% e em casos de poliparasitismo intestinal houve considerável declínio de 13,1% para 0,5%. O autor acredita que mudanças positivas em alguns determinantes como renda familiar e escolaridade materna, moradia, saneamento do meio e acesso a serviços de saúde justificam parte substancial da redução da prevalência dos parasitos (FERREIRA et al., 2000).

MARZOCHI e CARVALHEIRO (1978) acreditam que hábitos de comer vegetais frescos e ou crus podem ser a causa da alta prevalência de infecções por protozoários intestinais. Estas infecções muitas vezes vão existir mesmo havendo boas condições sanitárias. Possivelmente esta situação ocorre com freqüência em Pedro de Toledo.

Um dos protozoários de interesse médico que merece destaque neste estudo é *Giardia intestinales*. Está muita vezes associada a quadros de diarréias, má nutrição e anemia em crianças e adolescentes. Registrou-se que 7,9% indivíduos estavam infectados

por este parasito (Tabela 13), e 7,3% eram jovens com idade abaixo de 15 anos. Apenas 1,1% dos indivíduos eram adultos (Tabela 16), não havendo diferença significativa na prevalência do flagelado entre as zonas de moradia.

Giardia intestinales é um parasito comum aos homens, cães e gatos. Foi encontrada prevalência de 7,5% para *Giardia intestinales* em amostras de fezes de cães e de 16,4% em fezes de gatos no Município de São Paulo (GENNARI et al., 1999). Estas taxas indicam que animais e humanos podem abrigar este parasito caracterizando assim uma zoonose. A OMS também considera a giardíase uma zoonose devido a evidências de contaminação de riachos e reservatórios de águas por animais parasitados.

O fato da existência de grande quantidade de cães na zona urbana de Pedro de Toledo pode ser considerado um fator preponderante para aumentar as taxas de *Giardia intestinales* no homem.

No Brasil, o último levantamento multicêntrico das parasitoses intestinais em 1988, revelou a prevalência de 28,5% em escolares com faixa etária entre 7 e 14 anos de idade, sendo a *Giardia intestinales* também o principal parasito encontrado em indivíduos com renda familiar média e alta (ROCHA et al., 2000). Na Grande São Paulo, foram examinados 407 indivíduos residentes na área urbana e constatou-se 4,2% de infectados por *Giardia intestinales* (FERREIRA et al., 1994).

Um parasito questionado na literatura quanto à sintomatologia causada por ele, quando presente em alguns casos de diarreia, é o *Blastocystis hominis*. Por muito tempo este parasito foi considerado protozoário sem importância médica. Atualmente lhe é atribuída em certas circunstâncias a capacidade de produzir lesões inflamatórias no epitélio intestinal (PHILLIPS e ZIERDT, 1976), causando diarreia (KEYSTONE, 1995). Todavia, por dificuldade de ser reconhecido nas técnicas de diagnósticos usadas rotineiramente, esta espécie não tem sido assinalada.

O coeficiente de prevalência para *Blastocystis hominis* foi de 4,8% em Pedro de Toledo. Não foram observadas associações entre idade e sexo entre os positivos devido à falta de informações sobre estas variáveis (Tabela 13).

A prevalência para *Blastocystis hominis* no Estado de São Paulo é em torno de 2,9% (PIRES de MATO et al, 1998). Sugere-se que os níveis de prevalência dependam da população estudada e dos métodos utilizados no diagnóstico, e embora devam ocorrer com freqüência como encontrado por ANARUMA FILHO (2002) com um índice de prevalência de 12,2% na região de Campinas.

Estudo desenvolvido em 1992, em Holambra, São Paulo, registrou-se 37,8% de infectados por *Blastocystis hominis* na população rural (KOBAYASHI, 1995).

Em creches da rede do município de Botucatu foi registrado índice de 32,0% para *Blastocystis hominis* (GUIMARÃES e SOGAYAR 1995). Utilizou-se para este estudo fezes de 147 crianças de 0 a 4 anos de idade e de 20 funcionários das creches. A prevalência para *Giardia intestinales* entre as crianças foi 63,3%. Quanto aos adultos, apenas um indivíduo tinha cistos do parasito. MACHADO et al. (2001) encontraram *Blastocystis hominis* em 39,4% das crianças examinadas em Belém.

Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar foram diagnosticados em apenas três casos (1,3%) dentre 230 examinados (Tabela 13). O fato de as amostras fecais terem sido enviadas ao laboratório conservadas em formalina 10% impossibilitou a realização da técnica de hematoxilina férrica. Esta técnica é utilizada para fazer o diagnóstico diferencial entre os cistos de protozoários.

Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar infecta 10% da população mundial, sendo que 90% dos casos assintomáticos, que na verdade tornam-se grandes reservatórios, importantes na disseminação da amebíase. A prevalência estimada na região Sul do Brasil varia entre 2,5 a 11%. No Sudeste a variação é de 10 a 20% e em Manaus a prevalência é de 19% (FERREIRA e ÁVILA, 2001). Em crianças no Pará foi constatado que 12,2% estavam infectadas por *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* (MACHADO et al., 2001).

Pelo exposto, nota-se que as parasitoses continuam sendo um importante problema de Saúde Pública em Pedro de Toledo. Especificamente, as taxas de prevalência mostram também que é um problema inerente aos indivíduos econômica e culturalmente

menos favorecidos, o que abrange grande parcela da população. As soluções para este problema passam pela delicada questão da distribuição de riquezas, melhoria de saneamento básico e reforma educacional, principalmente nas instituições públicas que atendem à grande maioria da população.

É fundamental esforço multidisciplinar na educação sanitária e na execução de medidas que impeçam a contaminação de coleções de água com fezes humanas. Orientar a população com clara compreensão das doenças e suas relações com hábitos de defecação, uso da água e cuidados higiênicos. Promover vigilância epidemiológica sanitária local. Fornecer à população expansão de saneamento básico fornecendo água potável e tratamento de esgoto.



6 - CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos neste estudo, algumas conclusões se despreendem:

- É alta a prevalência (39,3%) para a toxocaríase, indicando que existe muito provavelmente, uma grande contaminação ambiental por ovos de *Toxocara sp.*
- A toxocaríase é uma infecção que acomete principalmente indivíduos jovens (<15 anos), provavelmente devido aos hábitos de higiene.
- As prevalências parasitológicas para *Schistosoma mansoni* foi de 2% pelo método de Kato-Katz de 0,9% pelo Coprotest®. A intensidade de infecção foi leve com 24 ovos por grama de fezes, confirmando que o município de Pedro de Toledo é uma área de baixa endemicidade para *Schistosoma mansoni*. Há uma discrepância acentuada entre os coeficientes de prevalências parasitológica e sorológica (19,3%), sendo esta última maior. Estes coeficientes sugerem a importância da inclusão dos métodos sorológicos em inquéritos epidemiológicos da esquistossomose mansoni.
- Com relação aos helmintos intestinais, os mais freqüentes foram *Ascaris lumbricoides* (37,6%) e *Stercorales stercorales* (13,0%), pelo método de Coprotest®. A intensidade de infecção para *Ascaris lumbricoides* revelou que 61,9% dos infectados apresentavam nível severo de infecção e 31,6% eram leves.
- O método de Coprotest® se mostrou inferior ao método de Kato-Katz na detecção do ovos de *Trichuris trichiura* quando a intensidade de infecção é baixa.
- Para ancilostomatídeos todos os infectados apresentaram nível leve de infecção.
- A prevalência para protozoários intestinais foi de 28,5%, sendo os comensais os mais freqüentemente encontrados como *Entamoeba coli* (12,6%) e *Endolimax nana* (8,7%), seguidos dos patogênicos *Giardia intestinales* (7,9%) e *Blastocystis hominis* (4,8%).
- Considera-se que é portanto fundamental e urgente o investimento em vários níveis de prevenção para maior controle das parasitoses.

- Orientar a população quanto à sua responsabilidade com relação aos animais de estimação, principalmente cães e gatos. Nesse sentido a escola pode ser um importante veículo de informação tanto para a criança como para a comunidade.

Alertar as autoridades responsáveis quanto à importância do controle da população de cães vadios e gatos, manutenção e cuidados com áreas públicas, como praças, jardins e áreas para jogos e lazer.



7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles al hombre y a los animales, 2nd edition. Organización Mundial de la Salud, Washington, 1986.

AJAYI, O. O.; DUHLINSKA, D. D.; AGWALE, S. M.; NJOKU, M. Frequency of human toxocariasis in Jos, Plateu State, Nigéria. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 95:147-9, 2000.

ALONSO, J. M.; BOJANICH, M. V. I.; CHAMORRO, M.; GORODNER, J. O. *Toxocara* seroprevalence in children from a subtropical city in Argentina. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, 42:235-7, 2000.

AMARAL, R. S.; PORTO, M. A. S. Evolução e situação atual do controle da esquistossomose no Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, 27(3): 73-90, 1994.

ANARUMA FILHO, F. **Toxocariase humana e parasitoses intestinais em áreas sob o risco de enchentes no município de Campinas, Estado de São Paulo, Brasil**. Campinas, 2002 (Tese-Doutorado-Universidade Estadual de Campinas).

ANARUMA FILHO, F.;CHIEFFI, P. P.; CORREA, C. R. S.; CAMARGO, E. D.; SILVEIRA, E. P. R., ARANHA, J. J. B.; RIBEIRO, M. C. S. A. Human toxocariasis: a seroepidemiological survey in the municipality of Campinas(SP), Brazil. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, 44(6):303-7, 2002.

ARAUJO, P. Observações pertinentes às primeiras ecdises de larvas de *Ascaris lumbricoides*, *Ascaris suum* e *Toxocara canis*. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, 14:83-90, 1972.

BACH-RIZZATTI, B. C. **Desenvolvimento de teste imunoenzimático, ELISA, para o diagnóstico da toxocariase humana**. São Paulo, 1984. (Dissertação–Mestrado-Universidade de São Paulo).

BARRIGA, O. O. A critical look at the importance, prevalence and control of toxocariasis and the possibilities of immunological control. **Vet Parasit**, 29:195-234, 1988.

BEAVER, P. C. Parasitological reviews-larva migrans. **Exp Parasito**, 5:587-621, 1956.

- BEAVER, P. C. Toxocarosis (visceral larva migrans) in relation to tropical eosinophilia. **Bull Soc Pathol Exot**, 55:555-77, 1962.
- BEAVER, P. C. The nature of visceral larva migrans. **J Parasitol**, 55:3-12, 1969.
- BEAVER, P. C. Biology of soil transmitted helminths: the massive infection. **Health Lab Sci**, 12:116-25, 1975.
- BEAVER, P. C.; SNYDER, H.; CARRERA, G.; DENT, J. H.; LAFFERTY, J. W. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans: report of three cases. **Pediatrics**, 9:7-19, 1952
- BORG, O. A.; WOODRUFF, A. W. Prevalence of infective ova of *Toxocara* species in public places. **Br Med J**, 4(5890):470-2, 1973.
- BUIJS, J.; LOKHORST, W. H.; ROBINSON, J.; NIJKAMP, F. P. *Toxocara canis*: induced murine pulmonary inflammation: analysis of cells and proteins in lung tissue and bronchoalveolar lavage fluid. **Parasite Immunol**, 16:1-9, 1994.
- BUNDY, D. A. P.; THOMPSON, D. E.; ROBERTSON, B. D.; COOPER, E. S. Agerelationsships of *Toxocara canis* seropositivity and geohelminh infection prevalence in two communities in St. Lucia, West Indies. **Trop Med Parasit**, 38:309-12, 1987.
- BURKE, T. M.; ROBERTSON, E. L. Fenbendazole treatment of pregnant bitches to reduce prenatal and lactogenic infections of *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum* in pups. **J Am Vet Med Assoc**, 183:987-90, 1983.
- CAMPOS,R.; BRIQUES, W.; BELDA NETO, M.; SOUZA, J. M.; KATZ, N.; SALATA, E. et al. Levantamento multicêntrico de parasitoses intestinais no Brasil. **Rodhia – Grupo Rhône-Poulenc**, 1988.
- CASEIRO, M. M. **Síndrome de larva migrans visceral causada por larvas de *Toxocara canis* (Werner, 1782 e Stiles, 1905), no município de Santos, São Paulo. São Paulo 1996.**(Dissertação-Mestrado–Universidade de São Paulo).

CASTILLO, D.; PAREDES, C.; ZANARTU, C.; CASTILLO, G.; MERCADO, R.; MUNOZ, V.; SCHENOME, H. Environmental contamination with *Toxocara sp.* Eggs in public squares and parks from Santiago, Chile, 1999. **Bol Chil Parasitol**, 55(3-4): 86-91, 2000.

CERQUEIRA, F. L. Coprotest: metodologia confiável para o exame parasitológico de fezes. **Laes**, 9(51):5,9,12, 1988.

CHAN, M. S. The global burden of intestinal nematode infections. Fifty years on. **Parasitol Today**, 13(11):438-43, 1997.

CHIATTONE, C. S.; CHIEFFI, P. P.; PAES, R. A. P. Síndrome da larva migrans em adulto: apresentação de um caso. **Rev Inst Adolfo Lutz**, 43:85-8, 1983.

CHIEFFI, P. P. **Contribuição ao estudo da síndrome da larva migrans visceral por toxocara em cinco municípios do Estado de São Paulo, Brasil. Inquérito epidemiológico.** São Paulo, 1984. (Tese-Doutorado-Universidade de São Paulo).

CHIEFFI, P. P.; MULLER, E. E. Prevalência de parasitismo por *Toxocara canis* em cães e presença de ovo de *Toxocara sp* no solo de localidades públicas da zona urbana do município de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. **Rev Saúde Pública**, 10:367-72, 1976.

CHIEFFI, P. P.; MULLER, E. E. Estudo da variação mensal na contaminação do solo por ovos de *Toxocara sp.* (nematoda, ascaroidea), na zona urbana do município de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. **Rev Inst Adolfo Lutz**, 38:13-6, 1978.

CHIEFFI, P. P.; UEDA, M.; CAMARGO, E. D.; SOUZA, A. M. C.; LEOPOLDO e SILVA, C.; VILLA NOVA, A.; GUEDES, M. L. S. Contato domiciliar e profissional com cães como fatores de risco para infecção humana por larvas de *Toxocara*. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, 30:379-82, 1988.

CHIEFFI, P. P.; UEDA, M.; CAMARGO, E. D.; SOUZA, A. M. C.; GUEDES, M. L. S.; GERBI, L. J.; SPIR, M.; MOREIRA, A. S. Visceral larva migrans: a seroepidemiological survey in five of São Paulo State. Brazil. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, 32:204-10, 1990.

- CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais**. São Paulo: Ed. Atheneu, 1999. p.375.
- COELHO, L. M. P. S.; DINI, C. Y.; MILMAN, M. H. S. A.; OLIVEIRA, S. M. *Toxocara ssp.* eggs in public squares of Sorocaba, Sao Paulo State, Brazil. **Rev Inst Med Trop S Paulo**, 43(4):189-91, 2001.
- CONDE GARCIA, L., MURO ALVAREZ, A. SIMON MARTIN, F. Epidemiological studies on toxocariasis and visceral larva migrans in a zone of Western Spain. **Ann Trop Med Parasitol**, 83:615-20, 1989.
- COURA, L. C. **Contribuição ao estudo das geohelmintíases**. Rio de Janeiro, 1970. (Tese-Livre docência-Universidade Federal do Rio de Janeiro).
- DE CARLI, G.A. **Parasitologia clínica – Seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas**. 2a ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2001 397p
- De SAVIGNY, D. H. In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple metho for prodution of Toxocara ES antigen for use in serodiagnostic tests for visceral larva migrans. **J Parasitol**, 61:781-82, 1975.
- De SAVIGNY, D. H. VOLLER, A.; WOODRUFF, A. W. Toxocariasis: serological diagnosis by enzyme immunoassay. **J Clin Pathol**, 32:284-88, 1979.
- DEAN, A G.; DEAN, J.A; COULOMBIER, D.; BRENDEL, K. A; SMITH, D. C.; BURTON, H.; DICKER, R. C.; SULLIVAN, K. M.; FARGAN, R. F.; ARNER, T. G. Epi info, version 6: a word processing, database, and statistcs program for public health on IBM-compatible microcomputers. C.D.C., Atlanta, Georgia, U. S. A, 1995.
- DIAS, L C. S. Geohelminthiasis em Brazil. **Bol Chil Parasitol**, 36:27-8, 1981.
- DIAS, L. C. S.; CAMARGO, M. E.; HOSHINO-SHIMIZUI, S.; RAMOS, A. A.; TOLEDO PIZA, J.; SILVA, L. C. Inquéritos populacionais de esquistossomose mansoni por técnicas sorológicas de imunofluorescência e de hemaglutinação. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, 13(1):37-44, 1971.

DIAS, L. C. S.; KAWAZOE, U.; GLASSER, C. M.; HOSHINO-SHIMIZUI, S.; KANAMURA, H. Y.; CORDEIRO J. A. et al. Schistosomiasis mansoni in the municipality of Pedro de Toledo (São Paulo, Brazil) where the *Biomphalaria tenagophila* is the snail host. I – Prevalence in human population. **Rev Inst Med Trop**, 31:110-8, 1989.

DIAS, L. C. S.; KANAMURA, H. Y.; HOSHINO-SHIMIZUI, S.; GLASSER, C. M.; CARVALHO, J. F.; SILVA, L. C. Field trials for immunodiagnosis with reference to *Schistosoma mansoni*. In: John Wiley & Sons (Ed.) **Immunodiagnostic approaches in schistosomiasis**. England, 1992a. p. 39-47.

DIAS, L. C. S.; MARÇAL, JR. O.; GLASSER, C. M.; KANAMURA, H. Y.; HOTTA, L. K. Control of schistosomiasis mansoni in a low transmission area.. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 87(IV):233-9, 1992b.

DOENHOFF, M. J.; BUTTERWORTH, A. E.; HAYES, R. J.; STURROCK, R. F.; OUMA, J. H.; KOECH, D. et al. Seroepidemiology and serodiagnosis in Kenya using crude and purified egg antigens of *Schistosoma mansoni* in ELISA. **Trans Roy Soc Trop Med Hyg**, 87:42-8, 1993.

DUBEY, J. P. Patent *Toxocara canis* infections in ascarid-naive dogs. **J Parasitol**, 64:1021-3, 1978.

EHRHARD, T.; KERNBAUM. S. *Toxocara canis* et toxocarose humaine. **Bull Inst Pasteur**, 77:225-88. 1979.

EMBIL, J. A.; TANNER, C. E.; PEREIRA, L. H.; STAUDT, M.; MORRISON E. G.; GUALAZZI, D. A. Seroepidemiologic survey of *Toxocara canis* infection in urban and rural children. **Public Health**, 102:129-33, 1988.

FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. M. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto imunes**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.212.

FERREIRA, C. S.; CARVALHO, M. E. Padronização de uso de papel-filtro como suporte de material para reações sorológicas. **Rev Bras Mariol**, 34:82-6, 1982.

- FERREIRA, C. S.; FERREIRA, M. U.; NOGUEIRA, M. R. The prevalence of infection by intestinal parasites in an urban slum in Sao Paulo, Brazil. **J Trop Med Hyg**, 97(2):121-7, 1994.
- FERREIRA, L. F.; OLIVEIRA, E. L.; CAMILLO-COURA, L. Sobre a presença de ovos de *Toxocara* em praças da cidade do Rio de Janeiro. **Rev Soc Bras Med Trop**, 10:1-4, 1976.
- FERREIRA, M. S.; BORGES, A. S. Parasitoses oportunistas. **Rev Pat Trop**, 25(2):187-201, 1996.
- FERREIRA, M. U.; FERREIRA, C. S.; MONTEIRO, C. S. Secular trends in child intestinal parasitic diseases in S. Paulo city, Brazil (1984-1996). **Rev de Saúde Pública**, 34(6):73-82, 2000.
- FRIEDMAN, S.; HERVADA, A.R. Severe myocarditis with recovery in a child with visceral larva migrans. **J Pediatr**, 59:91-6, 1960.
- GENNARI, S. M.; KASAI, N.; PENA, H. F. J. ; CORTEZ, A. Ocorrência de protozoários e helmintos em amostras de fezes de cães e gatos da cidade de São Paulo. **Braz J Vet Res Anim Sci**, 36(2), 1999.
- GILLESPIE, S. H. Human toxocariasis. **J Appl Bacteriol**, 63:473-9, 1987.
- GIRDWOOD, R. W. A. Human toxocariasis. **J Small Anim Pract**, 27:649-54, 1986.
- GLICKMAN, L. T.; CYPESS, R. H.; CRUMRINE, P. K.; GITLIN, D. A. *Toxocara* infection and epilepsy in children. **J Pediatr**, 94:75-8, 1979.
- GLICKMAN, L. T.; SCHANTZ, P. M.; CYPESS, R. H. Epidemiologic characteristics and clinical findings in patients with serologically proven toxocarasis. **Trans Roy Soc Trop Med Hyg**, 73:254-8, 1975.
- GLICKMAN, L. T.; SCHANTZ, P. M.; DOMBROSKE, R.; CYPESS, R. Evaluation of serodiagnostic tests for visceral larva migrans. **Am J Trop Med Hyg**, 27:492-8, 1978.

GLICKMAN, L. T.; SCHANTZ, P. M. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. **Epidemiol Rev**, 3:230-50, 1981.

GLICKMAN, L. T.; SHOFER, F. S. Zoonotic visceral and ocular larva migrans. **Vet Clin North Am**, 17:39-53, 1987.

GRAEFF-TEIXEIRA, C.; ANJOS, C. B.; OLIVEIRA, V. C.; VELLOSO, C. F. P.; FONSECA, M. B. S.; VALAR, C. et al. Identification of a transmission focus of *Schistosoma mansoni* in the southernmost Brazilian State, Rio Grande do Sul. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 94(1):9-10, 1999.

GUIMARÃES, S.; SOGAYAR, M. I. L. Occurrence of *Giardia lamblia* in children of municipal day-care centers from Botucatu, São Paulo state Brazil. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, 37(6):501-6, 1995.

HAVASIOVÁ, K.; DUBINSKY, P.; STEFANCIKOVA, A. A seroepidemiological study of human *Toxocara* infection in the Slovak Republic. **J Helminthol**, 67(4): 291-6, 1993.

HOLLAND. C.; O'CONNOR, P.; TAYLOR, M. R. H.; HUGHES, G.; GIRDWOOD, R. W. A.; SMITH, H. Families, parks, gardens and toxocariasis. **Scand J Infect Dis**, 23:225-31, 1991.

JACOB, C. M. A.; PASTORINO, A. C.; PERES, B. A.; MELLO, E. O.; OKAY, Y.; OSELKA, G. W. Clinical and laboratorial features of visceral toxocariasis in infancy. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, 36:19-26, 1994.

JACOB, C. M. A.; PERES, B. A.; OSELKA, G. W.; CHIEFFI, P. P.; PASTORINO, A. C.; ROIZENBLATT, J. Síndrome da larva migrans visceral por *Toxocara canis*. **Pediatrics**, 9:9-12, 1987.

JIMENEZ, J. F.; VALLADARES, B.; FERNANDEZ-PALACIOS, J. M.; DE ARMAS, F.; DELCASTILLO, A. A serologic study of human toxocariasis in the Canary Islands (Spain): environmental influences. **Am J Trop Med Hyg**, 56:113-5, 1997.

- KANAMURA, H. Y.; SILVA, R. M.; RABELO, A. L. T.; ROCHA, R. S.; KATZ, N. Anticorpos séricos IgA no diagnóstico da fase aguda da esquistossomose mansoni humana. **Rev Inst Adolfo Lutz**, 51(1):101-4, 1991.
- KATZ, N.; CHAVES, A.; PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thrick smear technique in schistosomiasis mansoni. **Rev Inst Med Trop S Paulo**, 14:397-400, 1972.
- KATZ, N.; PEIXOTO, S. V. Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, 33(3):303-8, 2000.
- KAWAZOE, U.; HOSHINO-SHIMIZUI, S.; CORREA, N. S.; SILVA, L. C.; PINTO, A. C. M.; CAMARGO, M. E. Na immunoepidemiological study of schistosomiasis mansoni in Paraiba's Valley, Sao Paulo, Brazil. **Rev Inst Med Trop**, 23(1):36-40, 1981.
- KAYES, S. G.; OMHOLT, P. E.; GRIEVE, R. B. Immune responses of CBA/J mice to graded infections with *Toxocara canis*. **Infect Immun**, 48:697-703, 1985.
- KERR-MUIR, M. G. *Toxocara canis* and human health. **BMJ**, 304:5-6, 1994.
- KEYSTONE, J. S. *Bastocystis hominis* and traveler's diarrhea. **Clin Infect Dis**, 21(1): 102-3, 1995.
- KOBAYASHI, J.; HASEGAWA, H.; FORLI, A. A.; NISHIMURA, N. F.; YAMANAKA, A.; SHIMABUKURO, T.; SATO, Y. Prevalence of intestinal parasitic infection in five farms in Holambra, Sao Paulo, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, 37(1):13-8, 1995.
- LLOYD, S.; AMERASINGHE, P. H.; SOULSBY, E. J. L. Periparturient immunosuppression in the bitch and its influence on infection of *Toxocara canis* in dogs. **J Small Anim Pract**, 24:237-47, 1983.
- LLOYD, S.; SOULSBY, E. J. L. Prenatal and transmammmary infection with *Toxocara canis*: effect of benzimidazole-carbamate anthelmintics on various developmental stages of the parasite. **J Sm Anim Pract**, 24:763-8, 1983.

- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J. FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J Biol Chem**, 193:265-75, 1951.
- LUDLAM, K. E.; PLATT, T. R. The relationship of park maintenance and accessibility to dogs to the presence of *Toxocara ssp. ova* in the soil. **Am J Publ Hlth**, 79:633-634, 1989.
- LUDWIG, K. M.; FREI, F.; ALVARES FILHO, F. RIBEIRO-PAES, J. T. Correlation between sanitation conditions and intestinal parasitosis in the population of Assis, State of Sao Paulo. **Rev Soc Bras Med Trop**, 32(5):547-55, 1999.
- LYNCH, N. R.; WILKES, L. K.; HODGEN, A. N.; TURNER, K. J. Specificity of toxocara ELISA in tropical populations. **Parasite Immunol**, 10p.323-7, 1988.
- LYNCH, N.R.; HAGEL, I.; VARGAS, V.; ROTUNDO, A.; VARELA, M. C.; Di PRISCO, M. C. Comparable seropositivity for ascariasis and toxocariasis in tropical slum children. **Parasitol Res**, 79:547-50, 1993.
- MACHADO, R. C.; MARCARI, E. L.; de CRISTIANE, S.; CRISANTE, V.; CARARETO, C. M. Giardiasis and helminthiasis in children of both public and private day-care centers and junior and high schools in the city of Mirassol, Sao Paulo State, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, 32(6):697-704, 1999.
- MACHADO, R. L .D.; FIGUEIREDO, M. C.; FRADE, A. F.; KUDÓ, M. E.; FILHO, M .G. S.; POVOA, M. M. Comparação de quatro métodos laboratoriais para diagnóstico da *Giardia lamblia* em fezes de crianças residentes em Belém, Pará. **Rev Soc Bras Med Trop**, 34(1):91-3, 2001.
- MAGNAVAL, J. F.; MICHAULT, A.; CALON, N.; CHARLET, J. P. Epidemiology of human toxocariasis in La Reunion. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, 88:531-3, 1994.
- MAIZELS, R. M.; DE SAVIGNY, D.; OGILVIE, B. M. Characterization of surface and excretory-secretory antigens of *Toxocara canis* infective larvae. **Parasite Immunol**, 6:23-37, 1984.

MARZOCHI, M. C.; CARVALHEIRO, J.da R. Factors involved in the spread of enteroparasites. III. Distribution of various enteroparasitosis in 2 population groups in the city of Ribeirão Preto, Sao Paulo, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, 20(1):31-5, 1978.

MAUNG, M. The occurrence of the second moult of *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum*. **Int J Parasitol**, 8:371-8, 1978.

MENDES, C. R.. **Estudo comparativo de técnicas parasitológicas e imunológicas no diagnóstico de parasitos intestinais**. Campinas, 2001 (Tese-Mestrado-Universidade Estadual de Campinas).

MOK, C. H. Visceral larva migrans: a discussion based on a review of the literature. **Clin Pediatr**, 565-73, 1968.

MOREIRA-SILVA, S. F.; LEAO, M. E.; MENDONÇA, H. F. S. ; PEREIRA, F. E. L.; 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 São Paulo**, 40:259-61, 1998.

MOURA, R. J.; SOUZA JUNIOR, J. A. Incidência de parasitose intestinal em escolares da rede municipal urbana de ensino de Juiz de Fora. **Rev Bras Med**, 52(4): 272-86, 1995.

NAGAKURA, F.; TAKEHARA, H.; KANEDA, Y.; KATO, Y. Toxocariasis possibly caused by ingesting raw children. **J Infect Dis J Infect Dis** 160:735-6, 1989.

NASH, T. E. Antibody response to a polysaccharide antigen present in the schistosome gut. **Am J Trop Hyg**, 27(5):938-43, 1978.

NATHWANI, D.; LAING, R. B.; CURRIE, P. F. Covert toxocariasis: a cause of recurrent abdominal pain in childhood. **Br J Clin Prat**, 46:271, 1992.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, M. P. **Parasitologia humana**. 10. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2001 428p.

- NUNES, C. M.; PENA, F. C.; NEGRELLI, G. B.; ANJO, C. G. S.; NAKANO, M. M.; STOBBE, N. S. Ocorrência de larva migrans na areia de áreas de lazer das escolas municipais de ensino infantil, Araçatuba, SP, Brasil. **Rev Saúde Pública**, 34(6):656-8, 2000.
- OGE, H.; OGE, S. Quantitative comparison of various methods for detecting eggs of *Toxocara canis* in samples of sand. **Vet Parasitol**, 92(1):75-9, 2000.
- OLIVEIRA, E. J.; KANAMURA, H. Y.; DIAS, L. C.; SOARES, L. C.; LIMA, D. M.; CIARAVOLHO, R. M. IgM-ELISA for diagnosis of schistosomiasis mansoni in low endemic areas. **Cad Saúde Pública**, 19(1):255-61, 2003.
- OVERGAAUW, P. A. M. Aspects of toxocara epidemiology: toxocarosis in dogs and cats. **Crit Rev Microbiol**, 23:233-51, 1997.
- PASSOS, A. D. C.; AMARAL, R. S. Esquistossomose mansônica; aspectos epidemiológicos e de controle. **Rev Soc Bras Med Trop**, 31(II):61-74, 1998.
- PEDRAZZANI, E. S.; MELLO, D. A.; PRIPAS, S.; FUCCI, M.; BARBOSA, C. A. A.; SANTORO, M. C. M. Helminthoses intestinais. II- Prevalência e correlação com renda, tamanho da família, anemia e estado nutricional. **Rev Saúde Pública**, 22:384-9, 1988.
- PÊSSOA, S. B.; MARTINS, A. V. **Parasitologia médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 1982 569p.
- PHILLIPS, P. B.; ZIERDT, C. H. *Blastocystis hominis*: pathogenic potential in human patients and gnotobiotas. **Exp Parasitol**, 39:358-64, 1976.
- PIRES DE MATOS, C.; AMATO NETO, V.; BRAZ, L. M. A.; CARIGNANI, F. L.; VILLELA, M. S. H.; PINTO, T. H. L.; et al. *Blastocystis hominis*. Diagnóstico por exame direto e por coloração com tionina. **Rev Soc Bras Med Trop** 31(supl. 1):188, 1998.
- PORTUS, M.; RIERA, C.; PRATS, G. A serological survey of toxocarosis in patients and healthy donors in Barcelona (Spain). **European Jour epidemiol**, 5(2):224-7, 1989.

RADMAN, N. E.; ARCHELLI, S. M.; FOUROUGE, R. D., GUARDIS, M. del V.; LINZITTO, O. R. Human toxocariosis. Its seroprevalence in the City of La Plata. **Men Inst Oswaldo Cruz**, 95:281-5, 2000.

REY L. **Parasitologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1991. 731 p.

RICHER, S. P.; STILES, W.R. Presumed *Toxocara canis* with peripheral retinal granuloma and secondary macular hole. **J Am Optom Assoc**, 58:404-7, 1987.

ROCHA, R. S.; SILVA, J. G.; PEIXOTO, S. V.; CALDEIRA, R. L.; FIRMO, J. O.; CARVALHO, O. dos S.; KATZ, N. Assessment of schistosomiasis and other intestinal parasitoses in school children of the Bambui municipality, Minas Gerais, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, 33(5): 431-6, 2000.

SALATA, E. CORRÊA, F. M. A.; SOGAYAR, M. I. L.; BARBOSA, M. A. Inquérito parasitológico na Cecap.-Distrito-sede de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública**, 6:385-92, 1972.

SALEM, G.; SCHANTZ, P. *Toxocara visceral larva migrans* after ingestion of raw lamb. [Letter]. **Liver Clin Infect Dis**, 15:743-4, 1992.

SANTARÉM, V. A.; SARTOR, I, F.; BERGAMO, F. M. M. Contaminação, por ovos de *Toxocara spp*, de parques e praças públicas de Botucatu, São Paulo, Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, 31(6):529-32, 1998.

SCHANTZ, P.M. *Toxocara larva migrans* now. **Am J Trop Med Hyg**, 41(suppl3):21-34, 1989.

SCHANTZ, P.M. Parasitic zoonoses in perspective. **Int J Parasitol**, 21(2):161-170, 1991.

SCHANTZ, P. M.; GLICKMAN, L. T. Ascaridos de perros y gatos: un problema de salud publica y de medicina veterinara. **Bol Ofic Sanit Panam**, 94:571-86, 1983.

SCOTHORN, M. W.; KANTZ, F.R.; GRAVES, H.F. Prenatal *Toxocara canis* infection in pups. **J Am Vet Assoc**, 146:45-8, 1965.

- SHIELDS, J. A. Ocular toxocariasis: a review. **Surv Ophthalmol**, 28:361-81, 1984.
- SHIMIZU, T. Prevalence of *Toxocara* eggs in sandpits in Tokushima City and its Outskirts. **J Vet Med Sci**, 55:807-11, 1993.
- SILVA, R. M.; KANAMURA, H. Y.; CAMARGO, E. D.; CHIODELLI, S. G.; NAKAMURA, P. M.; GARGIONI, C.; et al. A comparative study on IgG-ELISA, IgM-IIFT, and Kato-Katz methods for epidemiological purposes in a low endemic area for schistosomiasis. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 93:279-82, 1998.
- SILVA, R. M.; SILVA, M. I. P. G.; VELLOSA, S. A. G.; KANAMURA, H. Y. Pesquisa de anticorpos IgM contra tubo digestivo do verme para diagnóstico da esquistossomose mansônica. **Rev Bras de Pat Clin**, 28(2):39-42, 1992.
- SMITHERS, S. R.; TERRY, R. J. The infection of laboratory hosts with cercariae of *Schistosoma mansoni* and recovery of adult worms. **Parasitology**, 55:695-700, 1965.
- SNYDER, C.H. Visceral larva migrans: ten years' experience. **Pediatrics**, 28:85-91, 1961.
- SOARES, L. C. B. **Esquistossomose mansoni em área de baixa endemicidade: soroepidemiologia e controle**. Campinas, 2002. (Tese-Mestrado-Universidade Estadual de Campinas).
- SOULSBY, E. J. L. **Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals**. Baillière Tindall, London: Baillière 1982.
- SOULSBY, E. J. L. Nematodes of small intestine. In: **Methods in zone electrophoresis**. 2nd ed. London, 1965.
- SOULSBY, E. J. L. Toxocariasis. **Br Vet J**, 139(6): 471-5, 1983.
- SPEISER, F.; GOTTESTEIN, B. A collaborative study on larval excretory/secretory antigens of *toxocara canis* for the immunodiagnosis of human toxocariasis with ELISA. **Acta Trop**, 41:361-72, 1984.

- STENZEL, D. J.; BOREHAM, P. F. *Blastocystis hominis* revisited. **Clin Microbiol Rev**, 9(4):563-84, 1996.
- STOYE, V. M. Ascarid and hookworm infections in the dog: biology, epizootology and control. **Ber Munch Tieraztl Wochenschr**, 92:464-472, 1979.
- STÜRCHLER, D.; WEISS, N.; GASSMAN, M. [letter] Transmission of toxocariasis. **J Infect Dis**, 162:571, 1990.
- TAYLOR, M. R. H.; KEANE, C. T.; O'CONNOR, P.; GIRDWOOD, R. W. A.; SMITH, H. Clinical features of covert toxocariasis. **Scand J Infect Dis**, 19:696-6, 1987.
- THOMPSON, D. E.; BUNDY, D. A. P.; COOPER, E. S.; SCHANTZ, P. M. Epidemiological characteristics of toxocara canis zoonotic infection of children in a Caribbean community. **Bull WHO**, 64:283-90, 1986.
- UDKOW, M. P.; MARKELL, E. K. *Blastocystis hominis*: prevalence in asymptomatic versus symptomatic hosts. **J Infec Dis** 168:242-4, 1993.
- WILDER, H. C. Nematode endophthalmitis. **Trans Am Acad Ophthalmol Otorinol**, 55:99-109, 1950.
- WILSON, R. A. **Introdução à parasitologia**. São Paulo: E.P.U., 1978.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Thirteenth programme report of the UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and training Diseases**. Geneva: WHO, 1997, 5:62-73. WHO-The control of *Schistosomiasis*. Geneva: WHO, Technical Report Series 1993. 86p.



8 – ANEXOS

CADASTRO DE PACIENTE

IDENTIFICACAO DA {UNICAMP} #### {DATA} DA {COLE}TA <dd/mm/yyyy>

IDENTIFICACAO DO {CAMPO} <A >

NOME <A > SEXO <A>

IDADE ## LOCAL <A >

KATO KATZ - {AMOSTRA1} <A>

S.{MANSONI1} <A> {OVOS} ##### ASC1 <A> {OVO}S #####

TRI1 <A> {OV}OS ##### ANCY1 <A> {OVO}S #####

TEN1 <A> OUTROS1 <A > NAO {REAL}IZADOS{1} <A>

COPROTEST - {AMOSTRA2} <A>

S.{MANSONI2} <A> ANCY2 <A> ASC2 <A>

ENT2 <A> TRI2 <A> HYM2 <A> TEN2 <A>

STRONG2 <A>

E.COLI <A> E.NANA <A> E.{HIST}/E.DISPAR <A>

IODA <A> GIAR <A> BLAST<A> OUTROS2 <A >

NAO {REAL}IZADOS{2} <A>

IFI IgM - {AMOSTRA3} <A> {DATA2} <dd/mm/yyyy>

S.{MANSONI3} <A> {PADRAO} <A >

NAO {REAL}IZADOS{3} <A>

ELISA IgG - {AMOSTRA4} <A> {DATA3} <dd/mm/yyyy>

{TOXOCA}RA <A>

NAO {REAL}IZADOS{4} <A>

□