



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS INTERATIVOS DOS**  
**ÓRGÃOS E SISTEMAS**

**RODRIGO FERNANDES SOUZA**

**INVESTIGAÇÃO DA PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO**  
**DE INFECÇÃO POR *Toxocara canis* E ESTUDO DE**  
**POSSÍVEIS ASSOCIAÇÕES ENTRE ESTA INFECÇÃO E**  
**ALERGIA**

Salvador,

2010

**RODRIGO FERNANDES SOUZA**

**INVESTIGAÇÃO DA PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO  
DE INFECÇÃO POR *TOXOCARA CANIS* E ESTUDO DE  
POSSÍVEIS ASSOCIAÇÕES ENTRE ESTA INFECÇÃO E  
ALERGIA**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós -  
Graduação em Processos Interativos dos Órgãos  
e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde,  
Universidade Federal da Bahia, como requisito  
parcial para obtenção do título de Mestre em  
Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.**

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Neuza Maria Alcântara  
Neves**

Salvador,

2010

S719i

Souza, Rodrigo Fernandes.

Investigação da prevalência e fatores de risco de infecção por *Toxacara canis* e estudo de possíveis associações entre esta infecção e alergia / Rodrigo Fernandes Souza. – Salvador: 2010.

77 f.; 30 cm.

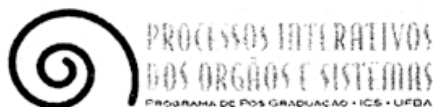
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Neuza Maria Alcântara Neves

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, UFBA, Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas

1. Infecção – *Toxacara canis*. 2. Alergia. 3. Órgãos e Sistemas -  
Dissertação. I. Neves, Neuza Maria Alcântara. II. UFBA. I. Título.

CDU 616.976

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



ATA DA SESSÃO PÚBLICA DO COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO PROCESSOS INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS

Aos vinte e seis dias do mês de novembro de dois mil e dez, reuniu-se em sessão pública o Colegiado do Programa de Pós- Graduação Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas com a finalidade de apreciar a Defesa de Dissertação do Pós-graduando **Rodrigo Fernandes Souza**, através da Comissão Julgadora composta pelos Professores **Artur Dias Lima**, **Márcia Cristina Aquino Teixeira** e **Neuza Maria Alcântara Neves**. O título da Dissertação apresentado foi **INVESTIGAÇÃO DA PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO DE INFECCÃO POR TOXOCARA CANIS E ESTUDO DE POSSÍVEIS ASSOCIAÇÕES ENTRE ESTA INFECCÃO E ALERGIA**. Ao final dos trabalhos os membros da mencionada Comissão Examinadora emitiram os seguintes pareceres:

Prof. Dr. Artur Dias Lima APROVADO

Profa. Dra. Márcia Cristina Aquino Teixeira APROVADO

Profa. Dra. Neuza Maria Alcântara Neves APROVADO

Franqueada a palavra, como não houve quem desejasse fazer uso da mesma lavrou-se a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada por todos.

Salvador, 26 de novembro de 2010.

Prof. Dr. Artur Dias Lima

Profa. Dra. Márcia Cristina Aquino Teixeira

Profa. Dra. Neuza Maria Alcântara Neves

**RODRIGO FERNANDES SOUZA**

**INVESTIGAÇÃO DA PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO DE  
INFECÇÃO POR *TOXOCARA CANIS* E ESTUDO DE POSSÍVEIS  
ASSOCIAÇÕES ENTRE ESTA INFECÇÃO E ALERGIA**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**Prof.<sup>ª</sup>. Dr.<sup>ª</sup>. Neuza Maria Alcântara Neves - Orientadora**

Bolsista de Produtividade em Pesquisa; Orientadora de Doutorado;  
Doutorado em Biologia Celular e Molecular pela Fundação Oswaldo Cruz, Brasil(1998)  
Profa. Colaboradora do Curso de Pós-graduação da Universidade Estadual do Ceará, Brasil

**Profa. Dra. Márcia Cristina Aquino Teixeira**

Doutorado em Biologia Celular e Molecular pela Fundação Oswaldo Cruz, Brasil(2004)  
Pesquisadora Colaboradora da Fundação Oswaldo Cruz , Brasil

**Prof. Dr. Artur Gomes Dias Lima**

Doutorado em Biologia Parasitária pela Fundação Oswaldo Cruz, Brasil(2004)  
Professor Adjunto da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública , Brasil

**Data da Defesa: 26 de Novembro de 2010.**

*Dedico este trabalho primeiramente a Deus, pois sem Ele, nada seria possível, a minha mãe Regina Fernandes, meu pai Júlio Souza, minha avó Maria Souza, por todo carinho e amor que me dedica.*

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Neuza Maria Alcântara Neves, pela oportunidade concedida, por toda orientação, dedicação e paciência ao longo desse período.

Ao Coordenador do Programa em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Roberto Paulop, pelo comprometimento na melhoria a cada dia do mesmo.

Aos Professores do Programa por todo empenho, contribuindo para minha formação.

A família do Laboratório de Alergia e Acarologia, pela amizade construída.

A toda minha família e amigos, em especial Murilo Nascimento, pelo incentivo e apoio constante, nunca deixando eu desistir dessa caminhada e que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

SOUZA, Rodrigo Fernandes. **Investigação da Prevalência e Fatores de Risco de Infecção por *Toxocara canis* e Estudo de Possíveis Associações Entre esta Infecção e Alergia.** Dissertação (Mestrado). Salvador: Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, 2010.

## RESUMO

*Larva migrans* visceral (LMV) é uma zoonose causada por ingestão de ovos embrionados de *Toxocara canis* e *T. cati*. A prevalência da LMV é mais alta em países em desenvolvimento e a presença desta infecção na população humana ainda não foi estudada na Bahia, Brasil. Esta infecção tem sido associada com aumento de alergia e atopia, entretanto os relatos são contraditórios. O objetivo desse trabalho foi investigar a prevalência e os fatores de risco da infecção humana por *T. canis* em dois grupos de indivíduos da cidade de Salvador e associar a soroprevalência de anticorpos IgG anti-*T. canis* com eosinofilia, atopia, rinite e asma. Participaram do estudo 338 indivíduos, sendo 150 moradores oriundos de diversos bairros de Salvador (Grupo 1) e 188 moradores do bairro da Paz (Grupo 2). Foi aplicado um questionário sobre dados demográficos, fatores de risco para a aquisição desta infecção e fatores de risco para asma, rinite e atopia. A infecção foi diagnosticada pela presença de anticorpos IgG séricos anti-*T. canis*, detectados pelo método de ELISA indireto. A associação entre os fatores de risco e a infecção por *T. canis* e da correlação da infecção com os desfechos eosinofilia, asma, atopia (teste cutâneo para aeroalérgenos > 3 mm) e rinite foram analisadas por regressão logística univariada e multivariada. A soroprevalência de IgG anti-*T. canis* foi de 52 % e de 65.4 % nos grupos 1 e 2 respectivamente. A infecção foi associada positivamente para classe social mais baixa e contato com cães e gatos. Foi encontrada uma associação positiva e estatisticamente significativa entre a infecção por *T. canis* e eosinofilia  $\geq 4$  % e asma nos indivíduos do Grupo 1 e com eosinofilia  $\geq 10$  % nos indivíduos do Grupo 2, porém não houve associação entre esta infecção e atopia e rinite em ambos os grupos. Os resultados obtidos neste estudo apontam para a alta prevalência desta parasitose em população de baixa renda de Salvador e a importância da presença de cães e gatos não vermifugados na veiculação e disseminação da mesma, uma vez que estes são os hospedeiros naturais. A associação desta infecção com classe social economicamente menos favorecida dos indivíduos do estudo, explica-se devido ao baixo nível de escolaridade e piores condições higiênicossanitárias em que vivem estas pessoas e ao contato com animais não vermifugados. Estes achados reforçam o papel da infecção por *T. canis* no desenvolvimento de eosinofilia grave. O achado de asma associado com infecção por *T. canis* apenas no grupo com menor prevalência da infecção denota a necessidade de investigar co-fatores que possam influenciar na associação de infecção por *T. canis* com asma e alergia.

**Palavras-Chave:** *Toxocara canis*. Fatores de Risco. Eosinofilia. Alergia.



SOUZA, Rodrigo Fernandes. **Investigation of Prevalence and Risk Factors for Infection by *Toxocara canis* and study possible associations between this infection and allergy.** Dissertação (Mestrado). Salvador: Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, 2010.

## ABSTRACT

Larva migrans visceral (VLM) is a zoonotic disease caused by ingestion of embryonated eggs of *Toxocara canis* and *T. cati*. The prevalence of the LMV is higher in developing countries and the presence of this infection in the human population has not been studied in Bahia, Brazil. This infection has been associated with increased allergy and atopy, but the reports are contradictory. The aim of this study was to investigate the prevalence and risk factors for human infection with *T. canis* in two groups of individuals from Salvador and associate the seroprevalence of IgG anti-*T. canis* with eosinophilia, atopy, rhinitis and asthma. The study included 338 individuals, 150 residents from various neighborhoods in Salvador (Group 1) and 188 residents from Bairro da Paz (Group 2). We administered a questionnaire on demographics, risk factors for acquiring this infection and risk factors for asthma, rhinitis and atopy. The infection was diagnosed by the presence of serum IgG anti-*T. canis*, detected using ELISA. The association between risk factors and infection by *T. canis* infection and correlation with outcomes eosinophilia, asthma, atopy (skin test for allergens > 3 mm), and rhinitis were analyzed by univariate and multivariate analysis. The seroprevalence of IgG anti-*T. canis* was 52% and 65.4% in groups 1 and 2 respectively. The infection was positively associated to a lower social class and exposure to dogs and cats. We found a positive association was detected between infection with *T. canis* and eosinophilia  $\geq 4\%$  and asthma in the subjects in Group 1 and eosinophilia in individuals  $\geq 10\%$  of Group 2, but there was no association between this infection and atopy and rhinitis in both groups. The results of this study indicate a high prevalence of toxoplasmosis in low-income population of Salvador and the importance of the presence of dogs and cats do not dewormed at the same transmission and distribution, since these are the natural hosts. The association of infection with social class of economically underprivileged individuals in the study is explained due to the low level of education and higiênicossanitárias in worse conditions experienced by these people and contact with animals not dewormed. These findings reinforce the role of infection by *T. canis* in the development of severe eosinophilia. The finding of asthma associated with infection by *T. canis* only the group with lower prevalence of infection indicates the need to investigate co-factors that may influence the association of infection with *T. canis* and asthma and allergy.

**Key words: *Toxocara canis*. Risk Factors. Eosinophilia. Allergy.**

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Frequência de variáveis pertinentes ao estudo de fatores de risco para infecção por *Toxocara canis* em indivíduos dos dois grupos estudados em Salvador, Bahia, Brasil. **23**
- Tabela 2.** Análises univariada e multivariada de fatores de risco da infecção por *Toxocara canis* na população do ICS, Salvador, Bahia, Brasil. **24**
- Tabela 3.** Análises univariada e multivariada de fatores de risco da infecção por *Toxocara canis* na população do bairro da Paz, Salvador, Bahia, Brasil. **25**
- Tabela 4.** Associação entre os grupos populacionais estudados e infecção por *T. canis*. **25**
- Tabela 5.** Frequência de variáveis pertinente ao estudo da infecção por *Toxocara canis* e doenças alérgicas em indivíduos dos dois grupos estudados. **27**
- Tabela 6.** Análise multivariada da infecção por *Toxocara canis* com eosinofilia  $\geq 4\%$  em dois grupos populacionais - Salvador, Bahia, 2003. **28**
- Tabela 7.** Análise multivariada da infecção por *Toxocara canis* com eosinofilia  $\geq 10\%$  em dois grupos populacionais - Salvador, Bahia, 2003. **29**
- Tabela 8.** Análise multivariada da associação entre infecção por *Toxocara canis* com atopia e alergia em dois grupos populacionais - Salvador, Bahia, 2003. **29**

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	11
1.1	<i>TOXOCARA CANIS</i> E LARVA MIGRANS VISCERAL	11
1.2	ALERGIAS RESPIRATÓRIAS	12
1.3	HELMINTOS E ALERGIA	14
<b>2</b>	<b>HIPÓTESES</b>	16
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	17
3.1	OBJETIVO GERAL	17
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	18
4.1	POPULAÇÃO DE ESTUDO	18
4.2	COLETA DE SANGUE, CONTAGEM DE EOSINÓFILOS E OBTENÇÃO DO SORO PARA REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS SOROLÓGICOS	19
4.3	MANIFESTAÇÕES ALÉRGICAS	19
4.4	TESTES DE PUNCTURA CUTÂNEOS	20
4.5	EXAMES PARASITOLÓGICOS DE FEZES	20
4.6	DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI- <i>T. CANIS</i>	20
4.6.1	Obtenção de antígeno secretório-excretório larval	20
4.6.2	Absorção dos soros com antígenos de <i>ascaris lumbricoides</i>	21
4.6.3	Ensaio imunoenzimático para detecção de igg anti- <i>t. canis</i>	22
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	22
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	24
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	32
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	38
	<b>REFERÊNCIAS</b>	39
	<b>ANEXOS (Manuscritos 1 e 2)</b>	47

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 TOXOCARA CANIS E LARVA MIGRANS VISCERAL

O *Toxocara canis* é um geohelminto cosmopolita cujo hospedeiro principal, o cão jovem, pode se infectar por ingestão de ovos presentes no ambiente, contendo a larva infectante que penetra na mucosa intestinal e faz o ciclo pulmonar clássico de algumas parasitoses intestinais (SILVA *et al.*, 1998). O ser humano se infecta ingerindo ovos maduros, entretanto as larvas do parasito neste hospedeiro não conseguem fazer o ciclo pulmonar e, conseqüentemente, nem o desenvolvimento no intestino, permanecendo por longo tempo migrando pelas vísceras e olhos, suscitando resposta inflamatória. A infecção pode ser assintomática (BASS *et al.*, 1978) ou pode ocasionar a enfermidade denominada *larva migrans* visceral (BEAVER *et al.*, 1952). Esta doença caracteriza-se por alterações pulmonares que se assemelham à asma e/ou manifestações sistêmicas de febre de curso prolongada e hepatoesplenomegalia. A larva morta pode suscitar a formação de granulomas na córnea, promovendo perda de visão parcial ou total (SHIELDS, 1984). O agente etiológico raramente pode ser encontrado em amostras de biópsia (GARCIA 2001; TAYLOR & HOLLAND 2001; MULLER, 2002). Existem as seguintes formas clínicas descritas de toxocaríase humana: a. larva *migrans* visceral (LMV); b. larva *migrans* ocular (LMO); c. forma meningoencefálica e d. forma oculta ou assintomática (TAYLOR, 1988; NATWANI *et al* 1992; RASMUSSEN *et al*, 1993).

A infecção humana por *T. canis* segundo Lynch *et al* (1993) é tão ou mais prevalente do que a ascaridíase. Em crianças de classe social baixa tem sido relatada em todo o mundo (THEODORIDIS *et al.*, 2001) porém a prevalência é maior em regiões tropicais e entre populações de baixa renda (CAMPOS JÚNIOR *et al.*, 2003; NOORDIN *et al.*, 2005). Soropositividade de 63.2 % para anticorpos anti-*T.canis* foi reportado em Bali por CHOMEL *et al* (1993) e de 20 % na Malásia (HAKIM *et al.*, 1993). No Brasil, inquéritos realizados em Recife - PE e em Campinas - SP relataram prevalências de anticorpos anti-*T.canis* de 39.4 % e 24.1 %, respectivamente (AGUIAR SANTOS *et al.*, 2004; ANAMURA FILHO *et al.*, 2003). Chieffi (2009) em uma revisão sobre o assunto relatou que a prevalência desta infecção

no Brasil descrita em 16 trabalhos variou de 3.2 % em cinco cidades do estado de São Paulo até 40.0 % em Pernambuco. Na Bahia, nenhum estudo populacional foi realizado para detectar a prevalência desta infecção, até o momento. Adicionalmente, praticamente 100 % das ninhadas de cadelas oriundas de comunidades carentes de Salvador são portadoras deste parasito (observação feita por integrantes do grupo de pesquisa, que costuma vermifugar filhotes de cães para obter formas adultas de *T. canis*). O contato íntimo da população em geral, e de crianças em particular, com filhotes de cães e gatos nos levou a crer que a prevalência de infecção por *T. canis* seria possivelmente alta nas populações de nível sócio-econômico baixo desta cidade.

A infecção por *T. canis* no ser humano é diagnosticada indiretamente, por meio da detecção de anticorpos no soro pela técnica de ELISA, utilizando-se como antígeno produtos excretados pela larva L3 cultivada por tempo prolongado em RPMI (CARLIER *et al.*, 1982) e mais recentemente com o uso de antígenos recombinantes (DE ANDRADE *et al.*, 2005). Os achados laboratoriais incluem eosinofilia acentuada, leucocitose, hipergamaglobulinemia e disfunção hepática (GILLESPIE *et al.*, 1993; MAGNAVAL *et al.*, 2001).

Por se tratar de uma doença pouco investigada e de difícil diagnóstico, e que pode ocorrer sem sintomatologia ou com sintomatologia polimórfica, o diagnóstico da LMV não é rotineiramente realizado e os indivíduos são tratados para outras patologias similares com resultados nem sempre satisfatórios (SANTOS *et al.*, 2009).

## 1.2 ALERGIAS RESPIRATÓRIAS E ATOPIA

Manifestações alérgicas são altamente prevalentes em muitas regiões do globo terrestre. Smith (1978) estimou que as alergias respiratórias atingiriam cerca de 20 a 30 % da população mundial. Dentre as alergias respiratórias, destaca-se a asma por ser uma das doenças crônicas mais comuns na infância (WONG *et al.*, 2001).

Atopia seria uma predisposição hereditária do sistema imune a privilegiar reações de hipersensibilidade mediada por IgE, em resposta a antígenos comuns na alimentação, no ambiente intra e extradomiciliar (RANCE, 2005; TAIEB, 2005).

A asma é conceituada como uma doença inflamatória, na maioria dos casos, acompanhada de hiperresponsividade brônquica, e caracterizada por resposta exagerada das vias aéreas a vários estímulos físicos, químicos ou farmacológicos, com limitação do fluxo aéreo. É considerada uma doença paroxística, que se manifesta por sibilos associados a uma grande quantidade de secreção. Seu conceito vem se tornando mais complexo, sendo considerada uma doença na qual interagem determinantes genéticos e ambientais (KAUFMAN & FRICK, 1976).

A rinite alérgica, outra doença respiratória em foco, é definida como um transtorno crônico sintomático nasal, induzido primariamente por exposição a alérgenos, com consequente inflamação da mucosa nasal mediada por resposta dependente de IgE. Esta se caracteriza pela presença de crises recorrentes de espirros, prurido nasal, descarga nasal hialina ou mucoide (anterior ou posterior) e obstrução nasal mais ou menos persistente. Podem ser desencadeada por alérgenos inaláveis (da poeira domiciliar), mas também por outros fatores irritativos à mucosa nasal, como ar frio, fumaça de cigarro e outros odores ou poluentes ambientais, além de agentes ocupacionais como isocianato, glutaraldeído, poeira de madeira, látex, trigo e pelos ou urina de animais de experimentação, dentre outros (WHO., 2007; BOUSQUET *et al.*, 2008).

Diversas doenças humanas são causadas por respostas imunes a antígenos inócuos (alérgenos). Estas são chamadas reações de hipersensibilidade tipo I e se caracterizam por uma diferenciação de células CD4+T<sub>H</sub>2 e produção de anticorpos de classe IgE, que são específicos para estas moléculas e se ligam aos receptores Fc de alta afinidade para IgE nos mastócitos e basófilos (FCεRI). Quando o alérgeno realiza ligação cruzada com estes anticorpos IgE associados a células, estas são ativadas para liberar mediadores inflamatórios (entre eles histamina, leucotrienos e prostaglandinas) que causam uma cascata de respostas inflamatórias que são características das reações alérgicas (ABBAS *et al.*, 2007; JANEWAY *et al.*, 2007).

### 1.3 HELMINTOS E ALERGIA

A distribuição das doenças alérgicas não é uniforme, sendo mais frequentes em países desenvolvidos e em regiões urbanas de países em desenvolvimento (ERB, 1989; YENEBERHAN *et al.*, 1997; SOLÉ *et al.*, 2001).

Strachan *et al* (1989) observaram que a febre do feno ocorria menos em crianças com irmãos mais velhos e em famílias numerosas, propondo, a partir destes resultados, a hipótese da higiene, que atribui à diminuição de patógenos ambientais, principalmente vírus, bactérias intracelulares e bactérias intestinais, as imunizações e ao uso de antibióticos utilizados nas populações dos países desenvolvidos e em zonas urbanas, o retardo da conversão do sistema imune Th2 (presente no recém-nascido e associados a alergia) para Th1 (presente nas demais fases da vida, que protege contra alergia) acarretando uma maior susceptibilidade para a aquisição de doenças alérgicas.

Infecções por parasitos intestinais, que suscitam um aumento de células Th2, vêm sendo associadas à diminuição de atopia e doenças alérgicas (ARAÚJO *et al.*, 2000; VAN DEN BIGGELAAR, 2000). Várias hipóteses foram levantadas para explicar estes achados: a produção de altos níveis de IgE policlonal suscitada pelos helmintos bloqueando os sítios de ligação da IgE específica em mastócitos; a elevação de IgG4, bloqueadora da ativação de mastócitos e finalmente a elevação das interleucinas regulatórias IL-10 e TGF-beta (YAZDANBAKSH *et al.*, 2002).

Estudos mais recentes têm demonstrado o papel imunoregulatório de antígenos de helmintos em geral melhorando condições inflamatórias, dentre eles podemos citar, o *Schistosoma mansoni* (MANGAN *et al.*, 2004), o *Trichuris muris* (RICK *et al.*, 2004), o *Ascaris lumbricoides* (GEIGER *et al.*, 2002) e filarídeos (IMAI & FUJITA, 2004). Esta imunomodulação pode ser em consequência da habilidade destes organismos em induzir resposta Th2 e agir sobre interleucinas imunoregulatória capazes de inibir reações alérgicas e de autoimunidade. Entretanto estão sendo demonstrados que os antígenos de helmintos

também podem ter um efeito antiinflamatório direto, agindo sobre a defesa inata como, por exemplo, sobre as células dendríticas (KANE *et al.*, 2004).

Vários estudos vêm demonstrando que a eosinofilia está associada com a toxocaríase humana, mas ainda há poucos estudos sorológicos acerca dessa relação. Em um estudo feito por Choi *et al* (2003), dos 15 pacientes estudados, 14 (93.3 %) apresentaram eosinofilia através dos testes sorológicos realizados. Kim *et al* (2008), no estudo realizado com pessoas saudáveis e com eosinofilia demonstraram uma prevalência de 67 % por meio do ensaio de immunoblot positivo para *T. canis* e 65 % pelo método ELISA.

A relação entre a infecção por *T. canis* e asma ainda é muito controversa. Estudos têm demonstrado que crianças asmáticas são mais susceptíveis para a infecção pelo *T. canis* do que crianças não asmáticas (DESOWITZ *et al.*, 1981; FIGUEIREDO *et al.*, 2005).

Estudos realizados pelo nosso grupo em Salvador mostraram que 60 a 80 % desta população possuía eosinófilos sanguíneos acima de 4 %, ou seja, acima de valores normais, entretanto, apenas 30 % possuíam parasitoses intestinais identificadas em parasitológico de fezes (JESUS, 2006). Outro trabalho do grupo, realizado em doadores de sangue, a despeito de não terem helmintíases intestinais, 27.2 % destes indivíduos possuíam eosinofilia acima de 4 % e 10.8 % acima de 10 % (DATTOLLI *et al.*, dados submetidos para publicação).

Dentro deste contexto, a relevância deste trabalho estar em demonstrar a prevalência da infecção por *T. canis* na população de dois grupos de indivíduos de Salvador e os fatores de risco de aquisição desta infecção, auxiliando no conhecimento da epidemiologia da LMV nesta cidade e se existe alguma correlação entre a eosinofilia presente na população estudada e a infecção por *T. canis*, além de verificar a associação desta helmintíase com atopia e alergias.



## **2 HIPÓTESES**

2.1 A infecção por *T. canis* na população carente de Salvador é alta

2.2 A eosinofilia elevada encontrada em indivíduos de Salvador pode estar associada com infecção por *T. canis*.

2.3 A infecção por *T. canis* pode se associar com atopia e alergias respiratórias.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a prevalência e os fatores de risco da infecção humana por *Toxocara canis* e avaliar a associação da mesma com eosinofilia, atopia, asma e rinite em dois grupos de indivíduos da cidade de Salvador-BA.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a soroprevalência da infecção por *T. canis* em dois grupos populacionais de Salvador;
- Determinar possíveis fatores de risco da infecção por *T. canis* nos grupos estudados;
- Associar a soroprevalência de anticorpos IgG anti-*Toxocara canis* com os desfechos: eosinofilia, atopia, rinite e asma na população do estudo.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO

Este trabalho foi realizado em Salvador, capital do Estado da Bahia, terceira cidade mais populosa do Brasil, com 2.714.977 habitantes (IBGE, 2006). Trata-se de um estudo transversal, sendo os dados coletados em inquérito realizado em 2003. Foi aplicado um questionário padronizado para coleta de dados demográficos e epidemiológicos sobre fatores de risco de aquisição de infecção por *T. canis* em dois grupos populacionais: Grupo 1. empregados da família de estudantes de medicina do Instituto de Ciências da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA). Estes indivíduos habitavam diversos bairros da cidade, predominantemente de classe C e D e Grupo 2. moradores do Bairro da Paz. As ruas do Bairro da Paz não tinham calçamento, não havia rede de esgotos, a coleta de lixo era precária e a densidade demográfica elevada. Nesse bairro, há uma grande população de cães e gatos abandonados, não havendo acesso a serviços veterinários. Estudos do nosso grupo verificaram uma soroprevalência de 85% de IgG anti-*T. canis* em cães deste bairro (ALCANTARA-NEVES *et al.*, dados submetidos para publicação). O grupo 1 foi composto por 350 indivíduos, sendo que destes, 150 realizaram coleta de sangue e Grupo 2 foi composto por 350 indivíduos sendo que 188 coletaram sangue para detectar anticorpos contra *T. canis*. Para análise, os indivíduos foram divididos de acordo com a faixa etária em: menor ou igual a quinze anos, entre dezesseis e vinte e cinco anos e maiores ou igual a 26 anos. A classe social foi determinada pelo método de Gallup (PEREIRA, 1999). Já para o estudo da infecção pelo *T. canis* e sua associação com doenças alérgicas, foi aplicado questionário ISAAC fase I para coleta de dados demográficos e epidemiológicos sobre fatores de risco para asma, rinite e atopia em dois grupos populacionais: Grupo 1. empregados de estudantes de medicina do Instituto de Ciências da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA) e Grupo 2. moradores do bairro da Paz. O grupo 1 foi composto por 350 indivíduos, sendo que destes, 129 coletaram sangue para detectar anticorpos contra *T. canis*. O Grupo 2 foi composto por 350 indivíduos sendo que 149 realizaram coleta de sangue, sendo que para as análises o critério adotado segue o mesmo descrito acima. Apenas os indivíduos que

possuíam sorologia para *T. canis* e informações completas sobre todas as variáveis estudadas foram incluídos nas análises do presente estudo.

Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética de pesquisas em seres humanos da Maternidade Climério de Oliveira da UFBA.

#### 4.2 COLETA DE SANGUE, CONTAGEM DE EOSINÓFILOS E OBTENÇÃO DO SORO PARA REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS SOROLÓGICOS

O sangue coletado foi usado para a contagem de eosinófilos utilizando o contador de células automático (Counter Electronics Hialeah Flórida, EUA) e o plasma foi criopreservado a – 20 °C até a realização do ensaio para detecção de IgG anti-*T. canis*.

#### 4.3 MANIFESTAÇÕES ALÉRGICAS

Informações sobre asma e rinite foram definidas segundo o questionário ISAAC fase I (ISAAC, 1998). O quadro de asma foi definido pela presença de sibilo nos últimos 12 meses e resposta positiva para pelo menos uma das seguintes características: (1) mais de 4 episódios de sibilância no último ano; (2) ter asma diagnóstica por médico; ou (3) fazer uso de remédio para asma. O quadro de rinite foi definido por presença de espirro, coriza, coceira no nariz na ausência de resfriado nos últimos 12 meses e resposta positiva para pelo menos uma das seguintes características: (1) mais de 4 episódios de espirro, coriza, coceira no nariz na ausência de resfriado no último ano; (2) sintomas nasais acompanhados de coceira nos olhos e/ou lacrimejamento; ou (3) rinite ou rinoconjuntivite diagnosticada por médico

#### 4.4 TESTES DE PUNCTURA CUTÂNEOS PARA AVALIAÇÃO DA ATOPIA

Testes cutâneos foram aplicados no antebraço direito de cada indivíduo usando extratos de *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis*, *Blattella germanica*, *Periplaneta americana*, fungos, e epitélio de cão e gato da ALERGOFAR – Laboratório de Produtos Alergênicos Ltda (Rio de Janeiro, Brasil). Salina e histamina foram usados como controle negativo e positivo, respectivamente. A reação lida após 15 minutos da aplicação dos alérgenos, foi considerada positiva quando a média dos dois maiores diâmetros da pápula teste foi três milímetros maior que dos dois maiores diâmetros da pápula do controle negativo.

#### 4.5 EXAMES PARASITOLÓGICOS DE FEZES

Com o objetivo de verificar a presença e influência de helmintos intestinais nas condições alérgicas, o exame parasitológico de fezes foi realizado em todos os participantes do estudo, pelo método de sedimentação gravitacional (HOFFMAN *et al.*, 1934).

#### 4.6 DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-*T. CANIS*

##### **4.6.1 Obtenção do antígeno secretório-excretório larval**

As larvas de *T. canis* foram obtidas de acordo com De Savigny (1975), modificado por Alcantara-Neves *et al* (2008). Resumidamente, cães recém-nascidos de cadelas não vermifugadas provenientes de populações carentes foram tratados com piperazina (100 mg/kg) e óleo mineral. As fêmeas de *T. canis* obtidas foram submetidas à remoção do útero, sendo os ovos incubados em formalina a 2 %, até se tornarem embrionados. As membranas

ovulares foram rompidas após incubação com 5 % de hipoclorito de sódio e as larvas liberadas foram purificadas por filtração em membrana de poliestireno de poros de 15 µm. Em seguida, as larvas foram cultivadas em meio RPMI (Sigma, St. Louis, MO, EUA) a 37 °C em incubadora de CO<sub>2</sub>, sendo os sobrenadantes do cultivo, contendo os antígenos excretórios e secretórios das larvas do *T. canis* (AESLTc) e fluoreto de fenilmetilsulfonamida (PMSF; Sigma, St. Louis, MO, EUA) 1 mM, criopreservados a – 70 °C até o uso. O AESLTc foi concentrado em filtro Amicon com poros permeáveis moléculas < 3000 kDa (Millipore Corporate, MA, EUA) e dialisado contra solução salina tamponada com fostato, pH 7.4 (PBS). O conteúdo protéico foi determinado pela técnica de Lowry *et al* (1951) e o antígeno aliquoteado e criopreservado a – 70 °C até o uso.

#### **4.6.2 Absorção dos soros com antígenos de *Ascaris lumbricoides***

Com o objetivo de eliminar reação cruzada entre anticorpos anti-*A. lumbricoides* e anti-*T. canis*, os soros foram absorvidos com antígeno somático de *A. lumbricoides*. O antígeno foi preparado a partir de vermes adultos, obtidos de crianças parasitadas e tratadas com albendazol e bisacodil 5 mg (Dulcolax®). Os vermes foram lavados em salina e triturados em triturador elétrico (Bead-Beartas; Biospec, Carolina do Norte, EUA) na presença de PBS contendo inibidores de proteases [Fluoreto de Fenilmetilsulfonil (PMSF), 1Mm; ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), 2 Mm; Tosil clorometil cetona fenilalanil (TPCK), 50µm e clorometil cetona tosila-L-lisina (TLCK), 50µm; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA]. A seguir, a suspensão foi centrifugada a 4000g por 15 minutos. A fração solúvel foi estocada a -70 ° C e o conteúdo protéico determinado pelo método de Lowry *et al* (1951).

Para a absorção os soros, juntamente com antígeno de *A. lumbricoides* a 4.0 mg/ml, PEG 15.000 a 15% (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA) e PBS foram incubados por 30 minutos sob homogeneização a temperatura de 8° a 4 °C, e posteriormente centrifugados por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado, re-absorvido e o sobrenadante da 2ª absorção foi conservado a – 70 °C, até realização do ensaio.

#### 4.6.3 Ensaio imunoenzimático para detecção de IgG anti-*T. canis*

Anticorpos IgG anti-*T. canis* foram detectados nos soros dos participantes do estudo por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA) indireto, utilizando-se o AESLTc, de acordo com De Savigny (1975). Resumidamente, poços de placas de microtitulação foram sensibilizados com 100 µL do antígeno a 3.5 µg/mL, em tampão carbonato-bicarbonato, durante 16 horas à temperatura de 4 °C. Os poços foram bloqueados com 200 µL de PBS contendo 0.05 % de tween 20 (PBS/T) e 10 % de soro bovino fetal (SBF; Cutilab, São Paulo, Brasil). A seguir, foram incubados sucessivamente com os soros (diluídos a 1:1000 em PBS/T/2,5% SBF), conjugado (anti-IgG humano biotilado (BD Pharmingen, San Diego, CA, USA) a 1:2000 e estreptoavidina-peroxidase (Streptoavidin-HRP, BD Pharmingen, San Diego, CA, USA) a 1:1000 diluídos em PBS/T/2,5%SBF) e substrato/cromógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e ortofenildietilamina; OPD; Pharmigen; San Diego, USA). O bloqueio da reação foi realizado com 25 µL de ácido sulfúrico 4N. A leitura foi realizada em espectrofotômetro com filtro de 492 nm. Entre todas as etapas, as placas foram lavadas com PBS/T por 4 ciclos e incubadas na temperatura ambiente por 60 minutos, exceto pelo substrato que foi incubado por 30 minutos. O ponto de corte do ensaio foi calculado com a média da densidade óptica mais 3 desvios padrões da média de 10 soros de indivíduos sem contato com cães e gatos e de classe social alta (soros negativos).

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados epidemiológicos foram codificados, digitados em banco de dados e analisados utilizando-se o software para análise de dados epidemiológicos SPSS 16.0. A prevalência de infecção por *T. canis* em diferentes grupos foi analisada pelo teste de Qui<sup>2</sup>. A investigação de fatores de risco envolvidos na infecção por *T. canis* foi analisada por regressão logística univariada e multivariada usando a infecção por *T. canis* como desfecho, idade e sexo como variáveis confundidoras *a priori*. Na população do ICS, a análise multivariada foi realizada com dois modelos ajustados por contato com cão ou contato com gato sucessivamente.

Pertencer à classe social mais baixa, contato com cães e gatos e morar no bairro da Paz foram consideradas variáveis de exposição. As características entre as duas populações foram comparadas pelo teste de Qui<sup>2</sup>. O Teste de Breslow Day foi usado para avaliar o poder de interação das infecções helmínticas na associação entre *T. canis* e asma. Para a associação entre infecção por *T. canis* e eosinofilia, atopia, rinite e asma, foram realizadas regressão logística bivariada e multivariada e obtenção de *odds ratio* (OR), com intervalo de confiança (CI) 95 %, ajustados por potenciais confundidores (gênero, idade, classe social, pais alérgicos e infecção helmíntica).



## 5 RESULTADOS

As características dos grupos populacionais estudados descritas na Tabela 1 demonstram que na população do Grupo 1, os indivíduos estavam homogeneamente distribuídos nas classes C (38 %; n = 57) e D e E (62 %; n = 93), enquanto que na população do bairro do Grupo 2, 77.7 % (n = 146) dos indivíduos faziam parte da classe social E. O contato com cães (64.4 %) e gatos (35.1 %) nos indivíduos do bairro do Grupo 2, foi mais frequente do que nos indivíduos do Grupo 1 (33.3 %) e (18.7 %) para cão e gato, respectivamente. A diferença entre os dois grupos foi estatisticamente significativa em ambos os contatos ( $p < 0.05$ ). O contato com ambos os animais, cães ou gatos, também foi maior na população do Grupo 2 (75 %) do que na do Grupo 1 (40.7%;  $p < 0,05$ ). O número de indivíduos infectados por *T. canis* foi maior na população do Grupo 2 (65.4 %), do que na população do Grupo 1 (52.0 %) ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 1.** Frequência de variáveis pertinentes ao estudo de fatores de risco para infecção por *Toxocara canis* em indivíduos do grupo do ICS e B. Paz - Salvador, Bahia, Brasil, 2003.

População do ICS		População do bairro da Paz		Valor de p (Qui <sup>2</sup> )
N= 150	n (%)	N= 188	n (%)	
<b>Classe social</b>		<b>Classe social</b>		
C	57 (38,0)	C e D	42 (22,3)	----
D e E	93 (62,0)	E	146 (77,7)	
<b>Idade (anos)</b>		<b>Idade (anos)</b>		
≤15	60 (40,0)	≤15	85 (45,2)	>0,05
16-25	29 (19,3)	16-25	40 (21,3)	
≥26	61 (40,7)	≥26	63 (33,5)	
<b>Contato com cão</b>		<b>Contato com cão</b>		
Sim	50 (33,3)	Sim	121(64,4)	<0,05
Não	100 (66,7)	Não	67 (35,6)	
<b>Contato com gato</b>		<b>Contato com gato</b>		
Sim	28 (18,7)	Sim	66 (35,1)	<0,05
Não	122 (81,3)	Não	122 (64,9)	
<b>Contato com cão ou gato</b>		<b>Contato com cão ou gato</b>		
Sim	61 (40,7)	Sim	141 (75,0)	<0,05
Não	89 (59,3)	Não	47 (25,0)	
<b>Infecção por <i>T. canis</i></b>		<b>Infecção por <i>T. canis</i></b>		
Positivo	78 (52,0)	Positivo	123 (65,4)	<0,05
Negativo	72 (48,0)	Negativo	65 (34,6)	

A Tabela 2 demonstra as associações entre as variáveis estudadas e a infecção por *T. canis* no Grupo 1. Não houve associação da infecção com sexo e idade. Quanto à classe social, foi demonstrado que indivíduos das classes D e E estavam mais infectados que aqueles da classe C, tanto na análise bruta (OR = 1.24; 95 % IC = 1.23; 4.73) quanto na multivariada. A infecção foi também positivamente associada com maior contato com cães (OR= 2.50; 95 % IC = 1.17; 5.37) e gatos (OR= 2.79; 95 % IC = 1.05; 7.39).

**Tabela 2.** Análises univariada e multivariada de fatores de risco da infecção por *Toxocara canis* e presença de Ac. Anti- *T. canis* na população do ICS - Salvador, Bahia, Brasil, 2003

N= 150 Variáveis	N(%)n	#OR bruta (CI 95%)	#OR ajustado (CI 95%)*	#OR ajustado (CI 95%)**
<b>Sexo</b>				
Feminino	33(58,9)/56	1	1	1
Masculino	45(47,9)/94	0,64(0,33;1,25)	0,57(0,27;1,21)	0,66(0,32;1,39)
<b>Idade</b>				
≤15	34(56,7)/60	1	1	1
16-25	12(41,4)/29	0,54(0,22;1,33)	0,85(0,32;2,26)	0,85(0,32;2,25)
≥26	32(52,5)/61	0,84(0,41;1,73)	1,35(0,60;3,05)	1,34(0,50;2,57)
<b>Classe social</b>				
C	22(38,6)/57	1	1	1
D e E	56(60,2)/93	<b>1,24(1,23;4,73)</b>	<b>3,06(1,42;6,57)</b>	<b>3,16(1,44;6,93)</b>
<b>Contato com cão</b>				
Não	47(47,0)/100	1	1	----
Sim	31(62,0)/50	1,84(0,92;3,68)	<b>2,50(1,17;5,37)</b>	
<b>Contato com gato</b>				
Não	60(49,2)/122	1	----	1
Sim	18(64,3)/28	1,86(0,80; 4,35)		<b>2,79(1,05;7,39)</b>

#Ajustado para sexo e idade; \*Modelo sem contato com gato; \*\*Modelo sem contato com cão.

Como demonstrado na Tabela 3, no Grupo 2 também não ocorreu associação da infecção por *T. canis* com sexo e idade. Com relação à classe social, demonstrou-se que indivíduos da classe E estavam mais infectados que aqueles da classe C e D, entretanto esta associação só foi estatisticamente significativa na análise bruta (OR= 2.04; IC 95 % = 1.01; 4.11). A associação com contato com cão foi positiva e estatisticamente significativa em ambas análises (OR bruta=2.70; 95 % IC = 1.44; 5.05) e (OR ajustada= 2.80; 95 % IC = 1.46; 5.38). Nesta população, não ocorreu associação entre contato com gato e infecção por *T. canis*.

**Tabela 3.** Análises univariada e multivariada de fatores de risco da infecção por *Toxocara canis* e presença de Ac. Anti- *T. canis* na população do bairro da Paz - Salvador, Bahia, Brasil, 2003.

N=188	N(%)n	OR (CI 95%)	OR ajustado (CI 95%)
<b>V ariáveis</b>			
<b>Sexo</b>			
Feminino	47(66,2)71	1	1
Masculino	76(65,0)117	0,95(0,51;1,76)	1,09(0,56;2,13)
<b>Idade</b>			
≤15	68(70,1)97	1	1
16-25	43(57,3)75	0,63(0,29;1,37)	0,85(0,32;2,26)
≥26	12(75,0)16	0,93(0,47;1,87)	1,35(0,60;3,05)
<b>Classe social</b>			
C e D	22(52,5)42	1	1
E	101(69,2)146	<b>2,04(1,01;4,11)</b>	1,80(0,87;3,74)
<b>Contato com cão</b>			
Não	34(50,7)67	1	1
Sim	89(73,6)121	<b>2,70(1,44;5,05)</b>	<b>2,80(1,46;5,38)</b>
<b>Contato com gato</b>			
Não	79(64,8)122	1	
Sim	44(67,8)66	1,09(0,58; 2,05)	-----

#Ajustado para sexo e idade.

A comparação entre a infecção por *T. canis* nos dois grupos estudados, utilizando a regressão logística, mostrou que habitar no bairro da Paz estava mais associado a ser infectado por este parasito, na análise bruta (OR = 1.75; 95 % IC= 1.13; 2.71) e na ajustada (OR = 1.77; 95 % IC= 1.13; 2.75) (Tabela 4).

**Tabela 4.** Associação entre os grupos populacionais estudados e infecção por *T. canis* na população do bairro da Paz - Salvador, Bahia, Brasil, 2003.

População	IgG anti- <i>Toxocara canis</i>		
	n(%)N	OR bruta (I.C. 95%)	#OR ajustada (IC95%)
ICS (n=150)	78(52,0)150	1	1
B. da Paz (n=188)	123(65,4)188	<b>1,75(1,13;2,71)</b>	<b>1,77(1,13;2,75)</b>

# Ajustada por sexo e idade.

As características dos grupos populacionais estudados, descritas na Tabela 5, demonstram que a maioria dos participantes envolvidos no estudo foram do sexo feminino e em ambos grupos populacionais as faixas etárias foram parecidas ( $p > 0.05$  em ambas análises). A presença de pais alérgicos apresentou uma frequência maior na população do Grupo 2 (36.9 % e 6.2 % respectivamente;  $p < 0.05$ ), assim como a eosinofilia a 4 % (76.5 % e 56.6 %;  $p < 0,00$ ) e a 10% (34.9 e 23.3 ;  $p < 0,034$ ; respectivamente). A frequência de infecção por helmintos foi semelhante nos dois grupos, 34.1 % no Grupo 1 e 38.9 % no Grupo 2, respectivamente ( $p > 0,05$ ). Indivíduos infectados pelo *T. canis*, apresentou uma maior frequência na população do Grupo 2 (69.8 %) do que na do Grupo 1 (50.4 %) ( $p < 0,001$ ).

**Tabela 5.** Frequência de variáveis pertinente ao estudo da infecção por *Toxocara canis* e doenças alérgicas em indivíduos do grupo do ICS e B. Paz – Salvador, Bahia, 2003.

N=278	ICS (n=129)	B. paz (n=149)	Qui2(p valor)
<b>Sexo</b>			
Feminino	83(64,3)	93(62,4)	0,740
Masculino	46(35,7)	56(37,6)	
<b>Idade</b>			
0-15	49(38,0)	68(45,6)	0,395
16-25	26(20,2)	29(19,5)	
≥26	54(41,9)	52(34,9)	
<b>Pais Alérgicos</b>			
Não	121(93,8)	94(63,1)	0,000
Sim	8(6,2)	55(36,9)	
<b>Eosinofilia &gt;4%</b>			
Não	56(43,4)	35(23,5)	0,000
Sim	73(56,6)	114(76,5)	
<b>Eosinofilia &gt;10%</b>			
Não	99(76,7)	97(65,1)	0,034
Sim	30(23,3)	52(34,9)	
<b>Infecção por</b>			
<b>Helmintos</b>			
Negativo	85(65,9)	91(61,1)	0,406
Positivo	44(34,1)	58(38,9)	
<b>Infecção por <i>T. canis</i></b>			
Negativo	64(49,6)	45(30,2)	0,001
Positivo	65(50,4)	104(69,8)	
<b>Atopia</b>			
Não	80(62,0)	89(59,7)	0,697
Sim	49(38,0)	60(40,3)	
<b>Asma</b>			
Não	114(88,4)	136(91,3)	0,423
Sim	15(11,6)	13(8,7)	
<b>Rinite</b>			
Não	94(72,9)	111(74,5)	0,758
Sim	35(27,1)	38(25,5)	

**Tabela 6.** Análise multivariada da infecção por *Toxocara canis* com eosinofilia  $\geq 4\%$  no grupo do ICS e B. Paz - Salvador, Bahia, 2003.

IgG anti- <i>T. canis</i>	Eosinofilia $\geq 4\%$				
	n(%) / N	OR(I.C.95%)	Valor de P	OR ajustada (I.C.95%)*	Valor de P
<b>ICS (N=129)</b>					
Negativo	28(43,8)/64	1	0,004	1	0,05
Positivo	45(69,2)/65	<b>2,89(1,41;5,96)</b>		<b>2,19(1,00;4,81)</b>	
<b>B. Paz (N=149)</b>					
Negativo	32(71,1)/45	1	0,307	1	0,74
Positivo	82(78,8)/104	1,51(0,68;3,36)		1,16(0,49;2,71)	

\* Ajustado por: gênero, idade, classe social, pais alérgicos e infecção helmíntica

A infecção por *T. canis* foi positivamente associada à eosinofilia  $\geq 4\%$  na população do Grupo 1, tanto na análise bruta (OR= 2.89; 95 % IC= 1.41; 5.96;  $p < 0,05$ ) quanto na análise ajustada (OR= 2.19; 95 % IC= 1.00; 4.81) (Tabela 6).

Quanto à eosinofilia  $\geq 10\%$ , as análises de correlação demonstraram associação positiva e com significância estatística na análise bruta (OR= 2.92; 95 % IC= 1.22; 7.00) e “*bordeline*” na análise ajustada (OR = 2.48; 95 % IC = 0.97; 6.32). Quanto ao grupo populacional do Grupo 2, apenas para a eosinofilia  $\geq 10\%$  foi positivamente associada com a infecção por *T. canis* nas duas análises, bruta (OR = 3.39; 95 % IC = 1.44; 8.00) e ajustada (OR= 2.89; 95 % IC = 1.19; 7.01) (Tabela 7).

**Tabela 7.** Análise multivariada da infecção por *Toxocara canis* com eosinofilia  $\geq 10\%$  no grupo do ICS e B. Paz - Salvador, Bahia, 2003.

IgG anti- <i>T. canis</i>	Eosinofilia $\geq 10\%$				
	n(%) / N	OR(I.C.95%)	Valor de P	OR ajustada OR(I.C.95%)*	Valor de P
<b>ICS (N=129)</b>					
Negativo	9(14,1)/64	1	0,014	1	0,058
Positivo	21(32,3)/65	<b>2,92(1,22;7,00)</b>		2,48(0,97;6,32)	
<b>B. Paz (N=149)</b>					
Negativo	8(17,8)/45	1	0,004	1	0,019
Positivo	44(42,3)/104	<b>3,39(1,44;8,00)</b>		<b>2,89(1,19;7,01)</b>	

\* Ajustado por: gênero, idade, classe social, pais alérgicos e infecção helmíntica

Na Tabela 8 está demonstrado o modelo de análise multivariada que utilizamos para estudar a associação da infecção pelo *T. canis* com os desfechos: atopia, rinite e asma. Somente foi encontrada associação positiva estatisticamente significativa para asma nos indivíduos do ICS (OR = 4.83; 95 %; IC = 1.11; 21.11).

**Tabela 8.** Análise multivariada da associação entre infecção por *Toxocara canis* com atopia e alergia no grupo do ICS e B. Paz - Salvador, Bahia, 2003.

IgG anti- <i>T. canis</i>	Atopia		Rinite		Asma	
	n(%) N	*OR ajustada (I.C.95%)	n(%) N	*OR ajustada (I.C.95%)	n(%) N	*OR ajustada (I.C.95%)
População do ICS (N=129)						
Negativo	24(37,5) 64	1	18(28,1) 64	1	4(6,3) 64	1
Positivo	25(38,5) 65	1,11 (0,52;2,38)	17(26,2)/65	1,19 (0,50;2,81)	11(16,9)/65	<b>4,83</b> <b>(1,11;21,11)</b>
População do Bairro da Paz (N=149)						
Negativo	21(46,7) 45	1	13(28,9) 45	1	5(11,1)/45	1
Positivo	39(37,5) 104	0,69 (0,33;1,46)	25(24,0) 104	0,76 (0,36;2,13)	8(7,7) 104	0,56 (0,16;1,97)

\*Ajustado por: gênero, idade, índice social, pais alérgicos e infecção helmíntica.



## 6 DISCUSSÃO

As prevalências da infecção pelo *T. canis* nos dois grupos populacionais estudados diferiram, tendo o Grupo 2 a maior prevalência descrita no Brasil (65 %), em comparação com outros relatos e uma revisão de literatura realizada por Chieffi *et al* (2009), que abrangeu dezesseis trabalhos em diversas regiões do Brasil. Outros trabalhos realizados em países desenvolvidos Hotez *et al* (2009) ou em desenvolvimento também relatam menores prevalências (ROLDÁN *et al.*, 2010). No presente estudo, mostramos que Salvador possui uma das maiores taxas descritas no Brasil e possivelmente no mundo.

A possibilidade do teste ELISA indireto realizado ter baixa especificidade, e com isso detectar falsos positivos, pode ser descartada, uma vez que o nosso ensaio foi realizado com maiores diluições dos soros que as descritas em outros trabalhos (ESPINOZA *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2009). Além disso, em Salvador, os helmintos comumente encontrados são *A. lumbricoides* e *Trichuris trichiura*. Assim sendo, quando os soros foram absorvidos com antígeno somático do *A. lumbricoides*, se tornaram negativos para anticorpos que reagem cruzadamente com esses parasitos e também com *T. trichiura* como foi demonstrado em ensaio que realizamos, onde os soros absorvidos com antígeno de *A. lumbricoides*, também absorvia os anticorpos que reagem cruzado com *T. trichiura*. Dessa forma, os anticorpos detectados no ensaio ELISA aplicado no presente estudo certamente eram específicos para o gênero *Toxocara*.

Entre os indivíduos estudados, observamos uma maior prevalência de infecção na faixa etária de até 15 anos. Outros estudos demonstram achados semelhantes, sendo observada uma maior porcentagem de infecção em indivíduos com idade inferior a 15 anos (RADMAN *et al.*, 2000). Coelho *et al* (2004) descreveram que a infecção por *T. canis* era mais prevalente em crianças, diagnosticando a infecção em 38.3 % das crianças estudadas. Espinoza *et al* (2008), determinaram uma soropositividade de 32.4 % no Peru e no Brasil, entre crianças de 5 e 10 anos de idade. Essa maior prevalência em indivíduos mais novos pode ser explicada devido ao fato dessa população ter maior contato com cães e gatos, ter piores hábitos higiênicos e utilizar áreas de uso coletivo como praças e parques. Vários estudos apontam para uma alta

contaminação do solo em praças de recreação e praias. Em Teodoro Sampaio (SP), 21.5 % das amostras de solo estavam contaminadas por ovos de *T. canis* e em Salvador (BA) foram encontradas frequências em torno de 30 % de contaminação do solo por ovos desse helminto (SANTOS *et al.*, 2006; PRESTES-CARNEIRO *et al.*, 2009).

No entanto, os dados acima citados são bem inferiores aos descritos para Santa Maria (RS), com 91.7 %, das amostras de solo contaminadas, por CORRÊA *et al* (1995) para Sorocaba (SP) com 53.3 % de contaminação, por COELHO *et al* (2001) para o Rio de Janeiro (RJ) com 41.6 % de contaminação (FERREIRA *et al.*, 1976). Maus hábitos de higiene, como a manipulação de alimentos com as mãos sujas após contato com animal parasitado ou com solo contaminado, contribuem significativamente para o aumento da prevalência desta infecção no homem.

A classe social foi outra variável associada à infecção por esse helminto em nossos resultados, onde quanto mais baixa a classe social, maior o risco de infecção pelo *T. canis*. Essa associação pode estar relacionada com um menor esclarecimento quanto às formas de infecção, como manipular cães e gatos, principalmente devido à ausência total ou parcial de vermifugação desses animais, decorrente do não acesso a serviços veterinários por parte das populações de baixo poder aquisitivo. Assim, o uso de vermífugos para os animais domésticos seria a medida mais eficaz para a redução da prevalência da infecção nos mesmos, reduzindo dessa forma a infecção humana. Outro hábito que pode contribuir diretamente para a infecção do homem pelo *T. canis* é o contato íntimo com animais infectados, por exemplo, permiti-los deitarem em suas camas, uma vez que é freqüente o encontro de ovos embrionados de *T. canis* em pêlos desses animais. Aydenizöz-Özkaihan *et al* (2008) observaram a presença de ovos em amostras de pêlos de 21.57 % dos cães estudados, enquanto que Roddie *et al* (2008) verificaram tal achado em 67 % das amostras.

Muitos trabalhos apontam o contato do homem com o cão como o maior fator de risco de infecção humana pelo *T. canis*. Em uma de nossas análises, utilizando um modelo de análise logística excludente para contato com cão ou gato, o contato com gato demonstrou está significativamente associado com infecção por *T. canis* na população do ICS. Isto demonstra que a IgG detectada no ensaio utilizando antígenos secretórios-excretórios de larvas de *T.*

*canis* pode ser suscitada pela infecção com *T. cati* e que torna-se necessário desenvolver um ensaio espécie-específico para este gênero de forma a tornar possível o estudo do papel do gato na epidemiologia da LMV. Um achado difícil de explicar foi a ausência de associação de infecção por *T. canis* com contato com gatos na população do Grupo 2, uma vez que o poder de estudo nesta população foi maior do que a da população do Grupo 1. Uma hipótese plausível seria que no Grupo 2 exista maior quantidade de ruas não calçadas e terrenos baldios onde os gatos podem facilmente enterrar suas fezes evitando o contato do parasito com os seres humanos, do que nos bairros habitados pela população do Grupo 1.

O papel da infecção por *T. canis* na ocorrência de asma e alergias tem sido objeto de estudo de alguns trabalhos, porém resultados controversos entre os diferentes estudos não nos permite afirmar o verdadeiro papel desse helminto nas enfermidades alérgicas. Por exemplo, Gonzalez-Quintela *et al* (2006) em uma população de adultos, encontraram infecção por *T. canis* associada positivamente com teste de puntura cutâneo para alérgenos de ácaros porém não com asma. Já Chan *et al* (2001) encontraram uma associação positiva entre infecção por este helminto e asma em crianças malasianas; Kustimur *et al* (2007) não encontraram associação de asma atópica ou não atópica com esta infecção. Enquanto Yarikas *et al* (2007) encontraram associação positiva entre infecção por *T. canis* e rinite. No presente estudo, foi investigada a associação desta infecção com eosinofilia, asma, rinite e atopia, comparativamente, entre as duas populações citadas no presente estudo. Apesar de ambas as populações serem de classes sociais baixas, a população do Grupo 1, consistia de mais indivíduos das classes C e D enquanto o Grupo 2, consistia de mais indivíduos inseridos na classe E.

A associação positiva entre *T. canis* e eosinofilia já foi bem definida na literatura (JACOB *et al.*, 1994). Estudos mostram que em infecções agudas por este helminto, o percentual de eosinófilos no sangue aumenta significativamente, podendo ser superior a 80 % dos leucócitos totais (SAPUNAR & FARDELLA 1999). A LMV está altamente relacionada com a síndrome hipereosinofílica (OVERGAAUW, 1997). O presente estudo mostrou uma associação positiva entre *T. canis* e eosinofilia  $\geq 10$  % em ambas as populações avaliadas, evidenciando o papel preponderante desta infecção em estimular a produção de eosinófilos. No entanto, na associação com eosinofilia mais discreta, em contagens  $\geq 4$  %, a infecção por

*T. canis*, o resultado foi estatisticamente significativo apenas nos indivíduos do Grupo 1. Considerando que a população do Grupo 2 era constituída de indivíduos de classe social baixa, vivendo em condições sanitárias precárias e com baixo nível de instrução, pode-se considerar que outras causas de eosinofilia como escabiose e outras infecções parasitárias possam estimular a produção de eosinófilos nesta população. Esses aspectos podem justificar, assim, a ausência de significância estatística na associação entre *T. canis* com níveis mais baixos de eosinofilia nos indivíduos do Grupo 2. A investigação da associação entre esta infecção e eosinófilos no presente trabalho é justificada pelo relevante papel dessas células tanto no combate a infecções helmínticas quanto na imunopatogênese da asma e outras alergias (PÉREZ-ARELLANO *et al.*, 2004).

O fato da infecção por *T. canis* ser uma condição negligenciada pelos órgãos de saúde pública e pela classe médica, somado às crescentes evidências do papel das infecções helmínticas nas doenças alérgicas (VAN RIET *et al.*, 2007), fazem com que o melhor entendimento da infecção por *T. canis* na asma e alergias venha sendo alvo crescente de investigações (COOPER, 2008). Por outro lado, a carência de serviços veterinários, principalmente às camadas economicamente desfavorecidas da população, tem uma importância fundamental no aumento da incidência de zoonoses, assim como ocorre com a infecção por *T. canis*, que é facilmente controlada pela utilização periódica de anti-helmínticos em animais de estimação.

No presente estudo, foi investigada a associação entre infecção por *T. canis* com atopia, asma e rinite. Apenas a ocorrência de asma apresentou associação positiva e estatisticamente significativa com infecção por *T. canis*, porém somente no Grupo 1. Na literatura, muitos trabalhos vêm sugerindo uma possível relação causal entre asma e infecção por *T. canis*. Manifestações clínicas como produção de muco pelas vias aéreas, sibilo e tosse, sinais comuns em indivíduos com asma, também são características apresentadas por indivíduos com a LMV (PINELLI *et al.*, 2008). Estudos em crianças e adultos vêm demonstrando maior prevalência desta infecção entre indivíduos asmáticos (KUSTIMUR *et al.*, 2007; CHAN *et al.*, 2001). Chan *et al.* (2001), encontraram uma prevalência de infecção por *Toxocara* de 21.2 % em crianças malasianas asmáticas comparado com 8.6 % no grupo controle não-asmático. Estudos com modelos experimentais, como o desenvolvido por PINELLI *et al.* (2008),

demonstrando que infecção prévia por *T. canis* em camundongos resultou em exacerbação da inflamação alérgica das vias aéreas, corroboram os achados epidemiológicos supracitados.

A relação positiva encontrada nesses estudos é justificada pelo fato de que apesar das larvas de *T. canis*, em humanos, não chegarem ao estágio adulto, elas podem sobreviver por longo tempo no corpo do hospedeiro, infectando vários órgãos, dentre eles os pulmões (DESPOMMIER, 2003). Essa associação positiva é ainda imunologicamente justificada pelo perfil Th2 compartilhado por ambas, infecção helmíntica e manifestações alérgicas, caracterizadas por maior produção de IgE e eosinofilia (TAYLOR *et al.*, 1988). Apesar de não ter havido associação entre rinite e atopia em nossa população, outros estudos mostraram uma relação positiva entre esses desfechos e infecção por *Toxocara* (YARIKTAS *et al.*, 2007).

O achado que mais despertou a nossa atenção foi o fato de que, quando comparadas as duas populações, houve uma inversão do sentido da associação de *T. canis* com os desfechos alérgicos (atopia, asma e rinite). Os resultados sugerem que na população com melhores condições de vida, a infecção por *T. canis* age como um fator de risco para o desencadeamento das manifestações alérgicas, ao passo que na população de baixo poder aquisitivo, aparentemente a infecção teria um papel protetor. Entretanto os dados do presente estudo, referendando esse achado, não tiveram poder estatístico para tornar as associações estatisticamente significantes. A exceção foi no caso da associação positiva entre asma e infecção por *T. canis* na população do Grupo 1.

Assumindo uma relação causal entre *T. canis* e esses desfechos, alguns fatores, sugeridos por Cooper (2008), podem ser determinantes para a melhor compreensão dos nossos achados. O primeiro é o Tempo – mais especificamente quando ocorreu a primeira infecção: quanto mais cedo o contato com o parasito, maior é a chance da indução de uma resposta imunomoduladora capaz de suprimir a inflamação alérgica (COOPER *et al.*, 2006). A segunda é a Intensidade da infecção – altas cargas parasitárias são capazes de induzir uma resposta imune regulatória capaz de conter uma resposta alérgica, ao passo que infecções leves podem apresentar o efeito oposto (TAYLOR *et al.*, 1988). Considerando que a população do Grupo 2 vive em piores condições socioeconômicas/ambientais, ela conseqüentemente tem maior contato com agentes infecciosos de diversas origens, capazes de

exercer mais intensamente um papel imunomodulador sobre doenças inflamatórias do que a população de outros bairros de Salvador Grupo 1. Como de acordo com nossos achados, a população do Grupo 2 possui maior frequência de eosinofilia e de infecção por *T. canis*, acreditamos que, de fato os fatores tempo e intensidade de infecção possam ter determinado os achados divergentes entre as duas populações estudadas.

A discrepância dos dados da literatura em relação à associação de infecção por *T. canis* com atopia e alergia pode ser devida a diferentes fatores como sejam: (1) diferenças sócioeconômicas entre as populações estudadas; (2) a maioria das publicações sobre a associação desta parasitose com estes desfechos estudados, inclusive o nosso, tem amostragem (no. de indivíduos) pequena. Isto diminui o poder de observar diferenças entre populações estudadas; (3) a utilização de indivíduos com faixa etária ampla diminui a chance de encontrar as associações procuradas. Portanto, novos trabalhos utilizando amostras maiores e indivíduos de faixa etária mais restrita, como crianças, são necessários para esclarecer a existência de associações entre esta parasitose com atopia e alergia e estudos prospectivos são necessários para investigar o papel deste helminto na causalidade destas afecções.

## 7 CONCLUSÃO

- Os resultados obtidos neste estudo apontam para a alta prevalência desta parasitose em população de baixa renda de Salvador e a importância da presença de cães e gatos não vermifugados na veiculação e disseminação da mesma, uma vez que estes são os hospedeiros naturais.

- A associação desta infecção com classe social economicamente menos favorecida dos indivíduos do estudo, pode estar relacionada com o baixo nível de escolaridade e piores condições higiênicossanitárias em que vivem estas pessoas e ao contato com animais não vermifugados.

- Estes achados reforçam o papel da infecção por *T. canis* no desenvolvimento de eosinofilia. O achado de asma associado com infecção por *T. canis* apenas no grupo com menor prevalência da infecção denota a necessidade de investigar co-fatores que possam influenciar na associação de infecção por *T. canis* com asma e alergia.

- Torna-se importante a conscientização dos profissionais da saúde e dos poderes públicos de que a LMV é um problema de saúde pública.

- Medidas de prevenção, incluindo o oferecimento de serviços veterinários públicos, o combate à propagação da população canina e felina de rua e o diagnóstico e tratamento dos casos em animais de estimação e dos seres humanos, são necessários para o controle dessa zoonose pouco investigada em nossa região.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, AK; LICHTMAN, AH; PILLAIS. **Cellular and Molecular Immunology**. 6ed. Philadelphia: Ed. Saunders Elsevier, 2007.

ALCÂNTARA-NEVES, NM Et al. An improved method to obtain antigen-excreting *Toxocara canis* larvae. **Experimental Parasitology**. N.119. 2008

AGUIAR-SANTOS AM Et al. Human toxocariasis: frequency of anti-*Toxocara* antibodies in children and adolescents from an outpatient clinic for lymphatic filariasis in Recife, Northeast Brazil. **Rev Inst Med Trop São Paulo**. Mar-Apr, n.46(2), 2004.

ARAÚJO MI Et al: Inverse association between skin response to aeroallergens and *Schistosoma mansoni* infection. **Int Arch Allergy Immunol**. Oct, n.123(2), 2000.

AYDENIZO-OZKAYHAN M; YAGCI BB, ERAT S. The investigation of *Toxocara canis* eggs in coats of different dog breeds as a potential transmission route in human toxocariasis. **Vet Parasitol**. N.152(1-2), 2008.

ANAMURA FILHO, F Et al. Human toxocariasis: incidence among residents in the outskirts of Campinas, State of Sao Paulo, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**. Sep-Oct, n.45(5), 2003.

BASS JL. Et al. Asymptomatic toxocariasis in children: a prospective study and a treatment trial. **Clin Pediatrics**. N.26, 1987.

BEAVER, PC; SNYDER, H; CARRERA, G. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans: report of three cases. **Pediatrics**. N.9, 1952.

BOUSQUET J, KHALTAEV N, CRUZ AA. et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA). **Allergy**. V.63, suppl.86, 2008.

CAMPOS JUNIOR D, ELEFANT GR, SILVA EOM. Frequência de soropositividade para antígenos de *Toxocara canis* em crianças de classes sociais diferentes. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**. V.36, n.4, jul/ago, 2003.



CAMPOS H.S.; MACHADO J. L.; GONFIERI, J. H. Sintomas respiratórios, bronquite crônica e asma na população urbana de Cascavel, PR. **Resultados da aplicação de um questionário padronizado numa amostra da população**, 1994.

CARLIER, Y. et al. The use of an excretory-secretory  $\mu$ antigen for an ELISA-specific serodiagnosis of visceral larva migrans. **Biomedicine**. N.36, 1982.

CHAN, PW. et al. Toxocara seroprevalence and childhood asthma among Malaysian children. **Pediatr Int**. N.43(4), 2001.

CHIFFI, PP. et al. Human toxocariasis: contribution by Brazilian researchers. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**. N.51(6), 2009.

CHOMEL, BB. et al. Serosurvey of some major zoonotic infections in children and teenagers in Bali, Indonesia. *South East Asian J. Trop. Med. Pub. Health*. N.24, 1993.

CHOI, JH. et al. Clinical significance of serum ECP and sero-prevalence of human toxocariasis in patients with eosinophilia. **J Asthma Allergy Clin Immunol**. N.23, 2003.

COELHO, LMPS. et al. Human Toxocariasis: a Seroepidemiological Survey in Schoolchildren of Sorocaba, Brazil. **Mem. Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro. N.99(6), 2004.

COELHO LMPS. *Toxocara* spp. eggs in public squares of Sorocaba, São Paulo State, Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**. N.43, 2001.

CORRÊA, GLB. et al. Contaminação do solo por ovos, larvas de helmintos e oocistos de protozoários, em praças públicas de Santa Maria e sua importância em saúde pública. **Rev Bras Parasitol Vet**. N.4, 1995.

COOPER, PJ; BARRETO, M; RODRIGUES, LC. Human allergy and intestinal helminth infections: a review of the literature and discussion of a conceptual model to investigate the possible causal association. **Br Med Bull**. N.79-80, 2006.

COOPER, PJ. *Toxocara canis* infection: an important and neglected environmental risk factor for asthma? **Clin Exp Allergy**. N.38(4), 2008.

DESPOMMIER D. Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. **Clin Microbiol Rev.** N.16, 2003.

DESOWITZ, RS; RUDOY, R; BARNWELL, JW. Antibodies to canine helminth parasites in asthmatics and non-asthmatic children. **Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.** N.65, 1981.

DE SAVIGNY, DH. In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of Toxocara ES antigen for the uses in serodiagnostic tests for visceral larva migrans. **Journal of Parasitology.** N.61, 1975.

ERB, KJ. Atopic disorders: a default pathway in the absence of infection? **Immunol Today.** N.20, 1999.

ESPINOZA, YA. et al. Clinical and serological evidence of Toxocara infection in school children from Morrope district, Lambayeque, Peru. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo.** N.50(2), 2008.

FERREIRA, LF; OLIVEIRA, EL; CAMILO-COURA, L. Sobre a presença de ovos de *Toxocara*, em praças da cidade do Rio de Janeiro. **Rev. Soc. bras. Med. Trop.** N.10, 1976.

FIGUEIREDO, SD. et al. Estudo clínico-epidemiológico da toxocaríase em população infantil. **J. Pediatr.** N.81, 2005.

GARCIA, LS. **Diagnostic Medical Parasitology.** 4 ed. Washington: ASM Press, 2001.

GEIGER, SM. et al. Cellular responses and cytokine profiles in *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* infected patients. **Parasite Immunol.** N.24(11-12), Nov-Dec 2002.

GILLESPIE, SH. et al. Diagnosis of human toxocariasis by antigen capture enzyme linked immunosorbent assay. **J. Clin. Pathol.** N.46, 1993.

HAKIM, SL; MAK, JW; LAM, PL. Seropositivity for *Toxocara canis* antibodies in Malaysia 1989–1991. **Med. J. Malaysia.** N.48, 1993.

HOFFMAN, WA; PONS, JA; JANER, JL. The sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. Puerto Rico. **J publ Hlth.** N.9, 1934.

HOTEZ, PJ; WILKINS, PP. Toxocariasis: America's Most Common Neglected Infection of Poverty and a Helminthiasis of Global Importance? **PLoS Negl Trop Dis.** N.3(3), 2009.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – 2006.  
Disponível em: [www.ibge.gov.br/cidades/default.php](http://www.ibge.gov.br/cidades/default.php) Acesso em: 05 mar 2010.

IMAI, S; FUJITA, K. Molecules of parasites as immunomodulatory drugs. **Curr Top Med Chem.** N.4, 2004.

JACOB, CMA. et al. Clinical and Laboratorial features of visceral Toxocariasis in infancy. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.** N.36, 1994.

JANEWAY, CA. et al. **Imunobiologia: o sistema Imunológico na saúde e na doença.** Porto Alegre: Artmed, 2007.

JESUS JR de. **Investigação sobre Associação entre Ácaros da poeira, Atopia, Manifestações Alérgicas e Infecções Intestinais Helmínticas.** [Dissertação de Mestrado] 2006.

KANE, CM. et al. Helminth antigens modulate TLR-initiated dendritic cells activation. **J. immunology.** N.173(12), 2004.

KAUFMAN, HS; FRICK, OL. The development of allergy in infants of allergic parents: A prospective study concerning the role of heredity. **Ann Allergy.** N.37, 1976.

KIM, Y.H.; HUH, S; CHUNG, Y.B. Seroprevalence of toxocariasis among healthy people with eosinophilia. **Korean J. Parasit.** N.46, 2008.

KLION, AD; NUTMAN; TB. The role of eosinophils in host defense against helminth parasites. **J. Allergy clin. Immunol.** N.113, 2004.

KUSTIMUR, S. et al. Toxocara seroprevalence in adults with bronchial asthma. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** N.101(3), 2007.

KWON, NH. et al. The prevalence and diagnostic value of toxocariasis in unknown eosinophilia. **Ann. Hemat.,** N.85, 2006.

YARIKTAS, M. et al. Relationship between *Toxocara* seropositivity and allergic rhinitis. **Am J Rhinol**. N.21(2), 2007.

YAZDANBAKHSI, M; KREMSNER, PG; VAN REE, R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. **Science**. N.19-296(5567), Apr 2002.

YEMANEBERHAN J. Prevalence of wheeze and relation to atopy in urban and rural Ethiopia. **Lancet** **350**. N.85-90, 1997.

LYNCH, NR. Comparable seropositivity for ascariasis and toxocariasis in tropical slum children : **Parasitol Res**. N.79(7), 1993.

LOWRY, OH. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J Biol Chem**. N.193, 1951.

MAIZELS, RM. Helminth parasites masters of regulation Immunological. **Reviews**. Vol. 201: N.89-116, 2004.

MANGAN, NE. et al. Helminth infection protects mice from anaphylaxis via IL-10-producing B cells. **J Immunol**. N.173(10), Nov 2004.

MAGNAVAL, JF. et al. Highlights of human toxocariasis. **Korean J. Parasitol**. N.39, 2001.

MULLER R. **Worms and Human Disease**. 2nd ed . UK:CABI Publishing, 2002.

NATWANI, D; LOING, RB; CURRIE, PE. Covert toxocariasis, a cause of recurrent abdominal pain in childhood. **Br J Clin Prat**. N.46, 1992.

NOORDIN, R. et al. Comparison of IgG-ELISA and IgG4-ELISA for *Toxocara* serodiagnosis. **Acta Tropical**. N.93, 2005.

OVERGAAUW PAM. Aspects of *Toxocara* epidemiology: human toxocarosis. **Critical Reviews in Microbiology**. N.23, 1997.

PEREIRA MG. **Epidemiologia: teoria e prática**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1999.

PRESTES-CARNEIRO, LE. et al. Sero-epidemiology of toxocariasis in a rural settlement in São Paulo State, Brazil. **Ann. trop. Med. Parasit.** N.102, 2009.

PINELLI, E. et al. Infection with the roundworm *Toxocara canis* leads to exacerbation of experimental allergic airway inflammation. **Clin Exp Allergy.** N.38(4), 2008.

RADMAN, NE. et al. Human Toxocarosis. Its Seroprevalence in the City of La Plata. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** Rio de Janeiro. N.95(3), 2000.

RANCÉ, F. Quelle est l'utilité des examens complémentaires pour le diagnostic et la prise en charge de la dermatite atopique? **Ann Dermatol Veneréol.** N.132, 2005.

RASMUSSEN, LN; DIRDAL, M; BIRKEBECK, NH. "Covert toxocariasis" in a child treated with low dose diethylcarbamazine. **Acta Paediatr.** N.82, 1993.

ROLDAN, William H. et al . Human toxocariasis: a seroepidemiological survey in the Amazonian city of Yurimaguas, Peru. São Paulo. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo.** V.52, n.1, Feb. 2010.

RODDIE, G. et al. Contamination of dog hair with eggs of *Toxocara canis*. **Veterinary Parasitology.** N.152, 2008.

SANTOS, GM dos. et al. Seroepidemiological investigation on visceral larva migrans by *Toxocara canis* in health service users from Goiania, Brazil. **Rev. patol. Trop.** N.38(3), 2009.

SANTOS, NM. et al. Contaminação das praias por parasitos caninos de importância zoonótica na orla da parte alta da cidade de Salvador-Ba. **R. Ci. méd. biol.** N.5(1), 2006.

SAPUNAR, J; FARDELLA, P. Larva migrante visceral (toxocariasis humana) causa de hipereosinofilia y granulomas visceral en el adulto. **Boletín chileno de parasitología.** N.54, 1999.

SHARGHI, N. et al. Environmental exposure to *Toxocara* as a possible risk factor for asthma: A clinic-based case-control study. **Clin. Infect. Dis.** N.32, 2001.

SHIELDS, JA. Ocular toxocariasis: a review. **Survey of Ophthalmology.** N.28, 1984.

SILVA, FM. et al. . Prevalence of anti-Toxocara antibodies in a random sample of inpatients at a childrens hospital in Vitória, Espírito Santo, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**. N.40, 1998.

SMITH, JM. Epidemiology and natural history of asthma, allergic rhinitis and atopic dermatitis. In: MIDDLETON JÚNIOR, E; REED, CE; ELLIS, EF. (Ed). **Allergy: principles and practice**. St. Louis: CV Mosby, 1978.

SOLÉ, D. et al. International study of asthma and allergies in childhood (ISAAC): prevalence of asthma and asthma-related symptoms among Brazilian schoolchildren. **J Invest Allergol Clin Immunol**. N.11, 2001.

STRACHAN, DP. Hay fever, hygiene and household size. **BMJ**. N.299, 1989.

TAIEB, A. Dermatite atopique. **Ann Dermatol Venereol**. N.132, 2005

TAYLOR, MRH; HOLLAND, CV. Toxocariasis. In: GILLESPIE, SH; PEARSON, RD. (Eds.). **Principles and Practice of Clinical Parasitology**. London: John Wiley, 2001.

TAYLOR, MR. et al. The expanded spectrum of Toxocaral disease. **The Lancet**. N.26, 1988.

THEODORIDIS, I. et al. Toxocarosis as zoonosis. A review of literature and the prevalence of *Toxocara canis* antibodies in 511 serum samples. **Int J Immunopathol Pharmacol**. N.14(1), Jan. 2001.

VAN DEN BIGGELAAR, AHJ. et al. Decreased atopy in children infected by *Schistosoma haematobium*: a role for parasite-induced interleukin-10. **Lancet**, N.356, 2000.

VAN RIET, E; HARTGERS, FC; YAZDANBAKHS, M. Chronic helminth infections induce immunomodulation: consequences and mechanisms. **Immunobiology**. N.212, 2007.

WHO. **Global initiative for asthma (GINA)** - Report 2007.

Disponível em <<http://www.ginasthma.org/Guidelineitem.asp??i1=2&l2=1&intId=60>>, Acesso em: 18 jul. 2010.

WONG, GWK. et al. Pervalece of respiratory and atopic disorders in Chinese schoolchildren. **Clin Exp Allergy**. N.31(8), 2001.

## ANEXOS

**Manuscritos 1** – Prevalência e Fatores de Risco da Infecção Humana por *Toxocara canis* em Salvador, Bahia, Brasil.

**Manuscrito 2** - *Toxocara canis*, eosinofilia e asma: Associação de infecção por *Toxocara canis* com eosinofilia e asma em dois grupos populacionais de um grande centro urbano do Brasil

**MANUSCRITO 1**

PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO DA INFECÇÃO HUMANA POR *Toxocara canis*  
EM SALVADOR, BAHIA, BRASIL

PREVALENCE AND RISK FACTORS OF HUMAN INFECTION BY *Toxocara canis* IN  
SALVADOR, BAHIA, BRAZIL

INFECÇÃO HUMANA POR *Toxocara canis* EM SALVADOR, BAHIA, BRASIL

HUMAN INFECTION BY *Toxocara canis* IN SALVADOR, BAHIA, BRAZIL

Rodrigo Fernandes Souza<sup>1</sup>, Vitor Camilo Cavalcanti Dattoli<sup>1</sup>, Livia Ribeiro Mendonça<sup>1</sup>,  
Joilson Ramos de Jesus<sup>1</sup>, Tiana Baqueiro<sup>2</sup>, Cláudia de Carvalho Santana<sup>3</sup>, Nilza Maria  
Santos<sup>1</sup>, Stella Maria Barrouin-Melo<sup>4</sup>, Neuza Maria Alcantara-Neves\*<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia. <sup>2</sup>Instituto Multidisciplinar em  
Saúde, Universidade Federal da Bahia; <sup>3</sup>Escola Baiana de Saúde Pública; <sup>4</sup>Escola de Medicina  
Veterinária, Universidade Federal da Bahia.

\* Autor Correspondente:

Instituto de Ciências da Saúde

Universidade Federal da Bahia

Av. Reitor Miguel Calmon, S/N.

Canela, CEP- 40110-100



Salvador, Bahia, Brasil

FAX: 71-3235.5367

neuzalcantara@gmail.com

E-mails dos demais autores:

RFS: rodrigofersou@bol.com.br

VCCD: vitordattoli@gmail.com

LRM: mendoncalr@gmail.com

JRJ: joiramos@click21.com.br

TB: tianabaqueiro@gmail.com

CS: cdesantana@yahoo.com.br

NMS: zumsantos@bol.com.br

ST: barrouin@ufba.br

## RESUMO

**Introdução:** larva migrans visceral é causada por *Toxocara sp* e nunca foi estudada na Bahia; neste trabalho, investigou-se a prevalência e fatores de risco de infecção por *T. canis* em indivíduos de Salvador. **Métodos:** 338 indivíduos foram investigados para presença de anticorpos IgG séricos anti-*T. canis*. **Resultados:** IgG anti-*T. canis* foi mais alta em indivíduos de classe social baixa com maior contato com cães e gatos, indicando que estas variáveis são fatores de risco para esta infecção. **Conclusão:** A prevalência de infecção por *T. canis* foi alta. Os fatores de risco desta infecção encontrados estão de acordo com a literatura.

**Palavras-chaves:** *Toxocara canis*, fatores de risco, classes sociais.

## ABSTRACT

**Introduction:** larva migrans visceral is caused by *Toxocara sp* and was never studied in Bahia. This work investigated the prevalence and risk factors for infection by *T. canis* in individuals from Salvador, Bahia. **Methods:** 338 individuals were investigated for the presence of serum IgG anti-*T. canis*. **Results:** IgG anti-*T. canis* was higher in individuals from lower social classes, with more contact with dogs and cats, indicating that these variables are factors risk for this infection. **Conclusion:** The prevalence of *T. canis* infection was high. The risk factors for this infection found are in accordance with in the literature.

**Key-words:** *Toxocara canis*, risk factors, social classes.

Larva migrans visceral e ocular são zoonoses parasitárias negligenciadas, causadas por ingestão de ovos de *Toxocara canis* e de *T. cati*, parasitos de cães e gatos, respectivamente. Quando os ovos contendo larvas infectantes são ingeridos por seres humanos, as larvas tornam-se livres no intestino, mas não conseguem se desenvolver até a forma adulta; ao invés disso, atravessam a parede intestinal e estabelecem-se nos tecidos, podendo invadir órgãos como o fígado, pulmões, olhos ou cérebro. O agente etiológico raramente pode ser encontrado em amostras de biópsia<sup>1</sup>. Existem as seguintes formas clínicas descritas de toxocaríase humana: a. larva migrans visceral (LMV); b. larva migrans ocular (LMO); c. forma meningoencefálica e d. forma oculta ou assintomática<sup>2</sup>. A prevalência da infecção por *T. canis* é mais alta em países tropicais e em desenvolvimento. A frequência de anticorpos anti-*Toxocara canis*, de acordo com estudos realizados no Brasil, varia de 12,1 %, em Jaboatão dos Guararapes, PE<sup>3</sup>, a 54,8%, em São Paulo, SP<sup>4</sup>, e a contaminação por ovos deste nematódeo em áreas de lazer no Brasil, variou de 17,5%, em Botucatu, SP<sup>5</sup> a 91,7%, em Santa Maria, RS<sup>6</sup>. Não há relatos de estudos sobre esta infecção no estado da Bahia, daí advém a relevância deste trabalho, cujo objetivo foi investigar a prevalência e os fatores de risco da infecção humana por *Toxocara canis* em dois grupos populacionais da cidade de Salvador.

Este trabalho foi realizado em Salvador, Bahia. Trata-se de um estudo transversal, sendo aplicado um questionário padronizado para coleta de dados demográficos e epidemiológicos sobre fatores de risco de aquisição de infecção por *Toxocara canis* em dois grupos populacionais: Grupo 1. empregados de estudantes de medicina do Instituto de Ciências da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA) (composto por 350 indivíduos, sendo que destes, 150 realizaram coleta de sangue), e o Grupo 2. moradores do bairro da Paz (composto por 350 indivíduos, sendo que destes, 188 realizaram coleta de sangue). A classe social foi determinada pelo método de Gallup. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética de pesquisas em ser humanos da Maternidade Climério de Oliveira da Universidade Federal da Bahia e os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. O sangue coletado teve o plasma criopreservado a -20°C até a realização do ensaio para detecção de IgG anti-*Toxocara canis*. As larvas de *Toxocara canis* foram obtidas de acordo com de Savigny<sup>7</sup>, modificado por Alcantara-Neves<sup>8</sup>. Com o objetivo de eliminar reação cruzada entre anticorpos anti-*Ascaris lumbricoides* e anti-*Toxocara canis*, os soros foram absorvidos por duas vezes com antígeno somático de *Ascaris lumbricoides*, na presença de PEG 15.000 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA). Anticorpos IgG anti-

*Toxocara canis* foram detectados nos soros dos participantes do estudo através de ensaio imunoenzimático (ELISA) indireto, utilizando-se o AESLTc, de acordo com de Savigny<sup>7</sup> com os soros diluídos a 1:1000 em PBS/T/2,5% SBF e como conjugado foi usado um anticorpo anti-IgG humano biotilado e estreptoavidina-peroxidase (Pharmigen, Belo Horizonte, MG, Brasil). O ponto de corte do ensaio foi calculado como a média da densidade óptica mais 3 desvios padrões da média de 10 soros de indivíduos sem contato com cães e gatos e de classe social alta (soros negativos). A prevalência de infecção por *Toxocara canis* em diferentes grupos foi analisada pelo teste de Qui<sup>2</sup>. A investigação de fatores de risco envolvidos na infecção por *Toxocara canis* foi analisada por regressão logística univariada e multivariada usando a infecção por *Toxocara canis* como desfecho e idade e sexo com variáveis confundidoras *a priori*. Na população do ICS, a análise multivariada foi realizada com dois modelos ajustados por contato com cão ou contato com gato sucessivamente. Pertencer à classe social mais baixa, contato com cães e gatos e morar no Bairro da Paz foram consideradas variáveis de exposição.

A comparação entre os indivíduos que foram excluídos do estudo (que realizaram questionário porém não coletaram sangue) com aqueles estudados não mostrou diferenças estatisticamente significantes quanto às variáveis *a priori* usadas no modelo logístico multivariado e classe social; dados não mostrados). As características dos grupos populacionais estudados descritas na Tabela 1, mostram que na população do ICS, os indivíduos estavam homogeneamente distribuídos nas classes C (38%), D e E (62%), enquanto que na população do bairro da Paz, 77,7% dos 146 indivíduos faziam parte da classe social E (dados não mostrados). O contato com cães (64,4%) e gatos (35,1%) nos indivíduos do bairro da Paz, foi mais freqüente do que nos indivíduos do ICS (35,6%) e (18,7%) para cão e gato, respectivamente. A diferença entre os dois grupos foi estatisticamente significativa em ambos os contatos ( $P < 0.05$ ). O contato com ambos os animais, cães ou gatos, também foi maior na população do Bairro da Paz (75%) do que na do ICS (40,7%;  $p < 0,05$ ). O número de indivíduos infectados por *Toxocara canis* foi maior na população do Bairro da Paz (65,4%), do que na população do ICS (52,0%), com  $p < 0,05$ ). A Tabela 2 demonstra as associações entre as variáveis estudadas e a infecção por *T. canis* no grupo do ICS. Não houve associação da infecção com sexo e idade. Quanto à classe social, foi demonstrado que indivíduos das classes D e E estavam mais infectados que aqueles da classe C, tanto na análise bruta (OR=1,24; 95% IC=1,23;4.73) quanto nas análise multivariadas no modelo sem contato com

gato (OR ajustada= 3,06; 95% IC=1,42;6,57) e sem contato com cão (OR ajustada=3,16; 95% IC=1,44;6,93). A infecção foi também positivamente associada com maior contato com cães na análise multivariada (OR ajustada=2,50; (95% IC=1,17;5,37) e gatos (OR ajustada= 2,79; 95% IC=1,05;7,39). No grupo do Bairro da Paz também não ocorreu associação da infecção por *Toxocara canis* com sexo e idade. Com relação à classe social, demonstrou-se que indivíduos da classe E estavam mais infectados que aqueles das classes C e D, entretanto esta associação só foi estatisticamente significativa na análise bruta (OR= 2,04; IC 95%=1,01; 4,11). A associação com contato com cão foi positiva e estatisticamente significativa em ambas as análises (OR bruta=2,70; 95% IC=1,44;5,05) e (OR ajustada= 2,80; 95% IC=1,46;5,38). Nesta população, não ocorreu associação entre contato com gato e infecção por *Toxocara canis* (Tabela 3). A comparação entre a infecção por *Toxocara canis* nos dois grupos estudados, mostrou que habitar no Bairro da Paz estava mais associado a ser infectado por este parasito, em ambas análises (OR bruta= 1,75; 95% IC= 1,13;2,71) e (OR ajustada= 1,77; 95% IC= 1,13;2,75) (dados não mostrados).

As prevalências da infecção pelo *Toxocara canis* nos dois grupos populacionais estudados diferiram, tendo o grupo do Bairro da Paz a maior prevalência descrita no Brasil (65%) em comparação a uma revisão realizada por Chieffi<sup>9</sup> que abrangeu dezesseis trabalhos em diversas regiões do Brasil. Outros trabalhos realizados em países desenvolvidos<sup>10</sup> e em desenvolvimento também relataram menores prevalências<sup>11</sup>, indicando que Salvador, do nosso conhecimento, possui as maiores taxas descritas no Brasil até o momento. A possibilidade do teste ELISA indireto realizado ter baixa especificidade, e com isso detectar falsos positivos, pode ser descartada, uma vez que o ensaio foi realizado com maiores diluições dos soros que as descritas em outros trabalhos<sup>11,12</sup>. Além disso, em Salvador, os helmintos comumente encontrados são *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*. Assim sendo, quando os soros foram absorvidos com antígeno somático do *Ascaris lumbricoides*, se tornaram negativos para anticorpos que reagiam cruzadamente com *Ascaris lumbricoides* e possivelmente com *Trichuris trichiura*. Dessa forma, os anticorpos detectados no ensaio ELISA aplicado no presente estudo provavelmente eram específicos para o gênero *Toxocara*. Vários estudos apontam para uma alta contaminação do solo em áreas de uso coletivo como praças de recreação e praias. Em Salvador, BA foram encontradas frequência de 29,42% de contaminação do solo por ovos desse helminto<sup>13</sup>. No entanto, os dados acima citados são bem inferiores aos descritos em Santa Maria, RS, com 91,7%, das amostras de solo contaminadas<sup>6</sup>.

Maus hábitos de higiene, como a manipulação de alimentos com as mãos sujas após contato com animal parasitado ou com solo infectado, contribuem significativamente para o aumento da prevalência desta infecção no homem. A classe social foi outra variável associada à infecção por esse helminto em nossos resultados; quanto mais baixa a classe social, maior o risco de infecção pelo *Toxocara canis*. Essa associação pode estar relacionada com um menor esclarecimento quanto às formas de infecção, como manipular cães e gatos, e principalmente devido à ausência total ou parcial de vermifugação desses animais. Assim, o uso de vermífugos para os animais domésticos e o controle de animais errantes seriam as medidas mais eficazes para a redução da prevalência da infecção nos cães e gatos e da infecção humana. Outro hábito que pode contribuir diretamente para a infecção do homem pelo *Toxocara canis* é o contato íntimo com animais infectados, por exemplo, permiti-los deitarem em suas camas, uma vez que é freqüente o encontro de ovos embrionados de *Toxocara canis* em pêlos desses animais. Aydenizöz-Özkaihan e colaboradores<sup>14</sup>, observaram a presença de ovos deste helminto em amostras de pêlos de 21,57% dos cães estudados, já Roddie e colaboradores<sup>15</sup>, verificaram tal achado em 67% das amostras. Estes trabalhos apontam o contato do homem com o cão como o maior fator de risco de infecção humana pelo *Toxocara canis*. Em uma de nossas análises, utilizando um modelo de análise logística excludente para contato com cão ou gato, o contato com gato demonstrou estar significativamente associado com infecção por *Toxocara canis* na população do ICS. Isto demonstra que a IgG detectada no ensaio utilizando antígenos secretórios-excretórios de larvas de *Toxocara canis* pode ser suscitada pela infecção com *Toxocara cati* e que torna-se necessário desenvolver um ensaio espécie-específico para este gênero de forma a tornar possível o estudo do papel do gato na epidemiologia da LMV. Um achado difícil de explicar foi a ausência da associação de infecção por *Toxocara canis* com contato com gatos na população do Bairro da Paz, uma vez que o poder do estudo desta população (pelo N, pela prevalência da infecção por *Toxocara canis* e frequência de contato com gatos) ter sido maior do que a da população do ICS. Uma hipótese plausível seria que no Bairro da Paz exista maior quantidade de ruas não calçadas e terrenos baldios onde os gatos podem facilmente enterrarem suas fezes evitando o contato do parasito com os seres humanos, do que nos bairros habitados pela população do ICS. O conhecimento da alta prevalência da infecção por *Toxocara canis* na população de Salvador, e o seu envolvimento em quadros clínicos polimórficos que variam de infecção assintomática até quadros asmatiformes e de meningoencefalia, além do fato dessa infecção ser mais

comum em indivíduos de baixa renda, justificam a necessidade do SUS implantar o diagnóstico desta parasitose nos laboratórios da rede pública. Além disso, torna-se importante a conscientização dos profissionais da saúde e dos poderes públicos de que a LMV é um problema de saúde pública. Desta forma, medidas de prevenção, incluindo o oferecimento de serviços veterinários públicos, o combate à propagação da população canina e felina de rua e o diagnóstico e tratamento dos casos em animais de estimação e dos seres humanos, são necessários para o controle dessa zoonose pouco investigada em nossa região.

### **AGRADECIMENTOS**

À ALERGOFAR (Rio de Janeiro, Brasil) e o Programa SCAALA (Social Change of Asthma and Allergy in Latin America) patrocinado pela WELLCOME TRUST, Grant No. 072405/Z/03/Z pelos subsídios dado a este trabalho, e aos estudantes do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia e da Faculdade de Tecnologia e Ciências pela ajuda nos trabalhos de campo.

### **CONFLITO DE INTERESSE**

Os autores declaram não haver qualquer conflito de interesse.

### **REFERÊNCIAS**

1. Garcia LS. Diagnostic Medical Parasitology, fourth ed. ASM Press, Washington 2001; 309-312.
2. Taylor MRH, Keane CJ, O'connor P, *et al.* The expanded spectrum of toxocaral disease. Lancet 1988;26:692-694.
3. Coelho RAL, Carvalho Jr LB, Perez EP, Araki K, Takeuchi T, Ito A, *et al.* Prevalence of toxocariasis in Northeastern Brazil based on serology using recombinant *Toxocara canis* antigen. Am J Trop Med Hyg 2005;72: 103-7.

4. Figueiredo SDP, Taddei JAAC, Menezes JJC, Novo NF, Silva EOM, Cristóvão HLG, *et al.* Estudo clínico-epidemiológico da toxocaríase em população infantil. *J Pediatr (Rio J)* 2005;81: 126-32.
5. Santarém VA, Sartor IF, Bergamo FMM. Contaminação, por ovos de *Toxocara sp.*, de parques e praças públicas de Botucatu, São Paulo, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 1998;31: 529-32.
6. Corrêa GLB, Michelin E, Lagaggio VRA, Moreira WS, Moraes RQ, Leite CR, *et al.* Contaminação do solo por ovos, larvas de helmintos e oocistos de protozoários, em praças públicas de Santa Maria e sua importância em saúde pública. *Rev Bras Parasitol Vet* 1995; 4: 137-141
7. de Savigny DH. In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of *Toxocara ES* antigen for the uses in serodiagnostic tests for visceral larva migrans. *J Parasitology* 1975;61:781–782.
8. Alcântara-Neves NM, Santos AB, Mendonça LR, Figueiredo CAV, Pontes-de-Carvalho L. An improved method to obtain antigen-excreting *Toxocara canis* larvae, *Experimental Parasitology* 2008;119:349–351.
9. Chieffi PP, Santos SV, Queiroz ML, Lescano SAZ. Human toxocaríasis: contribution by Brazilian researchers. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* 2009;51(6):301-308.
10. Hotez PJ, Wilkins PP. Toxocaríasis: America's Most Common Neglected Infection of Poverty and a Helminthiasis of Global Importance?. *PLoS Negl Trop Dis* 2009;3(3):400-4004



11. Santos, GM dos, Silva AS, Barbosa AP, Campos DMB. Seroepidemiological investigation on visceral larva migrans by *Toxocara canis* in health service users from Goiania, Brazil. *Rev. patol. Trop* 2009;38(3):197-206.
12. Espinoza YA, Huapaya PH, Roldán WH, Jiménez S, Arce Z, Lopez E. Clinical and serological evidence of *Toxocara* infection in school children from Morrope district, Lambayeque, Peru. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2008;50(2):101-5.
13. Santos NM, Silva VMG, Thé TS, Santos AB, Souza TP. Contaminação das praias por parasitos caninos de importância zoonótica na orla da parte alta da cidade de Salvador-Ba. *R. Ci. méd. biol* 2006;5(1):40-47.
14. Aydenizoz-Ozkayhan M, Yagci BB, Erat S. The investigation of *Toxocara canis* eggs in coats of different dog breeds as a potential transmission route in human toxocariasis. *Vet Parasitol* 2008;152(1-2):94-100.
15. Roddie G, Stafford P, Holland C, Wolfe A. Contamination of dog hair with eggs of *Toxocara canis*. *Veterinary Parasitology* 2008;152:85–93.

**Tabela 1.** Frequência de variáveis pertinentes ao estudo de fatores de risco para infecção por *Toxocara canis* em indivíduos dos dois grupos estudados em Salvador, Bahia, Brasil

<b>Variáveis</b>	<b>População do ICS</b> N= 150 n (%)	<b>População do B. da Paz</b> N= 188 n (%)	<b>Valor de p</b> (Qui <sup>2</sup> )
<b>Idade (anos)</b>			
≤15	60 (40,0)	85 (45,2)	>0,05
16-25	29 (19,3)	40 (21,3)	
≥26	61 (40,7)	63 (33,5)	
<b>Contato com cão</b>			
Sim	50 (33,3)	121(64,4)	<0,05
Não	100 (66,7)	67 (35,6)	
<b>Contato com gato</b>			
Sim	28 (18,7)	66 (35,1)	<0,05
Não	122 (81,3)	122 (64,9)	
<b>Contato com cão ou gato</b>			
Sim	61 (40,7)	141 (75,0)	<0,05
Não	89 (59,3)	47 (25,0)	
<b>Infecção por <i>T. canis</i></b>			
Positivo	78 (52,0)	123 (65,4)	<0,05
Negativo	72 (48,0)	65 (34,6)	

**Tabela 2.** Análises univariada e multivariada de fatores de risco da infecção por *Toxocara canis* na população do ICS, Salvador, Bahia, Brasil

<b>N= 150</b> <b>Variáveis</b>	<b>N(%)n</b>	<b>#OR bruta</b> <b>(CI 95%)</b>	<b>#OR ajustado</b> <b>(CI 95%)*</b>	<b>#OR ajustado</b> <b>(CI 95%)**</b>
<b>Sexo</b>				
Feminino	33(58,9)/56	1	1	1
Masculino	45(47,9)/94	0,64(0,33;1,25)	0,57(0,27;1,21)	0,66(0,32;1,39)
<b>Idade</b>				
≤15	34(56,7)/60	1	1	1
16-25	12(41,4)/29	0,54(0,22;1,33)	0,85(0,32;2,26)	0,85(0,32;2,25)
≥26	32(52,5)/61	0,84(0,41;1,73)	1,35(0,60;3,05)	1,34(0,50;2,57)
<b>Classe social</b>				
C	22(38,6)/57	1	1	1
D e E	56(60,2)/93	<b>1,24(1,23;4,73)</b>	<b>3,06(1,42;6,57)</b>	<b>3,16(1,44;6,93)</b>
<b>Contato com cão</b>				
Não	47(47,0)/100	1	1	----
Sim	31(62,0)/50	1,84(0,92;3,68)	<b>2,50(1,17;5,37)</b>	
<b>Contato com gato</b>				
Não	60(49,2)/122	1	----	1
Sim	18(64,3)/28	1,86(0,80; 4,35)		<b>2,79(1,05;7,39)</b>

#Ajustado para sexo e idade; \*Modelo sem contato com gato; \*\*Modelo sem contato com cão.

**Tabela 3.** Análises univariada e multivariada de fatores de risco da infecção por *Toxocara canis* na população do bairro da Paz, Salvador, Bahia, Brasil

<b>N=188</b>	<b>N(%<sup>a</sup>)n</b>	<b>OR (CI 95%)</b>	<b>OR ajustado (CI 95%)</b>
<b>V ariáveis</b>			
<b>Sexo</b>			
Feminino	47(66,2)71	1	1
Masculino	76(65,0)117	0,95(0,51;1,76)	1,09(0,56;2,13)
<b>Idade</b>			
≤15	68(70,1)97	1	1
16-25	43(57,3)75	0,63(0,29;1,37)	0,85(0,32;2,26)
≥26	12(75,0)16	0,93(0,47;1,87)	1,35(0,60;3,05)
<b>Classe social</b>			
C e D	22(52,5)42	1	1
E	101(69,2)146	<b>2,04(1,01;4,11)</b>	1,80(0,87;3,74)
<b>Contato com cão</b>			
Não	34(50,7)67	1	1
Sim	89(73,6)121	<b>2,70(1,44;5,05)</b>	<b>2,80(1,46;5,38)</b>
<b>Contato com gato</b>			
Não	79(64,8)122	1	
Sim	44(67,8)66	1,09(0,58; 2,05)	-----

#Ajustado para sexo e idade.

**MANUSCRITO 2**

The association of *Toxocara canis* infection with eosinophilia and asthma in two populations  
of a major urban center of Brazil

Running title: *Toxocara canis*, eosinophilia and asthma

Vitor C.C. Dattoli<sup>1</sup>, Rodrigo F. Souza<sup>2</sup>, Livia R. Mendonça<sup>2</sup>, Joilson R. de Jesus<sup>2</sup>, Tiana Baqueiro<sup>3</sup>, Cláudia Santana<sup>4</sup>, Virgínia M. G. da Silva<sup>5</sup>, Stella M. Barrouin-Melo<sup>6</sup>, Neuza M. Alcantara-Neves<sup>2\*</sup>.

<sup>1</sup>Escola de Medicina, Universidade Federal do Acre, Brasil; <sup>2</sup>Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Brasil; <sup>3</sup>Instituto Multidisciplinar em Saúde, Universidade Federal da Bahia, Brasil; <sup>4</sup>Escola Baiana de Saúde Pública, Brasil; <sup>5</sup>Departamento de Ciências Biológicas, Campus de Jequié, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia e <sup>6</sup>Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Brasil.

**\* Corresponding Author:**

Instituto de Ciências da Saúde  
Universidade Federal da Bahia  
Av. Reitor Miguel Calmon, S/N.  
Canela, CEP- 40110-100  
Salvador, Bahia, Brasil  
FAX: 71-3235-5367  
neuzalcantara@gmail.com

## RESUMO

**Introdução:** A infecção por *Toxocara canis* vêm sendo associada positivamente a manifestações alérgicas em seres humanos, porém os resultados são controversos. Neste trabalho foi investigada a existência de associações entre infecção por *T. canis*, eosinofilia, atopia e alergia em Salvador, Bahia, Brasil. **Métodos:** Foram estudados dois grupos de indivíduos: Grupo 1, composto de 149 indivíduos predominantemente da classe socioeconômica E, e Grupo 2, composto de 129 indivíduos predominantemente das classe socioeconômica C ou D. A infecção por *T. canis* foi determinada pela soropositividade para IgG anti-*T. canis*. A atopia foi definida por teste de puntura cutâneo positivo para aeroalérgenos. Asma e rinite foram investigadas por questionário do ISAAC fase I. **Resultados:** O Grupo 1 apresentou maior prevalência de IgG anti-*T. canis*. Eosinofilia  $\geq 10\%$  estava associada com a soropositividade em ambos os grupos. Foi encontrada associação entre asma e infecção por *T. canis* apenas no Grupo 2. **Conclusão:** Estes achados reforçam o papel da infecção por *T. canis* no desenvolvimento de eosinofilias acentuadas. O achado de asma associado com infecção por *T. canis* apenas no grupo com menor prevalência da infecção denota a necessidade de investigar co-fatores que possam influenciar na associação de infecção por *T. canis* com asma e alergia.

**Palavras-chave:** *Toxocara canis*, eosinofilia, asma

## ABSTRACT

**Introduction:** Infection by *Toxocara canis* has been positively associated with allergy in humans, but the results are controversial. In this study, we investigated the association between *T. canis* with eosinophilia, atopy and allergies in Salvador, Bahia, Brazil. **Methods:** We studied two groups of subjects: Group 1, which consisted of 149 individuals who were predominantly from class E, and Group 2, which consisted of 129 individuals who were predominantly from classes C and D. Infection by *T. canis* was determined by confirming seropositivity to anti-*T. canis* IgG. Atopy was determined by a positive skin prick test for aeroallergens. Asthma and rhinitis were investigated using the ISAAC questionnaire Phase II. **Results:** Group 1 was characterized by a higher prevalence of IgG anti-*T. canis* expression, and eosinophilia  $\geq 10\%$  was associated with seropositivity in both groups. Only asthma was associated with *T. canis* infection, and this was exclusively in Group 2. **Conclusion:** These findings reinforce the role of infection by *T. canis* in the development of severe eosinophilia. The finding that asthma was associated with infection by *T. canis* only in the group with lower prevalence of *T. canis* infections indicates the need to investigate co-factors that may influence the association of *T. canis* infection with asthma and allergies.

**Key words :** *Toxocara canis*, eosinophilia, asma.

Funding: WELLCOME TRUST, Project No. 07205/Z/03/Z. 4; FAPESB Project No. 7638/2009. FAPESB and CNPq have provided scholarships for some of the authors.

## INTRODUCTION

Visceral larva migrans syndrome (VLM) is caused by the persistence and migration of helminth larvae nematode parasites, particularly of *Toxocara canis* and *T. cati* in dogs and cats, respectively, in paratenic host organs (Cypress 1977). In humans, this syndrome is characterized by several signs and symptoms, including: asthma-like respiratory symptoms, fever, hepatomegaly, myocarditis, and disorders of the central nervous system. Characteristic lab-test results include: eosinophilia, leukocytosis, hypergammaglobulinemia and increased expression of hepatic dysfunction markers (Gillespie et al., 1993; Magnaval et al., 2001). In particular, moderate to severe eosinophilia is often associated with *T. canis* infections, even in asymptomatic individuals (Jacob et al., 1994).

In many countries, an increase in the prevalence and incidence of allergic diseases, such as asthma, allergic rhinitis and atopic eczema, has been observed; such findings have been a cause of concern for public health agencies (Devereux 2006). In Salvador, studies by our group (Baqueiro et al., 2007) and others (Medeiros 2000; Solé 2001) showed that allergic diseases occur in prevalence rates above 30%. The prevalence reaches 44% in populations with high socioeconomic profiles (Baqueiro et al., 2007). These indices suggest that both environmental and socioeconomic conditions may be important determinants in the development of allergy and asthma, according to the hygiene hypothesis (Strachan 1989).

The immunomodulatory role of pathogenic or parasitic infections in allergic diseases remains controversial. Although several studies have suggested that parasitic infections may protect individuals from developing allergic conditions, others have shown that such infections may predispose infected individuals to asthma and other allergies (Smits and Yazdanbakhsh, 2007; Alcantara-Neves et al., 2010). Parasites of the genus *Toxocara* have been considered as possible adjuvants of atopy, asthma and rhinitis (Gonzalez-Quintela et al., 2006; Yarik et al., 2007). Using experimental models, Pinelli and colleagues (2008) found that an infection with 500 *T. canis* eggs, considered a minor worm burden, resulted in exacerbation of allergic airway inflammation; furthermore, these findings corroborated some studies conducted in

human populations (Buijs et al., 1996; Hakim, 1997). However, other authors have described an absence of association between *T. canis* infection and asthma (Gonzalez-Quintela et al., 2006; Kustimur et al., 2007). The goal of this study was to investigate the association between *T. canis* infection and eosinophilia, atopy and allergic disorders, such as asthma and rhinitis, in two distinct populations from the urban area of Salvador, a city in northeast Brazil.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Studied population**

This study was conducted in Salvador, the third most populous city in Brazil with 2,714,977 inhabitants (IBGE, 2006). This was a cross-sectional study; data were collected in a 2003 survey. We applied the ISAAC Phase II questionnaire to collect data related to demographic and epidemiological risk factors for asthma, rhinitis and atopy in two populations with different socioeconomic conditions. Group 1 consisted of residents in the “Bairro da Paz”, a borough composed predominately of individuals from socio-economic class E. Group 2 was composed of domestic employees of medical student families of the Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS/UFBA); individuals from this group lived in boroughs spread throughout the city, predominantly of lower socioeconomic classes C and D. The streets of the “Bairro da Paz” have no sidewalks or sewers, garbage collection services are poor, and the population density is high. In addition, there is a large population of stray dogs and cats with no access to veterinary services. Studies from our group found a prevalence of 85% for IgG anti-*T. canis* in dogs in this burrough (Alcantara-Neves et al., data submitted for publication). Group 1 was composed of 350 individuals, of whom 149 underwent blood sampling for the detection of anti-*T. canis* IgG. Group 2 was also composed of 350 individuals, of whom 129 underwent blood collection. Only individuals who exhibited positive serology for *T. canis* and for whom complete information on all variables was available were included in the analysis of this study. All participants signed a consent form. The study was approved by the ethics committee of human research of the Maternity Climério de Oliveira at the Federal University of Bahia.

### **Allergic symptoms**



Asthma was defined by the presence of wheezing within the previous 12 months and the fulfillment of at least one of the following conditions: (1) the subject experienced more than 4 episodes of wheezing in the last year, (2) the subject had asthma diagnosed by a physician, or (3) the subject used an asthma drug. Rhinitis was confirmed by the presence of sneezing, runny nose or itchy nose in the absence of cold within the previous 12 months and the subject having experienced at least one of the following: (1) more than 4 episodes of sneezing, runny nose or itchy nose in the absence of a cold within the previous year; (2) nasal symptoms accompanied by itchy eyes and/or tearing; or (3) rhinitis or rhinoconjunctivitis diagnosed by a physician.

### **Skin prick tests**

Skin prick tests were performed on the right forearm of each individual using extracts of: *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis*, *Blattella germanica*, *Periplaneta americana*, fungi (*Cladosporium*, *Penicillium*, *Alternaria* and *Aspergillus fumigatus*), and dog and cat epithelium (Alergofar, Rio de Janeiro, Brazil). Saline and histamine (10 mg/mL) were used as negative and positive controls, respectively. After 15 minutes of allergen application, the reaction was measured and defined as positive when the average of the two largest diameters of the wheal-test was three millimeters higher than the average of the two largest diameters of the negative control wheal.

### **Diagnosis of intestinal parasite infections**

To verify the presence and influence of intestinal helminths in allergic conditions, fecal samples were collected from all study participants and were examined by the gravitational sedimentation method (Hoffman *et. al.*, 1934).

### **Blood sampling and eosinophil counts**

Blood was collected and subjected to eosinophil counts using an automatic cell counter

(Counter Electronics Hialeah, USA); plasma was then cryopreserved at -20 °C until used for the detection of anti-*T. canis* IgG.

### **Detection of anti-*T. canis* IgG**

#### **Obtaining excretory-secretory *T. canis* larval antigen**

Excretory and secretory larval antigen of *T. canis* (ESLATc) was obtained using the method originally described by Savigny (1975) and modified by Alcantara-Neves et al. (2008). Briefly, puppies from parasite-infected bitches were treated with piperazine (100 mg/kg) and mineral oil. The uteruses of the obtained female *T. canis* specimens were removed, and their eggs were incubated in 2% formalin until embryonation. The egg membranes were disrupted using glass beads, and the released larvae were purified by 15- $\mu$ m pore polystyrene membrane filtration. The larvae were cultured in RPMI medium (Sigma, St. Louis, USA) at 37 °C in a CO<sub>2</sub> incubator, and the culture supernatants, which contained ESLATc and 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF, Sigma, St. Louis, USA), were cryopreserved at -70 °C until further use. ESLATc was concentrated using Amicon filters with pores permeable to molecules 3000 kDa and smaller (Millipore Corporate, USA) and subsequently dialyzed against phosphate buffered saline, pH 7.4 (PBS). The protein content of the samples was determined using the Lowry technique (1951), and the antigen was aliquotted and cryopreserved at -70 °C until further use.

#### **Absorption of sera with *Ascaris lumbricoides* antigen**

To prevent cross-reaction between anti-*A. lumbricoides* and anti-*T. canis* IgG, sera were absorbed with *A. lumbricoides* extract prepared from adult worms obtained from infected children that were treated with albendazole and 5 mg bisacodyl (Dulcolax). The worms were washed in saline and crushed using an electric grinder (Bead-Beart, Biospec, USA) in the presence of PBS containing the following protease inhibitors: 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF), 2 mM ethylenediamine tetra-acetic acid (EDTA), 1 mM tosyl phenylalanyl chloromethyl ketone (TPCK) and 50  $\mu$ M p-tosyl-L-lysine chloromethyl ketone (TLCK) (all from Sigma Chemical Co., St. Louis, USA). The suspension was then centrifuged at 4000

soluble g for 15 minutes. The fraction was stored at -70 °C after the protein concentration was determined by the Lowry method (1951). For serum absorption, 100 µL of each serum sample was incubated with 250 µL of 4.0 mg/mL *A. lumbricoides* antigen and 100 µL polyethylene glycol (PEG, MW 15,000; Sigma Chemical Co., St. Louis, USA) and 50 µL of PBS. After a 30 minute incubation at room temperature under homogenization, the material was centrifuged for 10 minutes. The supernatant was then collected, re-absorbed with *A. lumbricoides* antigen and kept at -70 °C until being used for analysis. After absorption with *A. lumbricoides* extract some serum samples were absorbed with *Trichuris trichiura* extract. Because the serum absorption with this parasite antigens was negligible, it was not performed on all of the assayed sera.

### **Detection of anti-*T. canis* IgG**

Anti-*T. canis* IgG was detected in sera by enzyme immunoassay (ELISA) using the ESLATc as an antigen according to the method described by Savigny & Tizard (1975). The wells of microtiter plates were sensitized with 100 µL of antigen at a concentration of 3.5 µg / mL in carbonate-bicarbonate buffer for 16 hours at 4 °C. Subsequently, the wells were blocked with 200 µL PBS containing 0.05% Tween-20 (PBS/T) and 10% fetal bovine serum (FBS; Cutilab, São Paulo, Brazil). The test was performed by successive incubations with sera diluted 1:1,000, conjugated biotinylated anti-human IgG diluted 1:2000 and streptavidin-peroxidase (Pharmigen, San Diego, CA, USA ) at 1:1000, all above reagents were diluted in PBS/T containing 2.5% FBS. As substrate we used o-phenylenediamine and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA). The reactions were stopped by adding 25 µL of 4 N sulfuric acid to each well. The optical density measurements were performed on a spectrophotometer using a 492 nm filter. Sixty minute incubations and washes with PBS/T for 4 cycles were performed between all steps, except for 30 minutes used for the substrate. The assay cut-off was calculated using the mean optical density plus 3 standard deviations of 10 sera from individuals without contact with cats and dogs and high socioeconomic status (negative sera).

### **Statistical Analysis**

The characteristics of the two populations were compared using the chi-square test. The Breslow-Day test was used to evaluate the power of interaction of helminth infections on the association between *T. canis* and asthma. For the association between *T. canis* infections and eosinophilia, atopy, rhinitis and asthma, we performed bivariate and multivariate logistic regression analyses and obtained odds ratios (OR) with 95% confidence intervals (CI), adjusted for the following confounding factors: gender, age, social class, parental allergic and helminth infection. Data were analyzed using the SPSS 16.0 software.

## RESULTS

A comparison of subjects who participated in the study and subjects who completed the questionnaire but were excluded from the study because they did not undergo serological tests for anti-*T. canis* IgE, revealed no statistically significant differences in the variables analyzed (data not shown). The frequencies of variables were compared between the two population groups. The populations differed statistically in relation to the following variables: infection by *T. canis* ( $p < 0.001$ ), eosinophilia  $\geq 4\%$  and  $\geq 10\%$  ( $p < 0.001$  and  $< 0.05$ , respectively) and a family history of allergies ( $p < 0.001$ ). All of these variables were more frequent in subjects in Group 1 (Table 1). The association between infection with *T. canis* and eosinophilia  $\geq 10\%$  was positive in both groups (adjusted OR = 2.89, 95% CI = 1.19, 7.01 and adjusted OR = 2.58, 95% CI = 1.00, 6.66 for groups 1 and 2, respectively). However, eosinophilia  $\geq 4\%$  was only significantly associated with *T. canis* infection in Group 2 (adjusted OR = 2.23 CI = 95% = 1.01, 4.92) (Table 2).

The power of intestinal helminth infections (*A. lumbricoides* and *T. trichiura*) as effect modifier on the association of *T. canis* and asthma was also analyzed (Table 3). The results indicated that such infections had no influence on the studied association. Based on these results, the helminth infections were considered only as a confounding variable.

When the respiratory allergy outcomes were analyzed, only the association between asthma and infection with *T. canis* was found to be significant, and this was exclusively in individuals in Group 2 (Table 4). In the same table, it can be observed that the association between all outcomes and *T. canis* infection was inversed between the two groups, though this was not

statistically significant. Subjects in Group 1 exhibited a lower prevalence of the outcomes studied and a higher prevalence of anti-*T. canis* IgG expression, and the associations of these outcomes with *T. canis* infection were negative. Contrastingly, in subjects of Group 2, anti-*T. canis* IgG expression was less frequent, and individuals infected with *T. canis* more frequently exhibited atopy, rhinitis and asthma than uninfected individuals.

## DISCUSSION

The role of *T. canis* infection in the occurrence of asthma and allergies has been previously reported; however, the conflicting results presented by different studies do not allow for a conclusive identification of the role of this helminth in allergic diseases. In one such study, Gonzalez-Quintela et al. (2006) reported a positive association between *T. canis* infection and positive skin prick tests using dust mite allergens but not with asthma in an adult population. However, Chan and colleagues (2001) found a positive association between infection with this helminth and asthma in Malaysian children. Kustimur and colleagues (2007) found no association between atopic and nonatopic asthma and *T. canis* infection, while Yarik and colleagues (2007) identified a positive association between infection with *T. canis* and rhinitis. In the present study, we investigated the association of *T. canis* infection with eosinophilia, asthma, rhinitis and atopy, comparing two groups of individuals from a large urban center in Brazil. Although both populations were composed of individuals from low social classes, the population of Group 1 contained more individuals from class E, while the population of Group 2 contained more individuals from classes C and D.

The positive association between *T. canis* and eosinophilia has been well defined in the literature (for example, see Jacob et. al., 1994). Sapunar & Fardella (1999) showed that in acute infections with this worm, the percentage of eosinophils in the blood increases significantly, reaching levels that may exceed 80% of the total leukocyte population. The VLM is highly correlated with hypereosinophilic syndrome (Overgaauw, 1997). The present study revealed a positive association between *T. canis* and eosinophilia  $\geq 10\%$  in both populations studied, demonstrating the important role of this infection in stimulating eosinophil production. However, when analyzing the association of more discrete eosinophilia ( $\geq 4\%$ ) with *T. canis* infection, a statistically significant association was only identified in

individuals from Group 2. Considering that the population of Group 1 (from Bairro da Paz) consisted of individuals from lower social classes that were living in unsanitary conditions and had a low level of education, the contribution of other causes of eosinophilia such as scabies and other parasitic infections may stimulate eosinophil production. These environmental aspects may explain the absence of a statistically significant association between *T. canis* infection with lower levels of eosinophilia in the subjects of Group 1. The investigation of the association between this infection and eosinophils in the present work is justified by the important role of these cells both in controlling helminth infections in the immunopathogenesis of asthma and other allergies (Pérez-Arellano et al., 2004).

The fact the *T. canis* infection is a condition that is highly neglected by public health services, in addition to the growing evidence of the role of helminth infections in allergic diseases (van Riet et al., 2007), highlights the need for an improved understanding the role of *T. canis* infection in asthma and allergies. Moreover, a lack of veterinary services, particularly in economically disadvantaged strata of the population, plays a pivotal role in increasing the incidence of zoonoses; this includes infection by *T. canis*, which could easily be controlled by the periodic use of anthelmintic on pets and effective control of stray dog and cats (Cooper, 2008).

In this study, we also investigated the association between *T. canis* infections and atopy, asthma and rhinitis. Only asthma was positively and statistically significantly associated with *T. canis* infection; furthermore, this association was identified exclusively in Group 2. Many studies have suggested a possible causal relationship between asthma and infection with *T. canis*. Clinical manifestations, including the presence of mucus in the airways, wheezing and coughing, are common in both individuals with asthma and individuals with LMV (Pinelli et al., 2008). Studies in children and adults have revealed a higher prevalence of this infection among patients with asthma (Kustimur et. al., 2007; Chan et. al., 2001). Chan et al. (2001) found a prevalence of *T. canis* infection of 21.2% in Malaysian children with asthma compared with 8.6% in a non-asthmatic control group. Studies using experimental models developed by Pinelli et al. (2008) demonstrated that infection of mice with *T. canis* resulted in an exacerbation of allergic airway inflammation, corroborating the epidemiological findings described above. The positive relationship identified in these studies is justified by the fact

that, though the larvae of *T. canis* cannot reach the adult stage in humans, they can survive for long periods of time in the host body and infecting multiple organs, particularly the lungs (Despommier 2003). This positive association is also justified by the fact that the Th2 immune response triggered by both helminth infections and allergic disorders is characterized by increased IgE production and eosinophilia (Taylor et al., 1988). Although there was no association between *T. canis* infection and rhinitis or atopy in our population, other studies have described a positive relationship between these outcomes and *T. canis* infection (Yariktas et al., 2007).

Interestingly, when the two populations evaluated in this study were compared, they exhibited inversed associations between *T. canis* infections and allergic outcomes (i.e., atopy, asthma and rhinitis). In the population with better living conditions, *T. canis* infections act as a risk factor for allergic symptoms. Contrastingly, in the population with the worst living conditions, *T. canis* infection apparently had a protective role. However, the data from this study that supported this idea were not strong enough to be statistically significant. The only exception was in the case of a positive association between asthma and infection with *T. canis* that was identified in the population of Group 2. This was a weakness of this study.

Assuming a causal relationship between *T. canis* and these outcomes, some factors, as suggested by Cooper (2008), may be crucial for the understanding of our findings. The first is timing, specifically when the first infection occurred; the earlier the contact with the parasite, the greater the chance of inducing an immunomodulatory response capable of suppressing allergic inflammation (Cooper et al., 2006). The second factor is the intensity of infection; high parasitic loads are able to induce a regulatory immune response capable of containing an allergic response, while mild infections may have the opposite effect (Taylor et al., 1988). Considering that the population of Bairro da Paz (Group 1) lives in poor socioeconomic conditions/environment and therefore has more contact with infectious agents from diverse backgrounds, these individuals likely exert a more intense immunomodulatory reaction to inflammatory diseases than the population of other boroughs of Salvador (i.e., Group 2).

The discrepancy in the literature regarding the association of *T. canis* infection with atopy and allergy may be due to a number of factors, including: (1) socioeconomic differences among

populations; (2) the low number of individuals studied in the majority of publications (including ours) that have investigated the association of this parasitic with these studied outcomes, impairing the ability to detect differences between populations; and (3) the use of individuals with a broad age range, further decreasing the chance of identifying strong associations. Therefore, further studies using larger study groups and individuals of a restricted age (e.g., children) are required to clarify the associations of this disease with atopy and allergy, and prospective studies are needed to investigate the actual role of this helminth in the cause of these conditions.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

We wish to thank the students of the Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia and the Faculty of Science and Technology for their help in conducting field work.

## **CONFLICTS OF INTEREST**

The authors declare no conflicts of interest.

## **REFERENCES**

1. Alcântara-Neves NM, Santos AB, Mendonça LR, Figueiredo CAV, Pontes-de-Carvalho 2008. An improved method to obtain antigen-excreting *Toxocara canis* larvae. *Experimental Parasitology* 119,349-351.
2. Alcantara-Neves, Neuza M., Badaro, Samuel J., dos Santos, Mariese C.A., Pontes-de-Carvalho, Lain C., Barreto, Mauricio L.2010. The presence of serum anti-*Ascaris lumbricoides* IgE antibodies and of *Trichuris trichiura* infection are risk factors for wheezing and/or atopy in preschool-aged Brazilian children. *Respiratory Research* 11,114- 119.
3. Baqueiro T, Pontes-de-Carvalho L, Carvalho FM, Santos NM, Alcântara-Neves NM; Medical Student's Group. 2007. Asthma and rhinitis symptoms in individuals from different socioeconomic levels in a Brazilian city.. *Allergy Asthma Proc.* 28(3):362-7.
4. Buijs J, Borsboom G, van Gemund JJ, Hazebroek A, van Dongen PA, van Knapen F, Neijens HJ. 1994. *Toxocara* seroprevalence in 5-year-old elementary schoolchildren: relation with allergic asthma. *Am J Epidemiol* 140:839-47.



5. Chan PW, Anuar AK, Fong MY, Debruyne JA, Ibrahim J 2001. *Toxocara* seroprevalence and childhood asthma among Malaysian children. *Pediatr Int* 43(4):350-3.
6. Cooper PJ, Barreto M, Rodrigues LC 2006. Human allergy and intestinal helminth infections: a review of the literature and discussion of a conceptual model to investigate the possible causal association. *Br Med Bull* 79–80:203–18.
7. Cooper PJ 2008. *Toxocara canis* infection: an important and neglected environmental risk factor for asthma? *Clin Exp Allergy* 38(4):551-3.
8. Cypess RH, Karol MH, Zidian JL, Glickman LT, Gitlin D 1977. Larva-specific antibodies in patients with visceral larva migrans. *J Infect Dis* 135(4):633-40.
9. de Savigny, DH 1975. In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of *Toxocara* ES antigen for the uses in serodiagnostic tests for visceral larva migrans. *Journal of Parasitology* 61,781–782.
10. de Savigny DH & Tizard IR 1975. Serodiagnosis of *Toxocara larva migrans* visceral. *Canad J publ Hlth* 66:52-56.
11. Despommier D 2003. Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. *Clin Microbiol Rev* 16:265–72.
12. Devereux G 2006. The increase in the prevalence of asthma and allergy: food for thought. *Nat Rev Immunol* 6(11):869-74.
13. Gillespie SH, Bidwell D, Voller A, Robertson BD, Maizels RM 1993. Diagnosis of human toxocariasis by antigen capture enzyme linked immunosorbent assay. *J Clin Pathol* 46:551-554.
14. Gonzalez-Quintela A, Gude F, Campos J, Garea MT, Romero PA, Rey J, et al 2006. *Toxocara* infection seroprevalence and its relationship with atopic features in a general adult population. *Int Arch Allergy Immunol* 139(4):317-24.
15. Hakim SL, Thadasavanth M, Shamilah RHR, Yogeswari S 1997. Prevalence of *Toxocara canis* antibody among children with bronchial asthma in Klang hospital, Malaysia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 91:528.
16. Hoffman WA, Pons JA, Janer JL 1934. The sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. *Puerto Rico J publ Hlth* 9:281-98.
17. ISAAC steering committee: Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. *Lancet* 1998, 351:1225-1232.
18. Jacob CMA, Pastorino AC, Peres BA, Mello EO, Okay Y, Oselka GW 1994. Clinical and Laboratorial features of visceral Toxocariasis in infancy. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 36:19-26.

19. Kustimur S, Dogruman Al F, Oguzulgen K, Bakir H, Maral I, Turktas H, Tuzun H 2007. *Toxocara* seroprevalence in adults with bronchial asthma. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 101(3):270-4.
20. Leonardi-Bee J, Pritchard D, Britton J. Asthma and current intestinal parasite infection: systematic review and meta-analysis. 2006. *Am J Respir Crit Care Med*. 174(5):514-23.
21. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Faar AL, Randall RJ: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951, 193:265-275.16
22. Magnaval JF, Glickman LT, Dorchie P, Morassin B 2001. Highlights of human toxocariasis. *Korean J Parasitol* 39:1-11.
23. Medeiros Jr M 2000. Prevalência de alergia respiratória em indivíduos de área endêmica de *Schistosoma mansoni*. *Rev Bras Alerg Immunopatol* 23(4):36.
24. Overgaauw PAM 1997. Aspects of *Toxocara* epidemiology: human toxocarosis. *Critical Reviews in Microbiology* 23:215-31.
25. Pérez-Arellano JI, Pardo J, Hernández-Cabrera M, Carranza C, Angel-Moreno A, Muro A 2004. Manejo práctico de una eosinofilia. *An Med Interna* 21(5):244-252.
26. Pinelli E, Brandes S, Dormans J, Gremmer E, van Loveren H 2008. Infection with the roundworm *Toxocara canis* leads to exacerbation of experimental allergic airway inflammation. *Clin Exp Allergy* 38(4):649-58.
28. Sapunar J & Fardella P 1999. Larva migrante visceral (toxocariasis humana) causa de hipereosinofilia y granulomas visceral en el adulto. *Boletín chileno de parasitología* 54:21-4.
20. Smits HH, Yazdanbakhsh M 2007. Chronic helminth infections modulate allergen-specific immune responses: Protection against development of allergic disorders? *Annals of Medicine*.;39(6):428–39.
21. Sole D 2001. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): prevalence of asthma and asthma-related symptoms among Brazilian school children. *J Investig Allergol Clin Immunol* 11(2):123-8.
22. Strachan DP 1989. Hay fever, hygiene and household size. *BMJ* 299:1259-60.
23. Taylor MHR, Keane CT , O'Connor P, Mulvihill E, Holland C 1988. The expanded spectrum of *Toxocaral* disease. *The Lancet* 26:692–5.
24. van Riet E, Hartgers FC, Yazdanbakhsh M 2007. Chronic helminth infections induce immunomodulation: consequences and mechanisms. *Immunobiology* 212:475–90.
25. Yarıktas M, Demirci M, Aynali G, Kaya S, Doner F 2007. Relationship between *Toxocara* seropositivity and allergic rhinitis. *Am J Rhinol* 21(2):248-50.

Table 1 - Frequency of variables studied in the analyses of association of *Toxocara canis* infection with eosinophilia and allergy in both populations studied

N=278	Group 1 (N=149) n(%)	Group 2 (N=129) n(%)	p-value (Chi2)
<b>Gender</b>			
Female	93(62.4)	83(64.3)	>0.05
Male	56(37.6)	46(35.7)	
<b>Age</b>			
0-15	68(45.6)	49(38.0)	>0.05
16-25	29(19.5)	26(20.2)	
≥26	52(34.9)	54(41.9)	
<b>Parental asthma</b>			
No	94(63.1)	121(93.8)	<0.001
Yes	55(36.9)	8(6.2)	
<b>Social class</b>			
C	4(2.7)	51(39.5)	<0.001
D	29(19.5)	66(51.2)	
E	116(77.9)	12(9.3)	
<b>Eosinophilia ≥4%</b>			
No	35(23.5)	56(43.4)	<0.001
Yes	114(76.5)	73(56.6)	
<b>Eosinophilia ≥10%</b>			
No	97(65.1)	99(76.7)	<0.05
Yes	52(34.9)	30(23.3)	
<b>Helminth infection*</b>			
Yes	91(61.1)	85(65.9)	>0.05
No	58(38.9)	44(34.1)	
<b>T. canis infection</b>			
No	45(30.2)	64(49.6)	<0.001
Yes	104(69.8)	65(50.4)	
<b>Atopy</b>			
No	89(59.7)	80(62.0)	>0.05
Yes	60(40.3)	49(38.0)	
<b>Asthma</b>			
No	136(91.3)	114(88.4)	>0.05
Yes	13(8.7)	15(11.6)	
<b>Rhinitis</b>			
No	111(74.5)	94(72.9)	>0.05
Yes	38(25.5)	35(27.1)	

\*Infection rate of *A. lumbricoides*: 23.3% and 31.5% in Groups 1 and 2, respectively. Infection rate of: *T. trichura*: 17.8% and 20.8% in Groups 1 and 2, respectively.

Table 2 – Multivariate logistic analysis of the association of *Toxocara canis* infection with eosinophilia in both studied populations

IgG anti- <i>T. canis</i>	Eosinophilia $\geq$ 4%			Eosinophilia $\geq$ 10%		p-value (Chi <sup>2</sup> )
	n(%) / N	OR(I.C.95%)*	p- value	n(%) / N	OR(I.C.95%)*	
<b>Group 1 N=149</b>						
No	32(71.1)/45	1	>0.05	8(17.8)/45	1	<0.05
Yes	82(78.8)/104	1.16(0.49;2,71)		44(42.3)/104	2.89(1.19;7.01)	
<b>Group 2 N=129</b>						
No	28(43.8)/64	1	<0.05	9(14.1)/64	1	<0.05
Yes	45(69.2)/65	2.23(1.01;4.92)		21(32.3)/65	2.58(1.00;6.66)	

\*Adjusted by: gender, age, social class, parental asthma and helminth infection

**Table 3** – Association between *T. canis* infection and asthma in individuals either infected or not infected with intestinal helminths

Asthma					
Anti- <i>T. canis</i> IgG	Not infected with intestinal helminths		Infected with intestinal helminths		# p- value
	n(%) / N	OR (I.C.95%)	n(%) / N	OR (I.C.95%)	
<b>Group 1 (N=149)</b>					
No; N=45	3(8.8)/34	1	2(18.2)/11	1	>0.05
Yes; N=104	2(3.5)/57	3.07(0.71;13.21)	6(12.8)/47	2.92(0.31;27.56)	
<b>Group 2 (N=129)</b>					
No; N=64	3(6.1)/49	1	1(6.7)/15	1	>0.05
Yes; N=65	6(16.7) /36	0.38(0.06;2.37)	5(17.2)/29	0.66(0.11;3.81)	

# Breslow-Day test.

**Table 4** - Multivariate logistic analysis of the association of *Toxocara canis*

Anti- <i>T. canis</i> IgG	Atopy			Rhinitis			Asthma		
	n(%) / N	*OR (IC. 95%)	# p- value	n(%) / N	*OR (IC. 95%)	# p- value	n(%) / N	*OR (IC. 95%)	# p- value
Group 1 (N=149)									
		1			1			1	
No	21(46.7)/45	0.69	>0.05	13(28.9)/45	0.76	>0.05	5(11.1)/45	0.56	>0.05
Yes	39(37.5)/104	(0.33;1.46)		25(24.0)/104	(0.36;2.13)		8(7.7)/104	(0.16;1.97)	
Group 2 (N=129)									
		1			1			1	
No	24(37.5)/64	1.11	>0.05	18(28.1)/64	1.19	>0.05	4(6.3)/64	4.83	<0.05
Yes	25(38.5)/65	(0.52;2.38)		17(26.2)/65	(0.50;2.81)		11(16.9)/65	(1.11;21.1)	

infection with atopy, rhinitis and asthma in both studied groups

\*Adjusted by: gender, age, social class, parental asthma and the presence of helminth infections