

Avaliação eosinofílica e soropositividade para anticorpos IgG anti-toxocara em crianças atendidas pelo Sistema Único de Saúde

Eosinophilic count and seropositivity for IgG antibodies to toxocara spp. in children assisted at the public health service

Ariella Andrade Marchioro¹, Cristiane Maria Colli², Salete Mattia³, Márcia Liz Paludo⁴, Gisely Cardoso de Melo⁵, Carolina Moreira Adam⁶, Sandra Marisa Pelloso⁷, Ana Lúcia F. Guilherme⁸

RESUMO

Objetivo: Verificar a associação entre a presença de eosinofilia e a soropositividade para anticorpos IgG anti-*Toxocara* spp. em crianças atendidas pelo Sistema Único de Saúde no Noroeste do Paraná, Brasil.

Métodos: Estudo retrospectivo com crianças de sete meses a 12 anos, atendidas pelo Sistema Único de Saúde do Noroeste do Paraná, com teste ELISA para a pesquisa de anticorpos IgG anti-*Toxocara* spp. e contagem de eosinófilos (eosinofilia ≥ 600 células/mm³).

Resultados: Entre as 1.199 crianças, 386 (32,2%) apresentaram anticorpos IgG anti-*Toxocara* spp. A soroprevalência e a eosinofilia foram mais frequentes em crianças de sete meses a cinco anos. A eosinofilia foi observada em 7,8% dos pacientes soro-reagentes ao *Toxocara* spp..

Conclusões: Foi observada elevada prevalência de anticorpos anti-*Toxocara* spp., principalmente nos menores de cinco anos. Com exceção de algumas crianças que apresentaram sintomas respiratórios e presença de eosinofilia, a maioria foi assintomática e não mostrava eosinofilia. A pesquisa de eosinófilos é ferramenta secundária para o diagnóstico de toxocaríase.

Palavras-chave: toxocaríase/diagnóstico; criança; eosinofilia.

ABSTRACT

Objective: To study the association between the presence of eosinophilia and IgG antibodies to *Toxocara* spp. in children assisted by the public health service, in the north-western region of Parana State, in southern Brazil.

Methods: A retrospective study of children aged seven months to 12 years old assisted by the Public Health Service in northwest state of Paraná, Brazil. ELISA test was performed in all children in order to detect IgG antibodies to *Toxocara* spp. and eosinophil amounts (eosinophilia ≥ 600 cells/mm³).

Results: Among 1,199 screened children, 386 (32.2%) had IgG antibodies to *Toxocara* spp. The seroprevalence of *Toxocara* spp. and the eosinophilia were more common among children of seven months to five years old. Eosinophilia was observed in 7.8% of seropositive patients to *Toxocara* spp.

Conclusions: There was a high prevalence of anti-*Toxocara* spp., mainly in children under five years old. With the

Instituição: Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR, Brasil

¹Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UEM, Maringá, PR, Brasil

²Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde pela UEM, Maringá, PR, Brasil

³Mestre em Ciências da Saúde pela UEM; Coordenadora da Vigilância Sanitária de Paiçandu, PR, Brasil

⁴Mestre em Ciências da Saúde pela UEM, Maringá, PR, Brasil

⁵Docente do Centro Universitário Nilton Lins, Manaus, AM, Brasil

⁶Bolsista e Acadêmica em Farmácia da UEM, Maringá, PR, Brasil

⁷Doutora em Enfermagem pela Universidade de São Paulo (USP); Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UEM, Maringá, PR, Brasil

⁸Doutora em Ciências Ambientais pela UEM; Professora Associada do Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Disciplina de Parasitologia da UEM, Maringá, PR, Brasil

Endereço para correspondência:

Ana Lúcia F. Guilherme

Avenida Colombo, 5.790, Bloco I-90, sala 11

CEP 87020-900 – Maringá/PR

E-mail: alfguilherme@uem.br

Fonte financiadora: Fundo Paraná, o qual apoiou com verba a aquisição de equipamentos e material de consumo para o projeto.

Conflito de interesse: nada a declarar

Recebido em: 16/10/2009

Aprovado em: 11/6/2010

exception of some children who had respiratory symptoms and eosinophilia, most of them were asymptomatic and did not present eosinophilia. Eosinophilic count is a secondary laboratory finding in the diagnosis of toxocariasis.

Key-words: toxocariasis/diagnosis; child; eosinophilia.

Introdução

De distribuição geográfica mundial, a toxocaríase é uma zoonose prevalente em países tropicais e em desenvolvimento, estando associada a baixos níveis econômicos da população e acometendo principalmente crianças⁽¹⁻⁵⁾.

A infecção humana ocorre pela ingestão acidental de ovos embrionados de *Toxocara canis* ou *Toxocara cati*, parasitos intestinais de cães e gatos, respectivamente, encontrados em solo e areia contaminados com fezes desses animais⁽⁶⁾. Os ovos ingeridos eclodem no intestino delgado, as larvas penetram na mucosa e migram até o fígado, passam pelos pulmões e, através da circulação sistêmica, chegam a diferentes tecidos. A migração desencadeia a produção de granulomas eosinofílicos, com consequente inflamação⁽⁷⁾. A destruição dos parasitas pelos eosinófilos é dada pela ação tóxica de seus grânulos citoplasmáticos^(8,9), que danificam organismos não fagocitáveis, como helmintos em fase de migração tecidual⁽¹⁰⁾. A produção de eosinófilos é influenciada pela espécie do helminto, número de parasitas, localização no hospedeiro e tempo decorrido de infecção⁽¹¹⁾. Alguns autores afirmam que as helmintíases que levam à eosinofilia com maior frequência são aquelas que provocam invasão tecidual, sendo a eosinofilia mais pronunciada durante o desenvolvimento larvário e migração^(12,13).

O diagnóstico da toxocaríase é realizado com base em manifestações clínicas e em exames laboratoriais, principalmente pelo teste de ELISA IgG anti-*Toxocara* spp. e hemograma^(14,15), com eosinofilia, definida em crianças por número absoluto de eosinófilos $\geq 600/\text{mm}^3$ ^(16,17). Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a associação entre a presença de eosinofilia e a soropositividade para anticorpos IgG anti-*Toxocara* spp. em crianças atendidas no Sistema Único de Saúde (SUS).

Método

De fevereiro de 2004 a novembro de 2007, foram selecionadas crianças na faixa etária de sete meses a 12 anos, atendidas pelo SUS e residentes em áreas urbanas de

municípios pertencentes à região Noroeste do Paraná⁽¹⁸⁾, na área de abrangência da 15ª Regional de Saúde do Paraná, Brasil. Considerando a escassez de dados na literatura sobre a prevalência da toxocaríase no Paraná e a elevada frequência de cães e de fatores epidemiológicos que contribuem para a disseminação dessa zoonose tão negligenciada nos serviços públicos de saúde é que se propôs esta investigação. Após a assinatura espontânea do termo de consentimento livre e esclarecido do responsável pelo menor, quando havia indicação da realização do hemograma, foi feita a investigação sorológica para a pesquisa de anticorpos IgG anti-*Toxocara* spp. e a pesquisa de eosinofilia no hemograma.

Aproximadamente 85% da população dos municípios investigados (Astorga, Colorado, Mandaguaçu, Mandaguari, Marialva, Maringá, Nova Esperança, Paiçandu e Sarandi) residem no meio urbano⁽¹⁸⁾. Com base no levantamento estatístico anual, o tamanho da amostra foi calculado levando-se em conta uma prevalência esperada de 25% e precisão de 5%⁽¹⁹⁾ para a presença de anticorpos IgG anti-*Toxocara* spp. Para cada município relacionado, foi calculada uma amostra de crianças, com nível de confiança de 95%, utilizando-se o aplicativo Statistica 7.1. No total, foram investigadas 1.199 crianças.

Os municípios de Astorga, Colorado, Mandaguaçu e Nova Esperança contam com populações entre 17.000 e 30.000 habitantes e com 4.000 a 6.000 crianças na faixa etária de sete meses a 12 anos⁽¹⁸⁾. Os municípios de Marialva, Mandaguari e Paiçandu apresentam entre 31.000 e 45.000 habitantes, com 6.000 a 8.000 crianças nessa faixa etária⁽¹⁸⁾. O município de Sarandi, com 79.686 habitantes, possui 16.824 crianças na faixa etária de sete meses a 12 anos⁽¹⁸⁾. No município de Maringá, com 325.968 habitantes, optou-se por investigar crianças atendidas no Hospital Municipal de Maringá, o qual presta serviço exclusivo aos pacientes do SUS, e, em média, 13.000 crianças são atendidas anualmente.

Os resultados da sorologia foram associados com os valores hematológicos obtidos do leucograma (contagem absoluta de eosinófilos). Como critério para a eosinofilia, foi considerado valor maior ou igual a 600 eosinófilos/ mm^3 ($0,60 \times 10^9/\text{L}$), limite de referência para idade e sexo^(16,17). O grau de eosinofilia foi classificado de acordo com Naveira⁽¹¹⁾: ausente ($\geq 1\%$ e $\leq 4\%$), eosinofilia Grau I ($> 4\%$ e $\leq 10\%$), Grau II ($> 10\%$ e $\leq 20\%$), Grau III ($> 20\%$ a $\leq 50\%$) e Grau IV (acima de 50%).

Os anticorpos IgG anti-*Toxocara* spp. foram detectados pelo teste imunoenzimático ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), utilizando antígeno de excreção e secreção de *T. canis* (TES)^(19,20). Os soros foram previamente absorvidos com antígenos de *Ascaris suum* e, em todos os testes, utilizaram-se

soros padrão positivo (reagente), padrão negativo (não reagente) e soro limiar de reatividade (SRL). Os resultados foram expressos em índice de reatividade (IR), relativo à densidade óptica da amostra/densidade óptica do *SLR*. Foram consideradas amostras reagentes as que apresentaram $IR \geq 1$. Todas as amostras foram testadas em duplicata.

Os dados foram comparados por meio de estatística descritiva e do teste do qui-quadrado, utilizando-se o aplicativo BioEstat 3.0. O teste das proporções foi realizado com o aplicativo Statística 7.1. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá e pelas secretarias de educação e saúde dos municípios investigados.

Resultados

Do total de 1.199 pacientes cujas sorologias foram realizadas no período de estudo proposto, 92 eram provenientes de Astorga, 82 de Colorado, 59 de Mandaguacu, 92 de Mandaguari, 123 de Marialva, 260 de Maringá, 98 de Nova Esperança, 82 de Paiçandu e 311 de Sarandi.

A pesquisa revelou 386/1.199 (32,2%) crianças com anticorpos IgG anti-*Toxocara* spp. (Tabela 1). A maioria delas não apresentou eosinofilia (Tabela 1). Esta foi observada em 126/1.199 (19,6%) dos casos. Dos 386 pacientes sororreagentes ao *Toxocara* spp., 30 (7,8%) mostraram eosinofilia concomitante. Não houve associação entre eosinofilia e presença de anticorpos anti-*Toxocara* spp.; ao contrário, as crianças não portadoras de anticorpos anti-*Toxocara* spp. apresentaram, com maior frequência, contagem eosinofílica superior a $600/\text{mm}^3$ ($p=0,033$). A soroprevalência de anticorpos anti-*Toxocara* spp. e a eosinofilia foram mais frequentes em crianças de sete meses a cinco anos quando comparadas àquelas de seis a oito anos e de nove a 12 anos, ($p=0,011$ e $p=0,005$ respectivamente).

Dentre os 30 indivíduos reagentes ao *Toxocara* spp. e com aumento de eosinófilos (Tabela 2), a maioria apresentou eosinofilia Grau I ($p<0,001$). A distribuição dos graus de eosinofilia entre as três faixas etárias (Tabela 2) não mostrou diferença estatística ($p=0,51$). Das 30 crianças, dez (33,3%) relataram sintomas respiratórios e, destas, sete apresentaram Grau I de eosinofilia. As três outras crianças mostraram, cada

Tabela 1 - Frequência de anticorpos IgG anti-*Toxocara* spp. e eosinofilia em crianças de diferentes faixas etárias

Eosinofilia	Idade	IgG Anti- <i>Toxocara</i> spp.	
		Reagente % (N/T)	Não reagente % (N/T)
Sim	7 meses-5 anos	56,7 (17/30)	36,5 (35/96)
	6-8 anos	23,3 (7/30)	35,4 (34/96)
	9-12 anos	20,0 (6/30)	28,1 (27/96)
Não	7 meses-5 anos	46,0 (164/356)	46,7 (335/717)
	6-8 anos	34,3 (122/356)	23,3 (167/717)
	9-12 anos	19,7 (70/356)	30,0 (215/717)
Total		32,2 (386/1199)	67,8 (813/1199)

N: número de casos; T: número total de amostras.

Tabela 2 - Diferentes graus de eosinofilia em crianças sororreagentes e não reagentes ao *Toxocara* spp., atendidas em serviços públicos de saúde

IgG anti- <i>Toxocara</i> spp.	Faixa etária (anos)	Graus de eosinofilia				Total
		I	II	III	IV	
Reagente	7 meses-5 anos	12	3	1	1	17
	6-8 anos	4	3	0	0	7
	9-12 anos	2	3	1	0	6
	Total	18	9	2	1	30
Não reagente	7 meses-5 anos	19	14	2	0	35
	6-8 anos	17	14	3	0	34
	9-12 anos	13	12	2	0	27
	Total	49	40	7	0	96

*Maioria grau I; $p=0,0001$.

uma, os demais graus de eosinofilia (II, III e IV). A maioria relatou contato com cães e/ou gatos e com areia/terra ou gramado. A distribuição dos graus de eosinofilia entre as três faixas etárias, nas crianças não reagentes ao *Toxocara* spp., também não foi significativa ($p=0,98$) (Tabela 2).

Discussão

A maioria das crianças investigadas apresentou contagem de eosinófilos normal, inclusive aquelas sororreagentes ao *Toxocara* spp. Sabe-se que os eosinófilos comumente estão aumentados em processos alérgicos e parasitários^(21,22) e, principalmente, em helmintíases com invasão tecidual, sendo mais pronunciadas durante o processo migratório larvário^(12,13). Alguns fatores são importantes para o desencadeamento dos sintomas, como a quantidade de larvas migrantes, a hipersensibilidade e o estado imunológico dos indivíduos.

Apesar de a toxocaríase se caracterizar pela presença de larvas nos tecidos humanos, no presente estudo não houve associação entre eosinofilia e soropositividade ao *Toxocara* spp. Esses resultados estão em concordância com os achados de Radman⁽²³⁾, Anaruma⁽²⁴⁾ e Paludo⁽⁵⁾. Entretanto, outros autores encontraram associação, porém utilizaram como critério de eosinofilia a contagem relativa de eosinófilos^(25,26) ou valores inferiores a 600 eosinófilos/mm³^(3,27). Se fosse considerada a contagem relativa desses leucócitos, haveria elevação de 30 (7,8%) para 133 (34,5%) crianças eosinofílicas dentre as 328 soro-reagentes. Entretanto, é fundamental considerar os aspectos clínicos, pois de 30 crianças soropositivas, apenas 33% apresentaram sintomatologia sugestiva de toxocaríase, todas com eosinofilia. Como a maioria dos indivíduos é

assintomática, a eosinofilia é uma ferramenta adicional para a conclusão diagnóstica. A dosagem de anticorpos IgG é útil para o diagnóstico da toxocaríase^(1,3,5); entretanto, não serve como marcador de cura da doença, pois seus títulos podem permanecer elevados por anos após o tratamento^(4,28). Assim, cabe destacar que, nos dez casos soropositivos, eosinofílicos e com quadro de asma ou bronquite, o tratamento com tiabendazol 25mg/kg/dia por sete dias^(20,15) reduziu os sintomas pulmonares e normalizou o número de eosinófilos. Os sinais clínicos da toxocaríase, inclusive o quadro clínico pulmonar, são variáveis e dependem do número de ovos ingeridos, do tecido envolvido e da resposta alérgica induzida pelo hospedeiro^(29,30).

A soropositividade foi mais frequente em crianças de menor faixa etária, concordando com os resultados de Paludo⁽⁵⁾ e Karadam⁽²⁷⁾, pois nessas faixas etárias, devido aos hábitos comportamentais, as crianças são mais expostas à areia e ao solo contaminados^(4,5). No presente estudo, foi observada elevada prevalência de anticorpos anti-*Toxocara* spp., principalmente em crianças menores de cinco anos. Diversos trabalhos realizados em outras regiões do país também observaram prevalência similar^(1,3-5,31,32). Nesta pesquisa, com exceção de algumas crianças que apresentaram sintomas respiratórios e presença de eosinofilia, a maioria foi assintomática, não sendo, inclusive, observada associação da zoonose e de sua sintomatologia com eosinofilia. Deve-se destacar que, quase sempre, a parasitose evolui de forma assintomática^(15,33,34) e os títulos de IgG anti-*Toxocara* spp. podem permanecer elevados durante anos após o tratamento^(4,28). Assim, a pesquisa de eosinófilos é uma ferramenta secundária para o diagnóstico de pacientes com indícios clínicos de toxocaríase.

Referências bibliográficas

- Campos Júnior D, Elefant GR, Silva EO, Ganolfi L, Jacob CM, Tofeti A et al. Freqüência de soropositividade para antígenos de *Toxocara canis* em crianças de classes sociais diferentes. Rev Soc Bras Med Trop 2003;36: 509-13.
- Despommier D. Toxocaríase: clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. Clin Microbiol Rev 2003;16:265-72.
- Figueiredo SD, Taddei JA, Menezes JJ, Novo NF, Silva EO, Cristóvão HLG et al. Estudo clínico-epidemiológico da toxocaríase em população infantil. J Ped 2005;81:126-32.
- Lopez MdelA, Martin G, Chamorro M del C, Alonso JM. Toxocaríase em Niños de Una Region Subtropical. Medicina (Buenos Aires) 2005;65:226-30.
- Paludo LM, Falavigna DL, Elefant GR, Gomes LM, Baggio ML, Amadei LB et al. Frequency of *Toxocara* infection in children attended by the health public service of Maringá, South Brazil. Rev Inst Med Trop 2007;49:6-12.
- Beaver PC. Parasitological Reviews - Larva Migrans. Exp Parasit 1956;5:587-621.
- Barcat JA. Larva migrans: perros, parasitos y hombres. Medicina (Buenos Aires) 2000;60:270-2.
- Gleich GJ. The eosinophil and bronchial asthma: Current understanding. J Allergy Clin Immunol 1990;85:422-33.
- Moqbel R, Lacy P. Exocytotic events in eosinophils and mast cells. Clin Exp Allergy 1999;29:1017-22.
- Jacob CM. Doença Pulmonar secundária a migração de parasitas. In: Rozov T. Doenças Pulmonares em Pediatria. São Paulo: Atheneu; 1999. p. 317-25.
- Naveira JB. Aspectos da biologia dos eosinófilos. Rev Bras Maraliolog Doenças Trop 1960;12:103.
- Moqbel P, Pritchard DI. Parasites and allergy: evidence for a "cause and effect" relationship. Clin Exp Allergy 1990;20:611-8.
- Mawhorter SD. Eosinophilia: caused by parasites. Pediatr Ann 1994;23:405-13.
- Jacob CM. Síndrome da larva migrans visceral por *Toxocara canis* (Toxocaríase). In: Tonelli E, Freire LMS, editores. Doenças infecciosas na infância e adolescência. 2ª ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2000. p. 1421-31.

15. Pawlowski, Z. Toxocariasis in humans: clinical expression and treatment dilemma. *J Helminthol* 2001;75:299-305.
16. Bain BJ. Células Sanguíneas: consulta rápida. Porto Alegre: Artmed; 1998.
17. Henry JB. Diagnóstico clínico e tratamento por métodos laboratoriais. 20ª ed. Barueri: Manole; 2008. p. 593.
18. IPARDES [homepage on the internet]. IPARDES: Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e ial. [cited 2007 Oct 15]. Available from: <http://www.ipardes.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=6>.
19. De Savigny DH, Voller A, Woodruff AW. Toxocariasis: serological diagnosis by enzyme immunoassay. *J Clin Pathology* 1979;32:284-8.
20. Elefant GR, Jacob CM, Kanashiro EH, Peres BA. Toxocaríase. In: Ferreira AW, Ávila SLM, editores. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 323-32.
21. Wardlaw AJ. Eosinophilis in the 1990s: new perspective on their role in health and disease. *Postgrad Med J* 1994;70:536-52.
22. Mendes DM, Camargo de MF, Aun VV, Fernandes MM, Aun WT, Mello de JF. Eosinofilia. *Rev Bras Alerg Imunopatol* 2000;23:84-91.
23. Radman NE, Archelli SM, Fonrouge RD, Guardis M del V, Linzitto OR. Human Toxocarosis. It's Seroprevalence in the City of La Plata. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000;95:281-5.
24. Anaruma FF, Chieffi PP, Correa CRS, Camargo ED, Silveira EPR, Aranha JJB *et al*. Human toxocariasis: a seroepidemiological survey in the municipality of Campinas, Brazil. *Rev Inst Med Trop* 2002;44:303-7.
25. Chiodo P, Basualdo J, Ciarmela L, Pezzani B, Apezteguía M, Minvielle M. Related factors to human toxocariasis in a rural community of Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006;101:397-400.
26. Roldán WH, Espinoza YA, Huapaya PE, Huiza AF, Sevilla CR, Jiménez S. Frequency of human toxocariasis in a rural population from Cajamarca, Peru determined by dot-elisa test. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2009;51:67-71.
27. Karadam SY, Ertug S, Ertabaklar H, Okyay P. The comparison of IgG antibodies specific to *Toxocara* spp. among eosinophilic and non-eosinophilic groups. *New Microbiol* 2008;31:113-6.
28. Rubinsky-Elefant G, Shimizu SH, Sanches MC, Jacob CM, Ferreira AW. A serological follow-up of toxocariasis patients after chemotherapy based on the detection of IgG, IgA and IgE antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Lab Anal* 2006;20:164-72.
29. Glickman LT, Shofer FS. Zoonotic visceral and ocular larva migrans. *Rev Clin North Am* 1987;17:39-53.
30. Muradian V, Gennari SM, Glickman LT, Pinheiro SR. Epidemiological aspects of Visceral Larva Migrans in children living at São Remo Community, São Paulo (SP), Brazil. *Vet Parasitol* 2005;134:93-7.
31. Damian MM, Martins M, Sardinha JF, Souza LO, Chaves A, Tavares A M. Frequência de anticorpo anti-*Toxocara canis* em comunidade do Rio Uatumã, no Estado do Amazonas. *Rev da Soc Bras de Med Trop* 2007;40:661-4.
32. Colli CM, Rubinsky-Elefant G, Paludo ML, Falavigna DL, Guilherme EV, Mattia S *et al*. Serological, clinical and epidemiological evaluation of toxocariasis in urban areas of south Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 2010;52:69-74.
33. Di Bartolomeo S, Alonso L, Doblros A, San Miguel S, Rojkes E, Monachesi L *et al*. Eosinofilia: principal parámetro para la detección de toxocarosis. *Acta Bioq Clín Latinoam* 2001;4:527-30.
34. Magnaval JF, Glickman LT, Dorchie P, Morassin B. Highlights of human toxocariasis. *Korean J Parasitol* 2001;39:1-11.