

Toxocaríase: confirmação laboratorial de casos clínicos suspeitos de infeção por *Toxocara* spp. entre 2018 e 2022

*Toxocariasis: laboratory confirmation of clinical cases suspected of infection by *Toxocara* spp. between 2018-2022*

Tânia Reis, Anabela Vilares, Susana Martins, Idalina Ferreira, Maria João Gargaté

m.joao.gargate@insa.min-saude.pt

Laboratório Nacional de Referência de Infeções Parasitárias e Fúngicas. Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

_Resumo

A toxocaríase é uma infeção parasitária zoonótica com distribuição mundial, considerada pelo *Centre for Disease Control and Prevention* (CDC) uma das doenças parasitárias mais negligenciadas e que apresenta uma taxa de prevalência subestimada, sendo raros os estudos sobre a seroprevalência para *Toxocara* spp. em Portugal. A infeção no Homem pode ocorrer de várias formas, sendo predominante a infeção através da ingestão de ovos infetados existentes no meio ambiente.

O objetivo deste estudo foi efetuar uma análise dos resultados laboratoriais de todos os casos com suspeita clínica de toxocaríase estudados no Laboratório Nacional de Referência de Infeções Parasitárias e Fúngicas do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) entre 2018 e 2022, tal como descrever as características demográficas dos casos confirmados.

As metodologias laboratoriais usadas foram métodos serológicos: determinação qualitativa de anticorpos IgG para *Toxocara canis* – ELISA (TECAN) e Imunoblot comercial (Ldbio Iberlab) para confirmação dos casos positivos. Durante o período de estudo de 5 anos foram analisadas amostras de soro de 542 casos suspeitos de infeção por *Toxocara* spp., dos quais 160 (29,5%) apresentaram serologia positiva, tendo 19% (30/160) ocorrido em crianças entre os 5 e os 14 anos de idade, sendo este o grupo etário com maior número de infeções causadas por este agente etiológico.

Estes resultados mostram uma seroprevalência muito superior aos 10,5% encontrados na Região europeia sendo associada principalmente a fatores socioeconómicos e ambientais, destacando-se a necessidade de uma compreensão mais aprofundada da biologia molecular, bioquímica, genética, epidemiologia e ecologia de *Toxocara* spp. que possam levar a novas e melhores estratégias para o tratamento, diagnóstico e controlo desta parasitose, tais como o desenvolvimento de uma vacina e/ou de um agente ovicida eficaz, com vista a um melhor controlo deste problema de saúde pública.

_Abstract

*Toxocariasis is a zoonotic parasitic infection with worldwide distribution, considered by the Center for Disease Control and Prevention to be one of the most neglected parasitic diseases and which has an underestimated prevalence rate, with studies on seroprevalence for *Toxocara* spp being rare in Portugal. It is a disease caused by the larval forms of *Toxocara* spp., nematodes belonging to the order Ascaridiodae, family Toxocaridae, with the species *Toxocara canis*, whose definitive hosts are canids, responsible for the majority of infections in humans. Infection in humans can occur in several ways, with the predominant mode of infection being through the ingestion of infected larval eggs*

existing in the environment, and presenting four main clinical forms.

The aim of the study was to perform an analysis of the laboratory results of all cases with clinical suspicion of toxocariasis studied at the National Reference Laboratory for Parasitic and Fungal Infections of the National Institute of Health Dr Ricardo Jorge (Portugal) between 2018 and 2022, as describe the demographic characteristics in confirmed cases.

*The laboratory methodologies used were serological methods: qualitative determination of IgG antibodies to *Toxocara canis* – ELISA (TECAN) and commercial Immunoblot (Ldbio Iberlab) to confirm positive cases. During the 5-year study period, serum samples from 542 suspected cases of *Toxocara* spp. infection were analyzed, of which 160 (29.5%) presented positive serology, 19% (30/160) of which occurred in children aged 5 and 14 years of age, this being the age group with the highest number of infections caused by this etiological agent.*

*These results show a seroprevalence much higher than the 10.5% found in the European region, being associated mainly with socioeconomic and environmental factors, highlighting the need for a more in-depth understanding of the molecular biology, biochemistry, genetics, epidemiology and ecology of *Toxocara* spp. that could lead to new and better strategies for treatment, diagnosis and control of this parasitic disease, such as the development of a vaccine and/or an effective ovicidal agent to control this helminthozoonosis and promote a higher public health standard.*

_Introdução

A toxocaríase é uma infeção parasitária zoonótica com distribuição mundial de maior incidência em países tropicais e subtropicais, sendo também frequente em climas temperados como a bacia do Mediterrâneo (1-3). A infeção em humanos é causada pelas formas larvares de *Toxocara* spp., nemátodes pertencentes à ordem *Ascaridiodae*, família *Toxocaridae*, sendo a espécie *Toxocara canis*, que tem como hospedeiro definitivo os canídeos (cães, raposas, lobos, coiotes), responsável pela maioria das infeções em humanos.

As espécies *Toxocara cati* e *Toxocara malaysiensis* têm como hospedeiro definitivo os felídeos, contudo raramente ou nunca infetam o Homem (4,5). Estudos veterinários mostraram que ambas as espécies de *Toxocara canis* e *T. cati* estão amplamente distribuídas em animais carnívoros domésticos e selvagens em Portugal, variando entre 5% em cães domésticos e 29% em cães vadios do norte de Portugal, 11-38% em gatos vadios de Lisboa e cães domésticos de Évora. É também prevalente em lobos ibéricos (9%) e raposas vermelhas (21-37%) do centro de Portugal (4).

O Homem pode infetar-se através da ingestão acidental de ovos embrionados de *Toxocara* spp, a partir de água ou vegetais ou através da ingestão de larvas hipobióticas em hospedeiros intermediários (4). No entanto, o modo predominante de infeção é através da ingestão de ovos infetados existentes no meio ambiente, comportamento comum nas crianças. Estes parasitas só completam o seu ciclo de vida no tubo digestivo do cão ou gato, local onde as larvas atingem formas adultas com capacidade de reprodução (1-3). Uma larva fêmea pode produzir até 200 000 ovos por dia, que são excretados nas fezes do animal infetado (6). Os ovos apenas adquirem capacidade infetante após aproximadamente uma semana no solo, em condições favoráveis, período em que se tornam embrionados podendo depois manter-se infetantes no solo vários anos (6).

A doença humana pode apresentar quatro formas clínicas principais: Larva migrans visceral (LMV), Larva migrans Ocular (LMO), Neurotoxocaríase (NT) e a forma assintomática ou subclínica, denominada de toxocaríase comum (TC). A LMV é mais prevalente em crianças de 1-7 anos de idade e pode resultar em hepatite e pneumonite, com hepatomegalia, eosinofilia, linfadenopatia, tosse, febre, perda de peso, diarreia e vômitos (4). A LMO ocorre mais frequentemente em crianças mais velhas (5-10 anos de idade) e adolescentes, podendo resultar em endoftalmite crónica, retinite, granuloma posterior/periférico e cegueira (7). As larvas podem migrar para o sistema nervoso central pode desenvolver neurotoxocaríase e causar meningoencefalite, meningite,

mielite, epilepsia, vasculite cerebral e doença neurodegenerativa em indivíduos de meia idade, resultando em manifestações clínicas inespecíficas como dores de cabeça e febre. O quadro clínico da toxocaríase comum (TC) é similar à LMV mas com manifestações mais ligeiras, apresentando eosinofilia e concentração aumentada da imunoglobulina E (7).

O tratamento em humanos varia, em função do quadro clínico e da localização das larvas. São usados anti-helmínticos como o albendazol (primeira linha) ou mebendazol, juntamente com corticosteroides para minimizar as reações alérgicas ligadas aos antígenos de *Toxocara* spp. (4).

Esta doença parasitária é considerada pelo *Centre for Disease Control and Prevention* (CDC) uma das mais importantes infeções parasitárias negligenciadas (4). Tratando-se de uma parasitose disseminada por muitos países, a sua prevalência é elevada mesmo nos países desenvolvidos. Apesar da sua importância clínica para a saúde pública, a prevalência da toxocaríase está subestimada, não só devido à sua sintomatologia inespecífica, mas também pelo facto de não ser uma doença de notificação obrigatória e consequentemente não estar incluída nos programas de vigilância epidemiológica existentes. São muito escassos os estudos sobre a seroprevalência para *Toxocara* spp. em Portugal, existindo apenas dois estudos, um que mostrou que em 457 amostras humanas foram detetados 21,9% de casos positivos (8) e outro estudo posterior, que revelou uma taxa de seropositividade de 18,8% de um total de 846 soros de indivíduos suspeitos de infeção por *Toxocara* spp (4).

_Objetivo

Este estudo tem como objetivo descrever as características demográficas de indivíduos com quadro clínico suspeito de infeção por *Toxocara* spp. recebidos no Laboratório Nacional de Referência de Infeções Parasitárias e Fúngicas do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) entre janeiro de 2018 e dezembro de 2022.

_Material e métodos

Foi efetuada uma análise retrospectiva dos resultados laboratoriais de todos os casos com suspeita clínica de toxocaríase estudados no Laboratório Nacional de Referência de Infecções Parasitárias e Fúngicas do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) entre janeiro de 2018 e dezembro de 2022. Para a análise descritiva dos dados demográficos dos casos confirmados, recorreu-se ao cálculo de frequências absolutas e relativas.

O diagnóstico laboratorial da infeção por *Toxocara* spp. foi realizado por métodos serológicos, determinação qualitativa de anticorpos IgG para *Toxocara canis* – ELISA (TECAN) e Immunoblot comercial (Ldbio Iberlab) para confirmação dos casos suspeitos de infeção.

_Resultados

Entre 2018 e 2022, foram analisadas amostras de soro de 542 casos suspeitos de infeção por *Toxocara* spp., dos quais 160 (29,5%) apresentaram serologia positiva.

Na **tabela 1** apresenta-se a distribuição dos casos com quadro clínico suspeito de infeção por *Toxocara* spp. estudados no INSA entre 2018 e 2022 e o número de casos com diagnóstico laboratorial confirmado, por ano de diagnóstico.

O quadro clínico para a maioria dos casos de infeção por *Toxocara* spp. confirmados é desconhecido. A eosinofilia foi conhecida em 40 dos 160 (25%) casos de infeção por *Toxocara* spp., seguida de esplenomegalia, diarreia crónica, doença renal e febre. Em 9% dos casos descreveu-se um quadro de lesões oculares (uveíte unilateral, bilateral, retinite e coriorretinite) maioritariamente em crianças e jovens adultos.

Dos 160 casos positivos para *Toxocara* spp., apenas dois referiram ter tido contacto próximo com gatos ou cães.

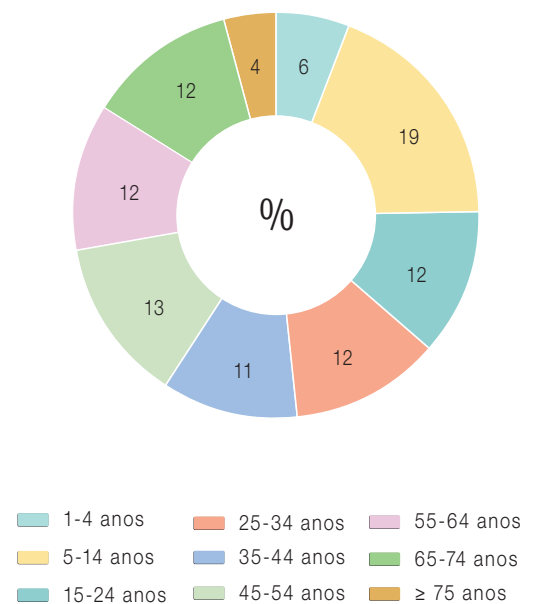
Distribuição de casos de infeção por *Toxocara* spp. por sexo e grupo etário

Dos 160 doentes com infeção por *Toxocara* spp. confirmada, 86 (53,8%) pertenciam ao sexo masculino e 74 casos (46,2%) ao sexo feminino. No decorrer dos 5 anos em estudo, observou-se que 19% (30/160) dos casos ocorreram em crianças entre os 5 e os 14 anos de idade, sendo este o grupo etário com maior número de infeções por *Toxocara* spp. (**gráfico 1**).

Gráfico 1: Distribuição dos casos de infeção por *Toxocara* spp. por grupo etário, 2018-2022.

Tabela 1: Distribuição anual dos casos de infeção por *Toxocara* spp., 2018-2022

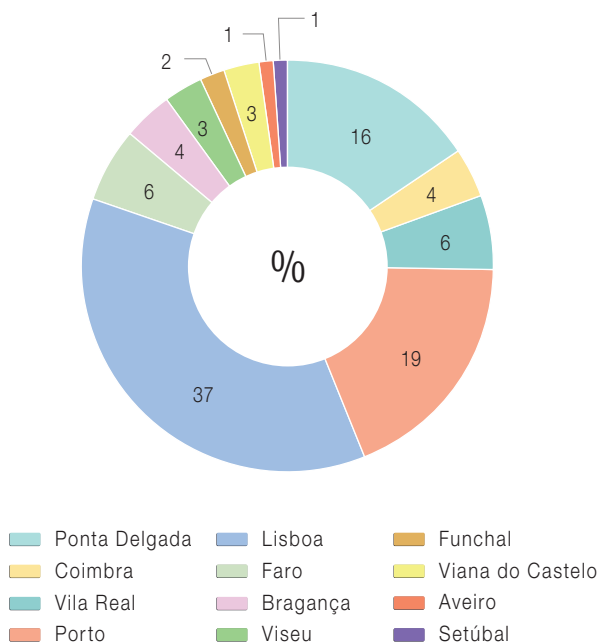
Ano	Número total de casos suspeitos estudados	Nº (%) de casos confirmados de infeção por <i>Toxocara</i> spp.
2018	134	44 (32,8)
2019	133	41 (30,8)
2020	86	18 (20,9)
2021	72	20 (27,8)
2022	117	37 (31,6)
Total	542	160 (29,5)



Distribuição de casos de infeção por *Toxocara spp.* por distrito de residência

A maioria dos casos de toxocaríase confirmados no INSA entre 2018 e 2022, eram residentes na área metropolitana de Lisboa (37%; 59/160), seguido da área metropolitana do Porto (19%; 30/160) e de Ponta Delgada (16%; 26/160) (gráfico 2).

Gráfico 2: Distribuição dos casos de infeção por *Toxocara spp.* por distrito de residência, 2018-2022.



Todas as áreas geográficas de Portugal registaram casos positivos para *Toxocara spp.*, à exceção do Alentejo. Lisboa e Vale do Tejo registou a maior positividade (37,5%), seguido do Norte (31,9%) e Centro (6,9%) (tabela 2).

Tabela 2: Distribuição do número de casos positivos para *Toxocara spp.*, por área geográfica, 2018-2022.

Área geográfica	Número de casos positivos	Percentagem de casos positivos
Norte	51	31,9
Centro	11	6,9
Lisboa e Vale do Tejo	60	37,5
Alentejo	0	0,0
Algarve	9	5,6
Madeira	3	1,9
Açores	26	16,3
Total	160	100

_Discussão e conclusão

Globalmente, nos 542 casos suspeitos de infeção por *Toxocara spp.* estudados no INSA entre 2018 e 2022, foi encontrada uma seroprevalência de 29,5%. Este valor é superior, aos 21,9% reportados também pelo INSA num estudo efetuado no sul de Portugal entre 1995 e 2005 em 457 amostras suspeitas de toxocaríase (8), tal como num estudo posterior no qual um total de 846 soros de indivíduos suspeitos da referida infeção, colhidos entre 2010 e 2020 em Portugal, revelaram uma seroprevalência de 18,8% (4).

Dados de outros países europeus mostram taxas de seroprevalência de 8,0% em residentes da Catânia, Itália e 16,0% em residentes de Attica, Grécia (4). Uma revisão sistemática com meta-análise publicada em 2019 revelou uma seroprevalência global de 19,0% de toxocaríase em humanos, variando de 8,2% no Mediterrâneo Oriental a 37,7% em África, com uma seroprevalência de 10,5% (8,5-12,8%) em toda a Região europeia (9). Observaram-se seroprevalências mais elevadas em países tropicais menos industrializados, incluindo África: 30% na Nigéria,

45% na Suazilândia e 93% na Reunião (África), 81% no Nepal, 63,2% na Indonésia e 58% na Malásia (Ásia) e 36% no Brasil e 37% no Peru (América do Sul) (10).

Apesar de se tratarem de estudos com desenhos e amostras populacionais diferentes, o presente e os referidos estudos referentes a Portugal, mostram uma seroprevalência muito superior aos 10,5% encontrados na região europeia (9). Com a agravante que obtivemos um menor número de amostras suspeitas e casos diagnosticados de toxocaríase em 2020 e 2021 muito provavelmente devido ao adiar de cuidados médicos e realização de técnicas complementares de diagnóstico devido à pandemia da COVID-19.

Conforme descrito por Rostami *et al.* em 2019, as elevadas seroprevalências da infeção por *Toxocara* spp. foram associadas principalmente a fatores socioeconómicos e ambientais, como sejam o menor nível de instrução, menor índice de desenvolvimento humano, menor latitude, maior humidade, maior temperatura e maior precipitação (9). Considerando se outros potenciais fatores de risco relacionados com a aquisição da infeção por *Toxocara* spp., por exemplo o sexo masculino, idade jovem, habitação em meio rural, contacto próximo com cães, gatos ou solo, consumo de carne crua e consumo de água não tratada (9).

No presente estudo, o maior número de casos de infeção por *Toxocara* spp. ocorreu nos homens (53,8%), o que está de acordo com a literatura que relata o sexo masculino como um potencial fator de risco associado à seropositividade para esta parasitose (9). No que respeita à idade, também este estudo mostrou a idade jovem como um fator de risco acrescido, sendo o grupo etário entre os 5 e os 14 anos de idade o que revelou um maior número de infeções por *Toxocara* spp. (19%). Neste estudo foram identificados casos de infeção em todo o território de Portugal continental e Regiões Autónomas, pelo que habitar em áreas rurais não foi revelado como um fator de risco, sendo as zonas com maior número de casos positivos os maiores centros urbanos, as áreas metropolitanas de Lisboa e Porto. Por outro lado, o facto de neste estudo não terem sido diagnos-

ticados casos de toxocaríase em residentes na Região do Alentejo pode apenas relacionar-se com o encaminhamento dos casos clínicos suspeitos de infeção para outras instituições de saúde com diagnóstico laboratorial, o que *per si* reforça a importância da vigilância laboratorial das doenças parasitárias em Portugal. Com respeito aos outros fatores de risco não obtivemos qualquer informação disponível para o poder avaliar.

Apesar da utilização de anti-helmínticos de largo espectro em animais de estimação, campanhas educativas e multas para promover a recolha de fezes pelos donos de animais de companhia, controlo de cães vadios e, mais recentemente, a substituição nos parques infantis de terra por pisos sintéticos e a construção de parques caninos por alguns municípios, a toxocaríase continua com elevados indicadores de transmissibilidade, principalmente nos centros urbanos. Estes indicadores são sustentados pelo atual e rápido crescimento das populações humana e canina em coabitação; pelos fracos recursos financeiros dos “donos” dos animais, para proceder a cuidados veterinários indispensáveis como a desparasitação; pelas más práticas de higiene na recolha dos dejetos dos cães e pela falta de implementação de programas específicos de vigilância e controlo desta parasitose.

Acresce ainda que é necessária uma maior compreensão da biologia molecular, bioquímica, genética, epidemiologia e ecologia de *Toxocara* spp. e para tal são necessárias atividades de investigação que se concentrem no desenvolvimento de ferramentas moleculares para identificação específica e análise genética devem levar a novas e melhores estratégias para o tratamento, diagnóstico e controlo desta parasitose (11). Nomeadamente, o desenvolvimento de uma vacina e/ou de um agente ovicida eficaz, que há muito são objetivos da comunidade científica, o que melhoraria consideravelmente as hipóteses de controlar esta infeção zoonótica que constitui um problema para a saúde pública (11).

Assim, uma estratégia integrada e multidisciplinar *One Health* deveria melhorar a nossa base de conhecimentos e reforçar a prevenção e o controlo da toxocaríase.

Referências bibliográficas:

- (1) Magnaval JF, Glickman LT, Dorchies P, et al. Highlights of human toxocariasis. *Korean J Parasitol.* 2001 Mar;39(1):1-11. <https://doi.org/10.3347/kjp.2001.39.1.1>
- (2) Despommier D. Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. *Clin Microbiol Rev.* 2003 Apr;16(2):265-72. Review. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.2.265-272.2003>
- (3) Taylor MR, Keane CT, O'Connor P, et al. The expanded spectrum of toxocaral disease. *Lancet.* 1988 Mar 26;1(8587):692-5. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(88\)91486-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(88)91486-9).
- (4) Alho AM, Ferreira PM, Clemente I, et al. Human Toxocariasis in Portugal-An Overview of a Neglected Zoonosis over the Last Decade (2010-2020). *Infect Dis Rep.* 2021 Nov 4;13(4):938-948. <https://doi.org/10.3390/idr13040086>
- (5) Fisher M. *Toxocara cati*: an underestimated zoonotic agent. *Trends Parasitol.* 2003 Apr;19(4):167-70. [https://doi.org/10.1016/s1471-4922\(03\)00027-8](https://doi.org/10.1016/s1471-4922(03)00027-8)
- (6) Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for veterinarians: Prevention of zoonotic transmission of ascarids and hookworms of dogs and cats. <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/5908>
- (7) Rostami A, Ma G, Wang T, et al. Human toxocariasis - A look at a neglected disease through an epidemiological 'prism'. *Infect Genet Evol.* 2019 Oct;74:104002. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.104002>
- (8) Martins S, Vilares A, Júlio C, et al. Helminth larval infections—Toxocariasis, cysticercosis and cystic hydatidosis. *Acta Parasitol Port.* 2005;12:206.
- (9) Rostami A, Riahi SM, Holland CV, et al. Seroprevalence estimates for toxocariasis in people worldwide: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019 Dec 19;13(12):e0007809. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007809>
- (10) Smith H, Holland C, Taylor M, et al. How common is human toxocariasis? Towards standardizing our knowledge. *Trends Parasitol.* 2009 Apr;25(4):182-8. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2009.01.006>
- (11) Macpherson CN. The epidemiology and public health importance of toxocariasis: a zoonosis of global importance. *Int J Parasitol.* 2013 Nov;43(12-13):999-1008. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.07.004>