

ISABELLA BRAGHIN FERREIRA

**TOXOCARÍASE EM COMUNIDADES INDÍGENAS BRASILEIRAS: UMA
ABORDAGEM EM SAÚDE ÚNICA**

Presidente Prudente - SP
2025

ISABELLA BRAGHIN FERREIRA**TOXOCARÍASE EM COMUNIDADES INDÍGENAS BRASILEIRAS: UMA
ABORDAGEM EM SAÚDE ÚNICA**

Defesa de Tese de Doutorado apresentada à
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação,
Universidade do Oeste Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Doutora – Área de concentração:
Fisiopatologia Animal.

Orientador:
Prof. Dr. Vamilton Alvares Santarém

636.089 Ferreira, Isabella Braghin.
F383t Toxocaríase em comunidades indígenas brasileiras:
 uma abordagem em saúde única / Isabella Braghin
 Ferreira – Presidente Prudente, 2025.
 92f.: il.

Tese (Doutorado em Fisiopatologia e Saúde Animal)
- Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente
Prudente, SP, 2025.
Bibliografia.
Orientador: Vamilton Alvares Santarém.

1. Ecoepidemiologia. 2. Zoonose. 3.
Soroprevalência. I. Título.

Catalogação na fonte: Michele Mologni – CRB 8-6204

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "TOXOCARÍASE EM COMUNIDADES INDÍGENAS BRASILEIRAS: UMA ABORDAGEM EM SAÚDE ÚNICA"

AUTOR(A): ISABELLA BRAGHIN FERREIRA

ORIENTADOR(A): Prof. Dr. VAMILTON ALVARES SANTARÉM

Aprovado(a) como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR(A) em
FISIOPATOLOGIA E SAÚDE ANIMAL

Área de Concentração FISIOPATOLOGIA ANIMAL, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. VAMILTON ALVARES SANTARÉM

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Prof. Dr. RODRIGO COSTA DA SILVA

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Prof. Dr. ROGÉRIO GIUFFRIDA

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Profa. Dra. ANDREA PIRES DOS SANTOS

Purdue University West Lafayette – IN - Estados Unidos

Prof. Dr. ALEXANDER WELKER BIONDO

UFPR - Universidade Federal do Paraná / Curitiba (PR)

Data da realização: Presidente Prudente, 23 de Setembro de 2025.

Central de Assinaturas Eletrônicas

Sobre o documento

Assunto: Documento eletrônico
Status do documento: Concluído
Data de criação do documento: 30/09/2025 11:31
Fuso horário: (UTC-03:00) Brasília
Número de assinaturas: 5
Solicitante: KEID RIBEIRO KRUGER (#6283924)

Signatários do documento

ROGERIO GIUFFRIDA (PROFESSOR)

rgiuffrida@unoeste.br
Recebido em 30/09/2025 11:31
Assinado em 30/09/2025 11:41
Assinatura Interna UNOESTE
Usando endereço IP: 201.74.172.5
ID da assinatura: 5676031

VAMILTON ALVARES SANTAREM (PROFESSOR)

vamilton@unoeste.br
Recebido em 30/09/2025 11:31
Assinado em 30/09/2025 14:13
Assinatura Interna UNOESTE
Usando endereço IP: 177.131.39.1
ID da assinatura: 5676030

RODRIGO COSTA DA SILVA (PROFESSOR)

rodrigosilva@unoeste.br
Recebido em 30/09/2025 11:31
Assinado em 30/09/2025 13:36
Assinatura Interna UNOESTE
Usando endereço IP: 177.131.39.1
ID da assinatura: 5676032

ANDREA PIRES DOS SANTOS (SIGNATÁRIO EXTERNO)

santos1@purdue.edu
Recebido em 30/09/2025 11:31
Assinado em 30/09/2025 15:01
Assinatura Interna UNOESTE
Usando endereço IP: 128.210.106.129
ID da assinatura: 5676034

ALEXANDER WELKER BIONDO (SIGNATÁRIO EXTERNO)

abiondo@ufpr.br
Recebido em 30/09/2025 11:31
Assinado em 30/09/2025 11:59
Assinatura Interna UNOESTE
Usando endereço IP: 2804:7f2:c00a:690c:941c:f9fe:92f4:3c47
ID da assinatura: 5676033

URL do documento: <https://www.unoeste.br/ca/d3cd2408>

Assinatura digital do documento: 15505fd85ff73c564ee62e7d56f4cb95d42ad32a1688f1f64b1b6d5502bfc85f

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

Mantida pela EPEC - Empresa Prudentina de Educação e Cultura SA

Dedico este trabalho a Deus, por conceder-me saúde e resiliência; aos meus pais e avós, pelo estímulo constante; à minha irmã, como fonte de inspiração; ao meu esposo, pelo apoio e incentivo; e a mim mesma, que um dia sonhei com o doutorado sem imaginar que se tornaria realidade.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, ao meu orientador, Prof. Dr. Vamilton Alvares Santarém, registro minha imensa gratidão. Desde a graduação, ele tem guiado minha trajetória acadêmica com paciência e ética, sendo inspiração e referência em minha formação.

À equipe de pesquisa do Laboratório de Parasitologia Veterinária da Unoeste, especialmente Roberto Teixeira de Souza Filho, Joyce Aparecida da Silva e Flávia Eloise França, agradeço o apoio nas etapas de processamento e análise das amostras.

Ao Prof. Dr. Rogério Giuffrida, agradeço pela disponibilidade, clareza nas explicações e pelo apoio na condução das análises estatísticas e fortalecimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Alexander Welker Biondo e à Dra. Louise Bach Kmetiuk, sou grata pela oportunidade de integrar a equipe de pesquisa. Estendo meus agradecimentos a todos que contribuíram, de forma direta ou indireta, nas coletas durante as visitas às aldeias, tornando este trabalho possível.

À Dra. Susana Angélica Zevallos Lescano, do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo, agradeço pela parceria na realização da sorologia e pela paciência nos ensinamentos enquanto estive em seu laboratório.

À técnica do Laboratório de Genética Molecular da Unoeste, Mayara Vidotto, agradeço pelo auxílio indispensável durante a etapa de caracterização molecular.

À Dra. Andrea Pires dos Santos, sou imensamente grata por me receber em seu laboratório durante meu período sanduíche na Purdue University, proporcionando aprendizado valioso e experiências que contribuíram significativamente para meu crescimento acadêmico e pessoal.

Ao Felix Rodrigo Mbaraca Martinez, agradeço a colaboração durante as coletas na comunidade Ocoí, por nos guiar e intermediar a comunicação com outros indígenas.

Por fim, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro por meio da concessão das bolsas de Doutorado e Doutorado Sanduíche no Exterior.

“A ciência nunca resolve um problema sem criar pelo menos outros dez”.
(George Bernard Shaw)

RESUMO

Toxocaríase em comunidades indígenas brasileiras: uma abordagem em saúde única

A toxocaríase é uma doença parasitária zoonótica negligenciada que pode afetar desproporcionalmente populações em situação de vulnerabilidade social, principalmente em regiões tropicais e subtropicais. Populações indígenas são suscetíveis à infecção por *Toxocara* spp. devido às condições inadequadas de infraestrutura e acesso a cuidados de saúde e assistência veterinárias limitados. O presente trabalho teve como objetivo investigar o panorama da toxocaríase em comunidades indígenas localizadas nos estados de São Paulo e Paraná (artigo 1), e na tríplice fronteira Brasil-Paraguai-Argentina (artigo 2), sob a perspectiva de Saúde Única. Amostras de sangue foram coletadas de indígenas para pesquisa de anticorpos anti-*Toxocara* spp. pela técnica de ELISA, junto a aplicação de questionário socioepidemiológico para identificação de possíveis fatores de risco associados a soropositividade. Amostras de fezes e pelo de cães, assim como amostras de solo, foram coletadas para pesquisa de ovos de *Toxocara* spp. Os resultados sorológicos indicaram altas prevalências nos indígenas, mostrando soropositividade em 342/463 (73,9%; IC 95%: 70,0–77,7) indivíduos das comunidades de Paraná e São Paulo, e em 246/258 (95,3%; IC 95%: 92,1–97,3) indígenas da tríplice fronteira. Ovos de *Toxocara* spp. foram encontrados em 9/194 (4,6%) amostras de fezes e em 4/204 (2,0%) amostras de pelo de cães das comunidades de Paraná e São Paulo; enquanto ovos de *Toxocara* spp. foram observados em 8/124 (6,5%) amostras de fezes de cães da comunidade da tríplice fronteira. A contaminação do solo por ovos de *T. canis* foi confirmada por meio de caracterização molecular dos ovos recuperados de amostras de solo positivas das comunidades do estado do Paraná (36/90; 40,0%) e na tríplice-fronteira (30/74; 40,5%). Esses achados destacam a intensa exposição de populações indígenas a *Toxocara* spp., onde a transmissão é sustentada por uma combinação de fatores de infraestrutura, socioeconômicos e culturais, enfatizando a importância de intervenções integradas em territórios indígenas para promoção de educação e de saúde animal e humana, utilizando abordagens em Saúde Única.

Palavras-chave: epidemiologia, soroprevalência, *Toxocara* spp., vulnerabilidade social, zoonose.

ABSTRACT

Toxocariasis in Brazilian Indigenous Communities: A One Health Approach

Toxocariasis is a neglected zoonotic parasitic disease that can disproportionately affect socioeconomically vulnerable populations, especially in tropical and subtropical regions. Indigenous populations are susceptible to infection by *Toxocara* spp. due to inadequate infrastructure and limited access to health care and veterinary assistance. Thus, the present study aimed to investigate the scenario of toxocariasis in Brazilian indigenous communities located in the states of São Paulo and Paraná (scientific paper 1) and in the Brazil-Paraguay-Argentina tri-border region (scientific paper 2) from a One Health perspective. Blood samples were collected from indigenous people to investigate the presence of anti-*Toxocara* spp. antibodies, along with the application of a socioepidemiological questionnaire to identify possible risk factors associated to seropositivity. Feces and dog hair samples, as well as soil samples, were also collected to assess the presence of *Toxocara* spp. eggs. The serological results indicated high prevalence in the indigenous population, showing seropositivity in 342/463 (73.9%; 95% CI: 70.0–77.7) individuals from the communities of Paraná and São Paulo, and in 246/258 (95.3%; 95% CI: 92.1–97.3) indigenous people from the tri-border region. *Toxocara* spp. eggs were found in 9/194 (4.6%) feces samples and in 4/204 (2.0%) hair samples from dogs in the communities of Paraná and São Paulo; while *Toxocara* spp. eggs were observed in 8/124 (6.5%) feces samples from dogs in the tri-border community. Soil contamination by *T. canis* eggs was confirmed by molecular characterization of eggs recovered from positive soil samples from communities in the state of Paraná (36/90; 40.0%) and the tri-border region (30/74; 40.5%). These findings highlight the intense exposure of indigenous populations to *Toxocara* spp., where transmission is sustained by a combination of infrastructure, socioeconomic, and cultural factors, emphasizing the importance of integrated interventions in indigenous territories to promote animal and human health and education using One Health approaches.

Keywords: epidemiology, seroprevalence, *Toxocara* spp., social vulnerability, zoonosis.

LISTA DE SIGLAS

AUC	– Area Under the Curve (Área Sob a Curva)
AWE	– Adult Worm Extract (Extrato de Parasitos Adultos)
CAPES	– Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEUA	– Comissão de Ética no Uso de Animais
DNA	– Ácido Desoxirribonucleico
DO	– Densidade Óptica
DSEI	– Distrito Sanitário Especial Indígena
ELISA	– Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática)
IC	– Intervalo de Confiança
IgG	– Imunoglobulina G
IMT-USP	– Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo
NaCl	– Cloreto de Sódio
NaOH	– Hidróxido de Sódio
OR	– <i>Odds Ratio</i> (razão de chances)
PBS	– Phosphate Buffered Saline (Solução Salina Tamponada com Fosfatos)
PBS-T	– Solução Salina Tamponada com Fosfatos e Tween
PCR	– Reação em Cadeia pela Polimerase
ROC	– Receiver Operating Characteristic (Curva Característica de Operação do Receptor)
SESAI	– Secretaria Especial de Saúde Indígena
SUS	– Sistema Único de Saúde
TES	– Antígeno de Excreção e Secreção

SUMÁRIO

ARTIGO CIENTÍFICO 1.....	12
ARTIGO CIENTÍFICO 2.....	40
ANEXO A- NORMAS DA REVISTA FRONTIERS IN PUBLIC HEALTH.....	65
ANEXO B- NORMAS DA REVISTA ONE HEALTH.....	76
ANEXO C- PUBLICAÇÃO DO ARTIGO CIENTÍFICO 1 NA REVISTA FRONTIERS IN PUBLIC HEALTH.....	85
ANEXO D- PUBLICAÇÃO DO ARTIGO CIENTÍFICO 2 NA REVISTA ONE HEALTH.....	86

1 **ARTIGO CIENTÍFICO 1¹**

3 **Uma abordagem em Saúde Única para a toxocaríase em populações indígenas
4 brasileiras, seus cães e avaliação da contaminação do solo**

6 **Resumo**

7 **Introdução:** Embora a vulnerabilidade socioeconômica e o estilo de vida de indígenas
8 possam contribuir para a transmissão de *Toxocara* spp., estudos delineados para
9 investigar a toxocaríase em populações indígenas brasileiras utilizando abordagem
10 em Saúde Única são escassos.

11 **Métodos:** Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi investigar a presença de
12 anticorpos anti-*Toxocara* spp. em indígenas e em profissionais de saúde de
13 comunidades indígenas do estado de São Paulo e do Paraná por meio de ensaio
14 imunoenzimático. A pesquisa de ovos de *Toxocara* spp. em amostras de fezes e pelo
15 de cães, e em amostras de solo das comunidades indígenas também foi realizada.

16 **Resultados:** Ao total, 342/463 (73,9%) indígenas e 46/147 (31,3%) profissionais de
17 saúde foram soropositivos para *Toxocara* spp. Além disso, ovos de *Toxocara canis*
18 foram recuperados em 9/194 (4,6%) amostras de fezes de cães e em 4/204 (2,0%)
19 amostras de pelos de cães, principalmente nas comunidades do estado do Paraná
20 (3/42; 7,1%). A contaminação do solo foi observada apenas nas comunidades do
21 estado do Paraná (36/90; 40,0%), com a detecção molecular (PCR) de *T. canis*. O
22 consumo de água de rio foi associado à soropositividade em indígenas (OR: 11,4; IC
23 95%: 4,61-37,81; $p<0,0001$).

24 **Discussão:** Os indígenas das comunidades do estado do Paraná apresentaram 2,72
25 vezes mais chances (IC 95%: 1,7-4,4) de serem soropositivos do que aqueles do
26 estado de São Paulo, provavelmente devido à falta de infraestrutura sanitária. A
27 toxocaríase é uma doença transmitida principalmente pelo solo, mas, neste contexto,
28 também pode ter sido transmitida pela água, provavelmente por meio da
29 disseminação de ovos embrionados para o sistema de abastecimento de água pela
30 chuva. Profissionais de saúde em regime frequente nas comunidades indígenas
31 apresentaram 9,2 vezes mais chances (IC 95%: 2,27-49,28; $p= 0,004$) de serem
32 soropositivos do que profissionais que as visitavam esporadicamente, sugerindo

¹ Artigo científico de acordo com as normas da revista Frontiers in Public Health.

33 exposição ao *Toxocara* spp. durante o trabalho. Ainda, os resultados apontaram uma
34 soroprevalência significativamente maior em indígenas do que em profissionais de
35 saúde ($p < 0,0001$), provavelmente devido à exposição prolongada aos ovos do
36 parasito. Em conclusão, os indígenas das comunidades visitadas são altamente
37 expostos a *Toxocara* spp., e profissionais de saúde que trabalham em regime
38 frequente nessas comunidades apresentam maior chance de infecção.

39

40 **Palavras-chave:** epidemiologia, fatores de risco, povos tradicionais, *Toxocara* spp.,
41 zoonoses.

42

43 1 Introdução

44 A população indígena brasileira é estimada em aproximadamente 1,7 milhão
45 de indivíduos, representando aproximadamente 0,83% da população, e cerca da
46 metade (46,03%) desses povos reside em áreas rurais (1). Níveis socioeconômicos e
47 educacionais mais baixos, além de hábitos de vida, podem expor indígenas a
48 patógenos zoonóticos (2), incluindo espécies de *Toxocara*, parasito encontrado
49 principalmente em cães (*T. canis*) e gatos (*T. cati*) (3).

50 Fêmeas adultas de *Toxocara* spp. podem produzir milhares de ovos por dia no
51 intestino delgado de seu hospedeiro definitivo, que são liberados por meio das fezes
52 no ambiente e podem embrionar entre 2 e 6 semanas (3). Os ovos de *Toxocara* spp.
53 podem se desenvolver em uma ampla faixa de temperatura (4), podendo permanecer
54 viáveis, em condições ambientais favoráveis, durante anos (5). Os ovos de *Toxocara*
55 spp. são eliminados principalmente por cães e gatos filhotes devido ao alto número
56 de larvas transmitidas via transplacentária e transmamária, respectivamente (6).

57 A gravidade da toxocaríase nos hospedeiros definitivos depende da carga de
58 parasitos adultos presentes no intestino delgado. As formas adultas competem com o
59 hospedeiro por nutrientes e, em filhotes, podem causar enterite, abaulamento
60 abdominal, tosse, vômitos, convulsões, oclusão intestinal e, até mesmo, morte em
61 casos de infecção maciça (6, 7). Em animais mais velhos (6 meses a 1 ano), as larvas
62 tendem a entrar em hipobiose nos tecidos e podem ser reativadas no futuro (8).

63 Em humanos, a toxocaríase visceral (ou larva migrans visceral) pode induzir
64 principalmente distúrbios pulmonares e hepáticos (9-12), enquanto a forma ocular
65 pode causar granulomas, deficiência visual e cegueira (13-16). A forma neurológica
66 (neurotoxocaríase) pode causar distúrbios no sistema nervoso central, incluindo

67 vasculite cerebral, meningite, meningoencefalite, convulsões e comprometimento
68 cognitivo (5, 17, 18). Manifestações cutâneas (urticária, prurido, exantema
69 eritematoso) acompanhadas de eosinofilia também têm sido associadas à toxocaríase
70 (19, 20), como em um caso de paniculite eosinofílica (PE) em uma menina brasileira
71 de 5 anos (21).

72 A soroprevalência mundial da toxocaríase foi estimada em 19,0% e a nacional
73 em 27,6%, de acordo com um estudo de meta-análise (22). Em populações indígenas,
74 estudos mostram uma variação da soroprevalência para *Toxocara* spp. entre 4,8%
75 (9/188) na Malásia (23) e 76,6% (252/329) em crianças em Taiwan (24). Comunidades
76 indígenas podem estar mais expostas à toxocaríase, visto que o contato com o solo,
77 a ingestão de água dos rios e atividades agrícolas têm sido associados a alta
78 soroprevalência (383/483; 79,3%; 95% IC: 75,5-82,3) em indivíduos indígenas
79 colombianos (25). Até o momento, a maior soroprevalência para *Toxocara* spp. no
80 Brasil foi observada em condições rurais, incluindo crianças em idade escolar
81 (503/791; 63,6%) de uma pequena cidade da região Nordeste (26) e em habitantes
82 adultos (247/344; 71,8%) da região Sul do Brasil (27).

83 A abordagem em Saúde Única tem sido considerada altamente aplicável às
84 comunidades indígenas devido à sua íntima relação com o meio ambiente,
85 particularmente ligada às suas crenças patrimoniais e concepções de saúde (2).
86 Embora o estilo de vida e a vulnerabilidade socioeconômica possam contribuir para a
87 circulação de *Toxocara* spp. entre humanos, animais e o ambiente em populações
88 indígenas, até o momento, nenhum estudo investigou seu impacto na saúde indígena,
89 particularmente utilizando a abordagem Saúde Única. Dessa forma, este estudo teve
90 como objetivo avaliar a soropositividade para *Toxocara* spp. em indígenas e
91 profissionais de saúde relacionados, e a presença de ovos de *Toxocara* spp. em cães
92 e em amostras de solo de nove comunidades indígenas brasileiras dos estados de
93 São Paulo e do Paraná.

94

95 **2 Materiais e Métodos**

96 **2.1 Aspectos éticos**

97 O presente estudo recebeu aprovação inicial de três diferentes instâncias
98 indígenas, que posteriormente foram submetidas em conjunto e aprovadas pelo
99 Comitê de Ética em Saúde Humana do Ministério da Saúde do Brasil (protocolo
100 52039021.9.0000.0102) e pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA;

101 protocolo número 033/2021) da Universidade Federal do Paraná. O consentimento
 102 informado por escrito para participação neste estudo foi fornecido pelos participantes
 103 ou pelos seus responsáveis legais/parentes.

104

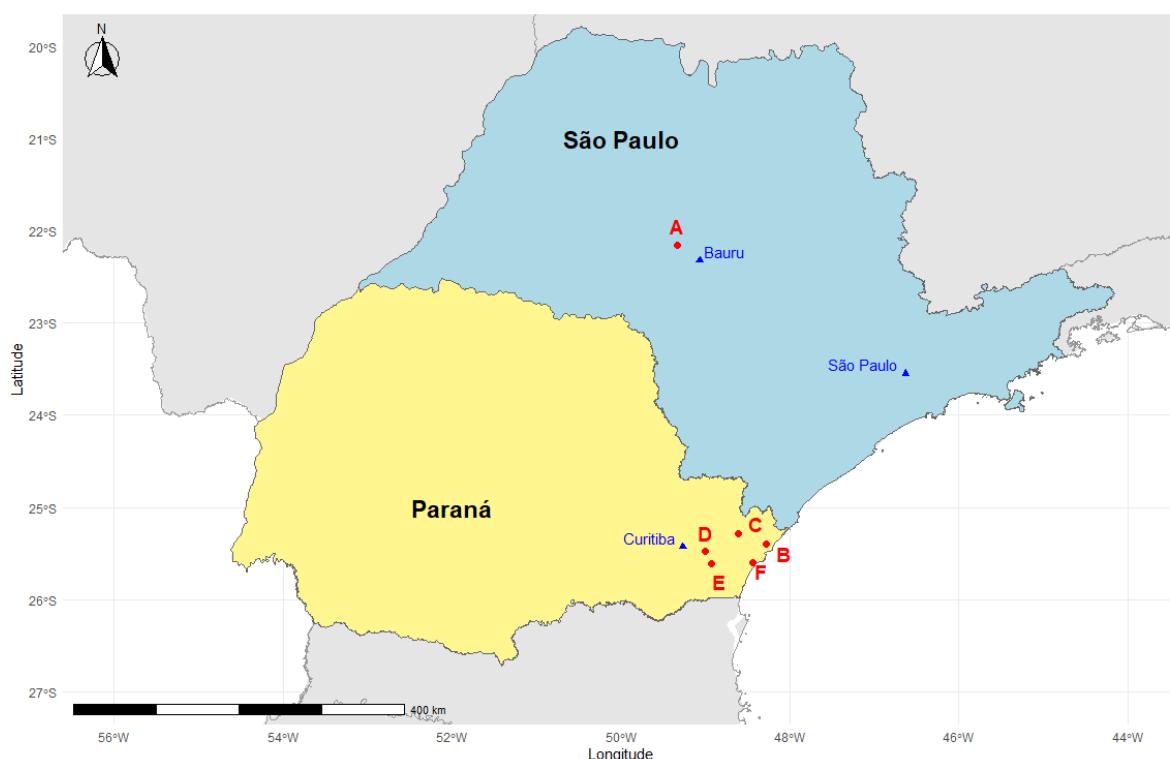
105 **2.2 Desenho do estudo**

106 Este estudo utilizou uma abordagem soroepidemiológica transversal, baseada
 107 no conceito “One Health”, para avaliar a toxocaríase em comunidades indígenas do
 108 Paraná (região Sul do Brasil) e de São Paulo (região Sudeste do Brasil). Tanto
 109 indígenas quanto profissionais de saúde participaram do estudo soroepidemiológico
 110 para avaliação dos fatores de risco associados. Além disso, ovos de *Toxocara* spp.
 111 foram pesquisados em amostras de pelo e fezes de cães, e em amostras de solo.

112

113 **2.3 Área de estudo**

114 Participantes indígenas das etnias Guarani, Terena e Kaingang, foram
 115 amostrados entre dezembro de 2020 a fevereiro de 2022, em cinco comunidades
 116 indígenas localizadas no estado do Paraná e em quatro comunidades no estado de
 117 São Paulo (Figura 1).



118 **Figura 1.** Localização das aldeias Kopenoty, Tereguá, Ekeruá e Nimuendajú no município de
 119 Avaí (A) no estado de São Paulo; e das aldeias Tekoa Pindoty (B), Kuaray Haxa (C), Araça'í
 120 (D), Tupã Nhe'e Kretã (E) e Guaviraty (F) no estado do Paraná.

121 **2.4 Características da população**

122 **2.4.1 Comunidades indígenas**

123 As características socioeconômicas das comunidades indígenas são distintas
124 nos estados do Paraná e São Paulo. A população indígena que vive nas comunidades
125 do Paraná possui fortes laços ambientais e depende de recursos naturais para seu
126 sustento, como caça de animais silvestres, pesca e agricultura de subsistência (28).
127 O artesanato com recursos naturais é uma forma de renda secundária e inclui a
128 confecção de cestos, colares, animais silvestres em miniatura esculpidos em madeira,
129 lanças, arcos e flechas (28, 29). Essas comunidades não possuem sistemas de
130 tratamento de água nem fossas sépticas em suas residências. As comunidades
131 indígenas do estado de São Paulo dependem da agricultura como sua principal
132 atividade econômica (comércio exterior) e subsistência (30). Indivíduos nessas
133 comunidades indígenas também trabalham em fazendas rurais próximas e em áreas
134 urbanas, com baixa atividade de caça (31). Além disso, o artesanato também é uma
135 fonte de renda para as famílias (32). As comunidades indígenas do estado de São
136 Paulo possuem poços artesianos para abastecimento de água e fossas sépticas para
137 descarte de fezes.

138 De acordo com a Secretaria Especial de Saúde Indígena (SESAI), as
139 populações indígenas passam por um programa de vermiculação preventiva com
140 insumo farmacêutico ativo comercial (albendazol) duas vezes ao ano (maio e
141 novembro) para controlar o risco de infecção por helmintos.

142

143 **2.4.2 Profissionais da saúde**

144 O SESAI foi criado em 2010 pelo Ministério da Saúde do Brasil para melhorar
145 a saúde indígena e emprega cerca de 22.000 profissionais de saúde (52,0%
146 indígenas) que prestam serviços de saúde locais a uma população indígena estimada
147 em 1,7 milhão de indivíduos (1).

148 Além dos povos indígenas, profissionais de saúde não indígenas também foram
149 amostrados durante incursões e visitas específicas ao Distrito Sanitário Especial
150 Indígena (DSEI) Litoral Sul. O DSEI Litoral Sul era uma das 34 divisões nacionais sob
151 a SESAI do Ministério da Saúde do Brasil na época das coletas e gerenciava mais de
152 25.000 indígenas de 25 etnias, vivendo em uma área de 174.521,07 km² (43,13
153 milhões de acres) com 129 comunidades indígenas localizadas em quatro estados
154 brasileiros (Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Rio de Janeiro) (33).

155 Os profissionais de saúde foram classificados em grupos de acordo com seu
156 nível de contato, frequência de visitas às populações indígenas e função. O primeiro
157 grupo (regime de trabalho frequente) foi composto por profissionais como médicos,
158 enfermeiros, técnicos de enfermagem, motoristas e professores que visitavam as
159 comunidades indígenas cinco dias por semana. O segundo grupo (regime de trabalho
160 periódico) incluiu profissionais multidisciplinares da DSEI que visitavam as
161 comunidades periodicamente (uma a duas vezes por mês). O terceiro grupo (regime
162 de trabalho esporádico) incluiu profissionais administrativos e de saúde que visitavam
163 as comunidades indígenas uma a duas vezes por ano.

164

165 **2.5 Coleta das amostras**

166 **2.5.1 Amostras de sangue humano**

167 Indígenas e profissionais de saúde não indígenas foram amostrados após a
168 assinatura de um termo de consentimento e preenchimento de um questionário
169 epidemiológico. Enfermeiros certificados coletaram amostras de sangue (10 mL) por
170 punção venosa cefálica, em tubos a vácuo contendo gel separador de soro sem
171 anticoagulante. As amostras de sangue foram mantidas em temperatura ambiente (25
172 °C) até a formação de coágulos visíveis e centrifugadas a 800 g por 5 minutos. As
173 amostras de soro foram armazenadas em microtubos a -20 °C até o momento da
174 sorologia.

175

176 **2.5.2 Amostras de fezes e pelo de cães**

177 As amostras fecais de cães foram coletadas da ampola retal e armazenadas
178 individualmente em tubos graduados (50 mL) contendo solução de formalina a 10%,
179 seguidas de refrigeração (4°C) até o momento do exame microscópico (8). Amostras
180 de pelo de cães foram coletadas das regiões perineal e dorsal com lâminas de bisturi
181 estéreis, colocadas em tubos graduados individuais (50 mL) e mantidas sob
182 refrigeração (4°C) até o processamento.

183

184 **2.5.3 Amostras de solo**

185 Um total de 90 amostras de solo foram coletadas no esatdo do Paraná (30
186 amostras por comunidade) e 40 no estado de São Paulo (10 amostras por
187 comunidade), totalizando 130 amostras. As amostras de solo foram coletadas

188 aleatoriamente em áreas comuns de cada comunidade indígena e o número de pontos
189 de coleta foi determinado pela presença de solo na área. Pontos com presença de
190 grama ou fezes não foram amostrados.

191 Aproximadamente 50 g de solo foram coletados a uma profundidade de 5 a 15
192 cm, acondicionados em sacos plásticos individuais e mantidos sob refrigeração (4 °C)
193 até o momento do processamento, seguindo o protocolo descrito anteriormente (34).

194

195 **2.6 Sorologia de humanos**

196 **2.6.1 Preparação de antígenos de excreção-secreção de *T. canis* (TES)**

197 Nematoides adultos de *T. canis* foram previamente obtidos de filhotes
198 naturalmente infectados que liberaram os parasitos de forma espontânea. As fêmeas
199 do parasito foram tratadas com hipoclorito de sódio a 1% por cinco minutos e lavadas
200 com solução salina a 0,9% por três minutos para remoção dos resíduos. Os ovos
201 foram coletados por meio da secção do parasito e incubados em formalina a 2% a
202 28°C por aproximadamente 30 dias. As larvas ecclodidas dos ovos foram incubadas
203 (37°C) em meio Eagle isento de soro, seguindo um protocolo previamente descrito
204 (35). Semanalmente, o sobrenadante da cultura foi removido e tratado com 5,0 µL/mL
205 de inibidor de protease fenilmetsulfonil fluoreto (PMSF; 200 mM), concentrado com
206 um kit comercial (Amicon Ultra Centrifugal Filter Unit, Millipore, Danvers, MA, EUA),
207 dialisado com água destilada, centrifugado (18.500 g por 60 min a 4 °C), filtrado em
208 membranas de filtro de 0,22 µm (Millipore) e a concentração de proteína foi
209 determinada por meio do método de Lowry (36).

210

211 **2.6.2 Pré-adsorção do soro com extrato de *Ascaris suum* adultos**

212 A especificidade do ensaio imunoenzimático (ELISA) foi melhorada pela pré-
213 adsorção das amostras de soro com extratos de parasitos adultos (AWE) de *A. suum*,
214 para eliminar anticorpos produzidos pela exposição a *Ascaris* spp., que poderiam
215 causar reatividade cruzada com antígenos de *Toxocara* spp. (37). Nematoides adultos
216 foram recuperados dos intestinos de suínos abatidos e macerados em água destilada.
217 Em seguida, uma parte de NaOH (1,5 M) foi adicionada a nove partes de água, e a
218 mistura (concentração final de 0,15 M) foi incubada à temperatura ambiente por 2
219 horas. O pH da mistura foi neutralizado com HCl 6 M e centrifugado a 18.500 g por 20
220 minutos a 4 °C. Os lipídios foram removidos com éter, e o sobrenadante foi filtrado
221 através de membranas de filtro de 0,22 µm. Todas as amostras de soro foram pré-

222 incubadas com AWE de *A. suum* (25,0 µg/µL) em solução salina tamponada com
223 fosfato 0,01 M (PBS, pH 7,2) contendo 0,05% de Tween 20 (PBS-T) (Sigma, St. Louis,
224 MO, Estados Unidos) por 30 minutos a 37°C.

225

226 **2.6.3 ELISA indireto**

227 O ELISA foi realizado em placas de microtitulação de poliestireno de 96 poços
228 (Corning, Costar, Nova York, EUA) revestidas com antígenos TES (1,9 µg/µL por
229 poço) em tampão carbonato-bicarbonato 0,06 M a pH 9,6 por 1 hora a 37 °C e por 18
230 horas a 4 °C. As placas foram bloqueadas com leite desnatado comercial em PBS-T
231 por 1 hora a 37 °C. As amostras de soro previamente adsorvidas com antígeno
232 somático de *A. suum* foram distribuídas em duplicata nas placas de poliestireno, que
233 foram incubadas por 1 hora a 37°C, e lavadas três vezes por 5 minutos. Após essa
234 etapa, as placas foram incubadas com anticorpo anti-imunoglobulina G humana
235 (específico para Fc) produzido em cabras (Sigma A6029) em uma diluição de 1:5000
236 (45 minutos a 37°C), seguido por três lavagens de 5 minutos. A reação foi revelada
237 usando um substrato o-fenilenodiamina (0,4 mg/mL, Sigma), e ácido sulfúrico 2 N
238 H₂SO₄ foi adicionado para interromper a reação.

239 Controles positivos e negativos foram incluídos em cada placa. A absorbância
240 foi lida a 492 nm, e o valor de corte foi definido como a absorbância média de 90 soros
241 de controle negativo mais três desvios-padrão. Este ensaio apresentou sensibilidade
242 de 78,3% e especificidade de 92,3%, conforme relatado anteriormente (38, 39).

243 Todas as amostras de soro foram testadas no Laboratório de Investigação
244 Médica do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (IMT-USP), Universidade de
245 São Paulo, Brasil. As amostras de soro negativas utilizadas como controle neste
246 estudo foram mantidas no banco de soro e rotineiramente utilizadas para
247 sorodiagnóstico de toxocaríase por ELISA, tendo sido previamente testadas por um
248 protocolo estabelecido (35), garantindo que as amostras fossem negativas para
249 parasitos em estudos anteriores (40, 41). Assim, o valor de corte obtido para o
250 anticorpo IgG correspondeu a uma densidade óptica (DO) ≤ 0,5, considerada ausência
251 de infecção ou resultado negativo (35, 42).

252

253 **2.7 Recuperação de ovos de *Toxocara* spp. das amostras de cães**

254 As amostras de fezes dos cães foram processadas por meio da técnica de
255 flutuação em solução hipersaturada de cloreto de sódio (NaCl) (3). A solução (d = 1,20

256 g/cm³) foi adicionada às amostras, que posteriormente foram filtradas em gaze e
257 mantidas em repouso para flutuação (5 minutos) e análise sob microscopia óptica
258 (objetiva: 10x) para identificação de estruturas parasitárias.

259 As amostras de pelo dos cães foram processadas de acordo com um protocolo
260 previamente descrito com algumas modificações (43). Água destilada (20 mL) e
261 detergente aniônico Tween-80 (5%, 0,2 mL) foram adicionados às amostras,
262 homogeneizados por agitação e incubados “overnight” em temperatura ambiente. Em
263 seguida, as amostras receberam adição de água destilada (mais 20 mL) e Tween-80
264 (5%, 0,2 mL) e foram homogeneizadas. O material foi filtrado em tamises de malha
265 metálica (300, 212 e 38 µm) em água corrente (5 minutos). O material da lavagem
266 retido na peneira de 38 µm foi coletado com pipeta, centrifugado e analisado
267 microscopicamente (ampliações: 10x e 40x).

268

269 **2.8 Recuperação de ovos de *Toxocara* spp. do solo**

270 As amostras de solo foram processadas seguindo protocolos previamente
271 descritos na literatura (34, 44), com algumas modificações. Para cada amostra, 20
272 gramas de solo foram pesados e deixados em repouso (12 horas) com detergente
273 aniônico Tween-80 a 5% (100 mL). Em seguida, o sobrenadante foi descartado e mais
274 solução de Tween-80 a 5% foi adicionado (100 mL). O material foi filtrado em tamises
275 metálicas (300, 212, 90 e 38 µm) em água corrente. O solo retido na última peneira
276 (38 µm) foi coletado e processado com uso de técnica de centrífugo-flutuação com
277 solução de sulfato de zinco ($d = 1,35 \text{ g/cm}^3$). O sobrenadante contendo o material da
278 flutuação foi transferido para outro tubo de centrífuga, homogeneizado com água
279 destilada (quantidade suficiente para 15 mL) e centrifugado (873 g por 5 minutos).
280 Estes últimos processos (adição de água destilada, centrifugação e descarte do
281 sobrenadante) foram repetidos três vezes para remover a solução de sulfato de zinco.
282 Após esse processo, todo o pellet foi analisado microscopicamente (objetivas: 10x e
283 40x).

284 Os ovos de *Toxocara* spp. recuperados do solo foram classificados em quatro
285 grupos: não viáveis (parede rompida ou não intacta), viáveis (ovos intactos com
286 conteúdo), ovos em embrionamento (com divisão celular) ou ovos embrionados
287 (contendo larva) (45). Os ovos observados foram coletados e congelados (-20 °C) em
288 microtubos com água destilada para posterior caracterização molecular.

289

290 **2.9 Extração de DNA e reação em cadeia da polimerase (PCR)**

291 O DNA genômico foi extraído de um “pool” de ovos de *Toxocara* spp.
292 recuperados do solo de cada comunidade utilizando um kit de purificação comercial
293 (PureLink™ Microbiome DNA purification kit; Invitrogen, Waltham, MA, Estados
294 Unidos), seguindo as instruções do fabricante, com algumas modificações. Os ovos
295 foram rompidos com auxílio de um homogeneizador de tecidos (D160 Homogenizer,
296 Scilogex, Rocky Hill, CT, Estados Unidos) em um microtubo contendo solução tampão
297 de lise, seguida de incubação com solução de proteinase K (20 µL) a 65°C por 16
298 horas. O DNA genômico das amostras controle positivo foi obtido de ovos produzidos
299 por fêmeas de adultas de *T. canis* e *T. cati* em cães e gatos naturalmente infectados.
300 A concentração de DNA extraído foi determinada pela mensuração da absorbância
301 (260/280 nm) em espectrofotômetro (NanoDrop 2000, Thermo Scientific, Waltham,
302 MA, Estados Unidos).

303 A região do DNA ribossômico (rDNA), compreendendo sequências parciais de
304 ITS1 e ITS2, foi analisada molecularmente com os primers previamente descritos (46)
305 para *T. canis* (Forward:5'-CTC GAG TCG ACG AAG TAT GTA C-3'; Reverse:5'-AAT
306 TGG GCC GCC CAT CAT AC-3') e *T. cati* (Forward:5'-GTA AGA TCG TGG CAC GCG
307 TAC GTA-3'; Reverse:5'-TCT TTG ATG TCA AGA CTT CAG CGC-3'). As reações
308 (volume de 25 µL) continham 10 µM de cada primer, 0,02 mM de nucleotídeos, 30 mM
309 de MgCl₂, 2 µL de tampão (tampão de PCR 10x), 1 U de *Taq* DNA polimerase
310 (Invitrogen) e aproximadamente 50 ng do DNA extraído. As amplificações foram
311 realizadas em termociclador (Multigene, Labnet International, Edison, NJ, Estados
312 Unidos) sob as seguintes condições: 94 °C por 60 s, seguido por 35 ciclos a 94 °C por
313 60 segundos, 55 °C por 45 segundos e 72 °C por 30 segundos, e um ciclo final a 72
314 °C por 5 minutos. A eletroforese (60 minutos a 80 V) foi realizada com a aplicação dos
315 produtos de PCR (25 µL) com tampão de carga 5x (4 µL) em gel de agarose a 1,5%
316 corado com brometo de etídio. Os produtos de amplificação foram visualizados sob
317 luz ultravioleta.

318

319 **2.10 Coleta de informações epidemiológicas**

320 Durante a coleta das amostras de sangue dos participantes humanos, um
321 questionário individual foi aplicado para coletar informações epidemiológicas, com a
322 assistência de um tradutor indígena quando necessário. O questionário avaliou a
323 potencial exposição a *Toxocara* spp. e incluiu informações sobre gênero, idade, nível

324 educacional, posse de animais, fontes de água potável, consumo de carne de caça e
325 de carne crua/malcozida.

326 Para garantir a intervenção veterinária e a pesquisa ética, todos os cães
327 amostrados (e aqueles trazidos voluntariamente e não amostrados) foram
328 examinados e receberam vacina contra raiva (Immunovet R, Biovet, São Paulo, SP,
329 Brasil) e vacina polivalente contra cinomose, hepatite, adenovírus, parainfluenza,
330 parvovírus, coronavírus, *Leptospira interrogans* sorovares Canicola,
331 Icterohaemorrhagiae, Copenhageni e Grippotyphosa (Poly 10, Lema-Injex Biologic,
332 Lagoa Santa, MG, Brasil). Os cães também receberam tratamento anti-helmíntico oral
333 (pamoato de pirantel associado a praziquantel), "pour-on" contra carrapatos e pulgas
334 (fipronil) e tratamento para sarna sarcóptica e tungíase (ivermectina) administrados
335 de acordo com as recomendações do fabricante.

336

337 **2.11 Análise estatística**

338 A associação entre potenciais fatores de risco e soropositividade para *Toxocara*
339 spp. em indígenas e profissionais de saúde foi testada por meio da análise univariada
340 usando o teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher, conforme apropriado. Variáveis
341 com valor de p menor que 0,2 na análise univariada foram submetidas à análise
342 multivariada (regressão logística). Foram calculados os valores das razões de
343 chances (OR) com intervalo de confiança (IC) a 95%, e valores de p menores que
344 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. A precisão do modelo
345 logístico para predição da soropositividade em indígenas e profissionais de saúde foi
346 avaliada estimando a área sob a curva ROC (Receiver Operating Characteristic).
347 Todas as análises foram realizadas no programa R (versão 4.2.2) (47).

348

349 **3 Resultados**

350 Foram amostrados 463 participantes indígenas de nove comunidades das
351 etnias Guarani, Terena e Kaingang. Deste total, 162 indivíduos pertenciam a cinco
352 comunidades localizadas no estado do Paraná e 301 indivíduos a quatro comunidades
353 do estado de São Paulo. Além dos participantes indígenas, 147 profissionais de saúde
354 não indígenas foram amostrados durante visitas à DSEI Litoral Sul.

355 No geral, anticorpos IgG anti-*Toxocara* spp. foram detectados em 342/463
356 (73,9%; IC 95%: 70,0–77,7) indígenas, e aqueles residentes em comunidades do
357 Paraná apresentaram 2,72 vezes (IC 95%: 1,7–4,4; $p < 0,0001$) mais chances de

358 soropositividade quando comparados aos do estado de São Paulo. Além disso, 46/147
 359 (31,3; IC 95%: 24,4–39,2) profissionais de saúde não indígenas foram soropositivos,
 360 e a maioria deles trabalhava em comunidades indígenas do estado do Paraná. O teste
 361 qui-quadrado mostrou que a soroprevalência em indígenas foi estatisticamente maior
 362 ($\chi^2 = 85,53$; df = 1; $p < 0,0001$) do que em profissionais de saúde não indígenas
 363 (Tabela 1).

364

365 **Tabela 1.** Taxas de prevalência (%) de anticorpos IgG anti-*Toxocara* spp. em populações
 366 indígenas (n=463) residentes em nove comunidades dos estados do Paraná e São Paulo,
 367 Brasil.

Comunidades indígenas	ELISA positivo	Participantes	Prevalência (%) (IC 95%)
Paraná			
Tekoa Pindoty	16	22	72,7 (51,9-86,9)
Kuaray haxa	16	18	88,9 (67,2-96,9)
Araçaí	69	72	95,8 (88,5-98,6)
Tupã Nhe'e Kretã	28	29	96,5 (82,8-99,4)
Guaviraty	9	21	42,9 (24,5-63,5)
Subtotal	138	162	85,2 (78,9-89,8)
São Paulo			
Kopenoty	78	125	62,4 (53,7-70,4)
Tereguá	35	47	74,5 (60,5-84,8)
Ekeruá	35	56	62,5 (49,4-74,0)
Nimuendajú	56	73	76,7 (65,8-84,9)
Subtotal	204	301	67,8 (62,3-72,8)
Total	342	463	73,9 (69,7-77,7)

368

369 **3.1 Fatores de risco associados à soropositividade humana para *Toxocara* spp.**

370 Os fatores de risco associados à soropositividade para *Toxocara* spp. nos
 371 povos indígenas foram analisados e estão apresentados na tabela 2. O modelo final
 372 de regressão logística revelou que o consumo de água do rio foi o único fator preditivo
 373 para toxocaríase humana, com risco 11,4 vezes maior ($p < 0,0001$; IC 95%: 4,6–37,8)
 374 de soropositividade em comparação com poços artesianos. Embora a análise
 375 univariada tenha incluído gênero na regressão logística ($p = 0,1$), essa variável não foi
 376 considerada estatisticamente significativa no modelo final ($p = 0,155$). As demais
 377 variáveis avaliadas não foram significativas na análise univariada, incluindo idade ($p =$
 378 0,542), nível educacional ($p = 0,355$), consumo de carne crua/malpassada ($p = 0,558$),
 379 consumo de carne de caça ($p = 0,547$), posse de gato ($p = 0,686$) e posse de cão ($p =$
 380 0,349). O desempenho do modelo final de regressão de acordo com a curva ROC
 381 (AUC: 65,3%; IC 95%: 60,6–70,0) foi considerado razoável.

382 **Tabela 2.** Fatores de risco associados à soropositividade de anticorpos anti-*Toxocara* spp.
 383 (IgG) em indígenas (n = 463) nos estados do Paraná e São Paulo, Brasil, por meio de análises
 384 uni e multivariada.

			Análise Univariada		Análise Multivariada	
	Positivos (%)	Negativos (%)	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
Variáveis	342 (73,9)		121 (26,1)			
Gênero				0,1		
Feminino	169 (49,4)	71 (58,7)	1,0 [Referência]		1,0 [Referência]	
Masculino	173 (50,6)	50 (41,3)	1,45 (0,96-2,22)		1,38 (0,89-2,12)	0,155
Idade (anos)			0,542			
03 a 17	104 (30,4)	33 (27,3)	1,0 [Referência]			
18 a 26	76 (22,2)	22 (18,2)	1,09 (0,59-2,05)			
27 a 40	84 (24,6)	32 (26,4)	0,83 (0,47-1,47)			
41 a 89	78 (22,8)	34 (28,1)	0,73 (0,41-1,28)			
Nível educacional			0,244			
Illetrados	9 (2,6)	4 (3,3)	1,0 [Referência]			
Fundamental	173 (50,6)	73 (60,3)	1,07 (0,27-3,48)			
Ensino Médio	127 (37,1)	34 (28,1)	1,69 (0,42-5,64)			
Superior	33 (9,7)	10 (8,3)	1,47 (0,33-5,81)			
Consumo de água do rio			<0,001			
Não	245 (71,6)	117 (96,7)	1,0 [Referência]		1,0 [Referência]	
Sim	97 (28,4)	4 (3,31)	11,1 (4,51-37,8)		11,4 (4,61-37,81)	<0,0001
Consumo de carne crua ou malcozida			0,558			
Não	326 (95,3)	113 (93,4)	1,0 [Referência]			
Sim	16 (4,7)	8 (6,6)	0,69 (0,29-1,76)			
Consumo de carne de caça			0,547			
Não	154 (45,0)	59 (48,8)	1,0 [Referência]			
Sim	188 (55,0)	62 (51,2)	1,16 (0,77-1,76)			
Posse de gato			0,686			
Não	183 (53,5)	68 (56,2)	1,0 [Referência]			
Sim	159 (46,5)	53 (43,8)	1,11 (0,73-1,70)			
Posse de cão			0,349			
Não	75 (21,9)	21 (17,4)	1,0 [Referência]			
Sim	267 (78,1)	100 (82,6)	0,75 (0,43-1,27)			

385

386 A regressão logística dos profissionais de saúde não indígenas revelou maior
 387 soropositividade nos homens (OR: 2,3; IC 95% = 1,0–5,1; p = 0,048) em comparação
 388 às mulheres, e também no grupo com regime de trabalho frequente (OR: 9,2; IC 95% =
 389 2,3–49,9; p = 0,004) em comparação ao grupo com regime esporádico (Tabela 3). Uma

390 tendência de soropositividade foi observada com o aumento da idade ($p= 0,002$) na
 391 análise univariada, mas não foi confirmada pela regressão logística. O consumo de
 392 água nas comunidades indígenas ($p= 0,289$) e a ingestão de carne crua/malcozida
 393 ($p= 1,0$) não foram estatisticamente significativos. A curva ROC do modelo logístico
 394 para profissionais de saúde não indígenas (AUC: 78%; IC 95%: 70,3–85,8) apresentou
 395 desempenho satisfatório a bom.

396

397 **Tabela 3.** Fatores de risco associados à soropositividade de anticorpos anti-*Toxocara* (IgG)
 398 em profissionais de saúde (n = 147) dos estados do Paraná e São Paulo, Brasil, por meio de
 399 análises uni e multivariadas.

Variáveis	Resultado do ELISA		Análise Univariada		Análise Multivariada	
	Positivo (%)	Negativo (%)	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
Gênero	46 (31,3)	101 (68,1)		0,111		
Feminino	22 (47,8)	64 (63,4)	1,0 [Referência]		1,0 [Referência]	
Masculino	24 (52,2)	37 (36,6)	1,88 (0,92-3,84)		2,25 (1,02-5,13)	0,048
Idade (anos)				0,002		
20 a 29	6 (13,0)	36 (35,6)	1,0 [Referência]			
30 a 38	7 (15,2)	26 (25,7)	1,60 (0,47-5,65)		0,92 (0,23-3,74)	0,912
39 a 46	18 (39,1)	18 (17,8)	5,77 (2,02-18,6)		3,02 (0,84-11,7)	0,096
47 a 65	15 (32,6)	21 (20,8)	4,15 (1,44-13,4)		2,58 (0,74-9,67)	0,143
Regime de trabalho nas comunidades				<0,001		
Esporádico (1-2 vezes por ano)	3 (6,52)	32 (31,7)	1,0 [Referência]		1,0 [Referência]	
Periódico (1-2 vezes por mês)	20 (43,5)	51 (50,5)	3,98 (1,22-18,7)		3,01 (0,78-15,16)	0,135
Frequente (5 dias por semana)	23 (50,0)	18 (17,8)	12,7 (3,72-61,8)		9,22 (2,27-49,28)	0,004
Consumo de água nas comunidades				0,289		
Não	31 (67,4)	78 (77,2)	1,0 [Referência]			
Sim	15 (32,6)	23 (22,8)	1,64 (0,74-3,55)			
Ingestão de carne crua/malcozida				1,0		
Não	41 (89,1)	89 (88,1)	1,0 [Referência]			
Sim	5 (10,9)	12 (11,9)	0,92 (0,27-2,70)			

400

401 **3.2 Ovos de *Toxocara* spp. recuperados nas amostras de cães**

402 Foram coletadas e analisadas 194 amostras de fezes e 204 amostras de pelo
 403 de cães pertencentes às comunidades indígenas.

404 Em relação às amostras de fezes, 9/194 (4,6%) estavam positivas para
 405 *Toxocara canis*, das quais 3/32 (9,4%) eram de cães de comunidades do Paraná e
 406 6/162 (3,7%) de São Paulo (Tabela 4).

407 Entre as amostras de pelo, ovos de *Toxocara* spp. foram recuperados em 4/204
 408 (2,0%) amostras, sendo 1/162 (0,6%) de São Paulo (n = 27 ovos) e 3/42 (7,1%) do
 409 Paraná (n= 7 ovos; 1 a 4 ovos por cão). Todos os ovos recuperados foram
 410 classificados como viáveis (não embrionados).

411

412 **Tabela 4.** Frequência de ovos de *Toxocara* spp. em amostras fecais e de pelos de cães
 413 residentes em comunidades indígenas dos estados do Paraná e São Paulo, Brasil.

Amostras: positivas /total (%)		
Comunidades do Paraná	Fezes	Pelo
Araçaí	2/20 (10,0)	2/20 (10,0)
Guaviraty	1/12 (8,3)	0/12 (0,0)
Tupã Nhe'e Kretã	N.A.	1/10 (10,0)
Total	3/32 (9,4)	3/42 (7,1)
Comunidades de São Paulo	Fezes	Pelo
Ekeruá	1/44 (2,3)	0/44 (0,0)
Kopenoty	5/50 (10,0)	1/50 (0,0)
Nimuendaju	0/35 (0,0)	0/35 (0,0)
Tereguá	0/33 (0,0)	0/33 (0,0)
Total	6/162 (3,7)	1/162 (0,6)

414 N.A.: não amostrado.

415

416 3.3 Ovos de *Toxocara* spp. no solo

417 Foram coletadas 130 amostras de solo, sendo 90 de comunidades do Paraná
 418 e 40 de São Paulo. No Paraná, 36/90 (40,0%) amostras de solo foram positivas para
 419 *Toxocara* spp. (Tabela 5). A presença de ovos no solo foi observada apenas nas
 420 comunidades do Paraná, com maior frequência na comunidade de Araçaí (70,0%;
 421 média de oito ovos/50 g de solo), seguida por Tupã Nhe'e Kretã (26,6%; média de um
 422 ovo/50 g de solo) e Guaviraty (23,3%; média de um ovo/50 g de solo). De acordo com
 423 os critérios de classificação, a maioria dos ovos de *Toxocara* spp. recuperados
 424 (56/121; 46,3%) apresentavam larvas (ovos embrionados) ou foram classificados
 425 como viáveis (53/121; 43,8%). Não foram encontrados ovos de *Toxocara* spp. nas 40
 426 amostras das comunidades indígenas de São Paulo.

427 **Tabela 5.** Ovos de *Toxocara* spp. recuperados de amostras de solo coletadas em
 428 comunidades indígenas dos estados do Paraná (região Sul) e São Paulo (região Sudeste),
 429 Brasil, e características morfológicas de acordo com os critérios de Roddie et al. (45).

Comunidades		Características morfológicas dos ovos de <i>Toxocara</i> spp.			
Paraná	Positivo (%)	V	NV	EM	E
Guaviraty	7/30 (23,3)	9	0	2	0
Araçaí	21/30 (70,0)	36	2	5	52
Tupã Nhe'e Kretã	8/30 (26,6)	6	3	0	4
Total (%)	53/121 (43,8)	5/121 (4,1)	7/121 (5,8)	56/121 (46,3)	

Comunidades		Características morfológicas dos ovos de <i>Toxocara</i> spp.			
São Paulo	Positivo (%)	V	NV	EM	E
Kopenoty	0/10	0	0	0	0
Tereguá	0/10	0	0	0	0
Ekeruá	0/10	0	0	0	0
Nimuendajú	0/10	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	0

430 V: viável; NV: não viável; EM: em embionamento; E: embrionados (contendo larva).

431

432 **3.4 Detecção Molecular (PCR)**

433 A amplificação genética revelou DNA de *Toxocara canis* no “pool” de ovos
 434 recuperados das amostras de solo coletadas nas comunidades indígenas do estado
 435 do Paraná, incluindo Araçaí, Guaviraty e Tupã Nhe'e Kretã.

436 Não houve amplificação de DNA de *T. cati* nas amostras analisadas.

437

438 **4 Discussão**

439 O presente estudo foi o primeiro a avaliar a soroprevalência e os fatores de
 440 risco associados à toxocaríase em populações indígenas brasileiras utilizando
 441 abordagem em Saúde Única, incluindo cães, solo e profissionais de saúde. Este
 442 estudo revelou alta soropositividade para *Toxocara* spp. em indivíduos indígenas
 443 (342/463; 73,9%). A taxa de soropositividade observada no presente estudo é
 444 ligeiramente superior à soropositividade relatada em um estudo realizado em
 445 população adulta rural na região sul do Brasil (247/344; 71,8%) (27). Residir em área
 446 rural já foi relatado na literatura como um fator de risco associado à soropositividade
 447 para *Toxocara* spp. (OR: 1,8), corroborando os resultados de uma meta-análise (22).

448 Um dos fatores que pode influenciar a soroprevalência em uma população é a
 449 técnica utilizada para a detecção de anticorpos. Os testes de ELISA indireto, utilizando
 450抗ígenos TES, têm sido os mais comumente empregados para avaliar o estado
 451 epidemiológico da toxocaríase em humanos (48). O teste de ELISA empregado no

452 presente estudo apresenta sensibilidade de 78,3% e especificidade de 92,3%, e
453 utilizou 96 amostras negativas para calcular o valor de corte acrescido de três desvios-
454 padrão, aumentando o rigor na determinação do teste como positivo. Além disso, a
455 pré-adsorção das amostras de soro com extrato de *A. suum* foi realizada para
456 minimizar reações cruzadas com outros parasitos da ordem Ascaridida (37).

457 A soroprevalência de toxocaríase em populações indígenas latino-americanas
458 foi observada em crianças (1/7; 14,3%) e em adultos (4/43; 9,3%) indígenas Warao
459 na Venezuela (49) e em adultos Tepehuanos (33/126; 26,2%) no México (50). Na
460 Colômbia, uma alta prevalência (383/483; 79,3%) foi observada no povo Wiwa como
461 consequência das características do estilo de vida indígena, incluindo a falta de
462 acesso a água potável (rios e poços desprotegidos usados como fonte de água) ou
463 instalações sanitárias, acesso de cães e gatos abandonados a aldeias e áreas de
464 moradia, e consequente contaminação do solo e de vegetais por ovos, em clima
465 tropical favorável à transmissão de *Toxocara* spp. (25). Algumas populações
466 indígenas brasileiras também estão expostas a esses fatores de risco, como
467 saneamento precário, o que pode explicar o risco de 2,72 vezes maior de
468 soropositividade em indígenas que vivem no estado do Paraná. Em contrapartida,
469 comunidades do estado de São Paulo apresentaram maior acesso a condições de
470 saneamento (como poços artesianos para abastecimento de água e fossas sépticas
471 para descarte de fezes) e apresentaram menor soroprevalência.

472 O modelo de regressão logística revelou a fonte de água como o único fator de
473 risco para toxocaríase, com 11,4 vezes mais chances de soropositividade em
474 indígenas que usavam o rio como principal fonte de água. Da mesma forma, um
475 estudo em Moscou sugeriu que a água é um fator de disseminação para ovos de
476 *Toxocara* spp., o que foi relacionado ao acesso de cães/gatos a reservatórios internos
477 usados por humanos e à ingestão acidental de água contaminada (51). Além disso, a
478 alta frequência de ovos de *T. canis* observada nas comunidades do estado do Paraná
479 pode indicar transmissão da toxocaríase pela água, além da transmissão pelo solo, já
480 que a chuva pode carrear ovos embrionados do solo para o rio local. Ademais, um
481 estudo de meta-análise considerou o consumo de água não tratada ou não filtrada
482 como um fator de risco para toxocaríase humana (22), porque a filtração e a
483 sedimentação podem não ser suficientes para remover ovos embrionados de
484 *Toxocara* spp. (52). Portanto, o acesso à água potável limpa e instalações sanitárias

485 adequadas podem desempenhar um papel essencial na prevenção da toxocaríase em
486 populações indígenas.

487 Como observado anteriormente no Brasil (27, 53) e na Nigéria (54), a ausência
488 de associação significativa entre os fatores de risco para toxocaríase (sexo, idade,
489 escolaridade, consumo de carne crua ou malpassada, consumo de carne de caça,
490 posse de cães ou gatos) pode estar relacionada à alta soropositividade humana e
491 consequentes dificuldades para significância estatística. Apesar do alto número
492 (250/463; 54,0%) de indígenas que declarou o hábito de consumo de carne de caça,
493 apenas 24 (5,2%) relataram consumir carne crua/malpassada (16/24 soropositivos).
494 Assim, o tamanho amostral pode ter sido uma limitação para alcançar significância
495 estatística para algumas variáveis, mas devem ser interpretadas com cautela devido
496 à possibilidade de viés de informação.

497 Outros estudos relataram que o gênero masculino é um fator de risco potencial
498 para soropositividade para *Toxocara* spp., particularmente em homens que são
499 trabalhadores agrícolas, pois estão em contato próximo com o solo (22, 55). Embora
500 a principal fonte de alimento dos indígenas fosse a subsistência agrícola, o gênero
501 não foi estatisticamente associado à soropositividade no presente estudo. Além disso,
502 as proporções de homens (50,6%) e mulheres (49,4%) soropositivos foram
503 semelhantes, apontando que a exposição à toxocaríase foi independente do gênero.
504 Resultados semelhantes foram observados nas populações indígenas da Colômbia
505 (25) e do México (50). Isso pode ser explicado pelas diferentes estruturas sociais
506 dentro de diferentes comunidades. Além do contato com o solo durante atividades
507 laborais, o consumo de água não tratada também foi considerado um fator de risco
508 (25). Portanto, o risco de infecção humana por *Toxocara* spp. é maior em
509 comunidades com solo contaminado que usam fontes de água que contêm ovos do
510 parasita (56). Este achado pode justificar a alta exposição de ambos os sexos,
511 particularmente em comunidades com condições inadequadas de saneamento ou que
512 se lavam alimentos com água contaminada (25).

513 A soropositividade não foi influenciada pela idade, corroborando os resultados
514 de populações indígenas no México (50). No entanto, esse achado diferiu daquele em
515 comunidades indígenas colombianas, onde uma prevalência maior foi observada em
516 adultos do que em adolescentes (25). Por outro lado, em comunidades rurais da
517 Amazônia brasileira, a idade acima de 14 anos foi considerada um fator de proteção
518 (OR: 0,46) (57). A idade continua sendo um fator de risco controverso na toxocaríase

humana, pois indivíduos mais jovens podem ter maior probabilidade de serem infectados devido à ingestão de ovos presentes no solo contaminado ou contato com cães e gatos (22, 58), enquanto adultos ou mais velhos podem ser soropositivos devido à persistência de anticorpos e à exposição crônica ao *Toxocara* spp. durante a vida (25). Os resultados sugerem que pessoas mais jovens e mais velhas provavelmente são expostas a solo contaminado durante atividades recreativas e trabalho agrícola. Dessa forma, futuros estudos podem ser delineados para investigar o impacto da idade no ciclo da doença.

A posse de cão ou gato não foi associada à soropositividade para *Toxocara* spp. em indígenas, possivelmente devido à ausência de cercas e ao uso de coleiras, o que resultou na presença de cães e gatos vadios em todas as comunidades indígenas. Um estudo de meta-análise revelou que o contato com cães ($OR = 1,5$) e gatos ($OR = 1,6$) foi um fator de risco para a soropositividade para *Toxocara* spp. na população menor de 18 anos (59). A presença de cães vadios em comunidades indígenas aumenta o risco de exposição, como foi observado em indígenas Crees no Canadá (60). Além disso, crianças aborígenes em idade escolar que possuem cães no leste (61) e nordeste (23) do Taiwan apresentaram 1,8 e 3,8 vezes mais chances de serem soropositivas, respectivamente.

A presença de ovos de *Toxocara* spp. nas fezes (4,6%) e no pelo (2,0%) dos cães foi considerada baixa, com resultados dentro da faixa de positividade observada nas regiões Sul (1,8 a 48,9%; média 11,7%) e Sudeste do Brasil (0,7 a 39,0%; média 11,2%) (62). No entanto, outro estudo no Paraná encontrou ovos de *Toxocara* spp. em 12/115 (10,4%) amostras de fezes e em 22/104 (21,2%) amostras de pelo de cães (53), indicando uma potencial subestimação da prevalência no presente estudo, provavelmente pela amostragem de apenas cães adultos. Cães mais jovens podem reduzir drasticamente a eliminação de ovos após 12 semanas e, após 40 semanas, cães infectados geralmente não apresentam nenhum sinal devido a uma resposta imune adaptativa (8). No entanto, as más condições nutricionais e sanitárias observadas nas comunidades do presente estudo podem ter predisposto cães adultos à infecção por *T. canis* por meio do solo contaminado. O papel de raposas e cães selvagens como potencial fonte de contaminação ambiental tem sido discutido (63) e também pode ser considerado. A possibilidade de contaminação do solo por ovos de *Toxocara* spp. eliminados por canídeos selvagens que vivem em territórios indígenas

552 pode ter contribuído para o ciclo de transmissão do parasito e pode ser melhor
553 investigada futuramente.

554 A contaminação do solo foi observada apenas em comunidades do estado do
555 Paraná (23,3 a 70,0%), com alta frequência de ovos embrionados infectivos (56/121;
556 46,3%). A análise molecular de DNA dos ovos de *Toxocara* spp. recuperados do solo
557 de áreas comuns revelou a presença apenas de *T. canis*, provavelmente devido à alta
558 circulação de cães vadios nesses ambientes. Na Polônia, um número maior de ovos
559 de *T. canis* foi recuperado em áreas rurais, enquanto *T. cati* em áreas urbanas (64).
560 O comportamento dos gatos enterrarem suas fezes (65) pode ter influenciado a falta
561 de amplificação do DNA de *T. cati* no presente estudo. Este resultado deve ser
562 interpretado com cautela, visto que a amplificação do DNA por PCR foi realizada de
563 um pool de ovos recuperados em cada comunidade e pode não excluir a
564 contaminação por *T. cati*. Portanto, outras investigações envolvendo amostragem de
565 solo nos domicílios indígenas podem ser conduzidas para elucidar a presença de ovos
566 de *Toxocara* spp. em áreas peridomiciliares.

567 Profissionais da saúde não indígenas com regime de trabalho frequente,
568 particularmente no Paraná (46/147, 31,30%), apresentaram 9,2 vezes mais chances
569 de serem soropositivos do que aqueles que visitavam esporadicamente as
570 comunidades indígenas, sugerindo exposição ao *Toxocara* spp. durante suas
571 atividades laborais. No entanto, os indígenas apresentaram soroprevalência
572 significativamente maior do que todos os profissionais de saúde, provavelmente
573 devido à exposição diária ao *Toxocara* spp. ao longo do tempo. A fonte de água de
574 consumo não foi considerada um fator de risco para os profissionais de saúde,
575 indicando a presença de outras vias de infecção. Profissionais de saúde do sexo
576 masculino apresentaram 2,3 vezes mais chances de serem soropositivos; as razões
577 para as diferenças de gênero entre os profissionais de saúde ainda não estão claras,
578 e investigações adicionais sobre os diferentes papéis de homens e mulheres podem
579 ser realizadas. No entanto, a alta soroprevalência observada no grupo de profissionais
580 da saúde é uma preocupação de saúde pública, e estudos com foco no impacto da
581 toxocaríase nessa população são necessários.

582 O presente estudo apresenta algumas limitações, como a inclusão de indígenas
583 por conveniência, pois eles precisaram visitar voluntariamente a unidade de saúde
584 local para participar. Ainda, as análises estatísticas dos fatores de risco utilizaram
585 respostas de questionários, que podem representar as percepções dos participantes,

586 mas não os hábitos reais. O presente estudo não permitiu que profissionais de saúde
587 realizassem uma auto-entrevista, pois eles podem não ter total conhecimento sobre a
588 toxocaríase e outras doenças tropicais negligenciadas, e também devem ser
589 educados em termos de segurança alimentar e a necessidade de lavar as mãos com
590 frequência. Além disso, esses profissionais podem não ter a oportunidade de lavar as
591 mãos com frequência nas comunidades, bem como a falta de higiene nas instalações
592 e de limpeza das caixas de água. Portanto, são necessários futuros estudos
593 delineados para avaliar o conhecimento pessoal e de higiene dos profissionais de
594 saúde como potencial fator de risco associado à toxocaríase e outras doenças
595 transmitidas pelo solo e pela água.

596 Por fim, futuras pesquisas devem investigar o papel do *Toxocara* spp. em
597 provocar sintomas clínicos em pessoas soropositivas para identificar o impacto clínico
598 da toxocaríase nessas comunidades. Além disso, o ELISA utilizado foi projetado para
599 detecção geral de anticorpos e não é capaz de diferenciar infecções recentes e
600 crônicas. Devido às dificuldades de acesso às comunidades indígenas e recusa dos
601 indígenas em coletar amostras de fezes (mesmo com a ajuda de enfermeiros locais),
602 nenhum exame de fezes da população indígena foi realizado para avaliar a coinfeção
603 por *Ascaris lumbricoides*, o que poderia interferir nos resultados do ELISA. Embora o
604 western blot possa ser usado para confirmar os achados positivos do ELISA e reduzir
605 os resultados falso-positivos (47), o presente estudo limitou-se à detecção de
606 anticorpos por ELISA usando pré-adsorção para mitigar a reatividade cruzada com
607 este parasita (36).

608 Além disso, apesar dos esforços, nenhuma amostra de fezes de gato foi
609 coletada no presente estudo por dois motivos. Primeiro, os proprietários indígenas se
610 recusaram a submeter os gatos ao estresse de captura e contenção. Segundo, como
611 os gatos eram predominantemente ferais, não foi possível distinguir se as fezes
612 presentes no ambiente eram de cães ou gatos. A limitação de visitas também reduziu
613 a possibilidade de coletar um maior número de amostras de solo para determinar a
614 frequência de ovos de *Toxocara* spp. em diferentes locais de cada comunidade. No
615 entanto, estudos futuros podem incluir a coleta de fezes de gato para estabelecer
616 completamente o papel desta espécie na toxocaríase nas comunidades indígenas.

617 Em resumo, populações indígenas em todo o mundo enfrentam taxas
618 desproporcionalmente altas de doenças relacionadas ao meio ambiente e aos
619 animais. Este estudo relatou alta soroprevalência para *Toxocara* spp. em diferentes

620 populações indígenas no sul e sudeste do Brasil. Não surpreendentemente, a maior
621 soroprevalência de *Toxocara* spp. foi observada em comunidades indígenas com
622 condições sanitárias precárias que utilizavam um rio local como fonte de água de
623 consumo. Profissionais de saúde que trabalhavam cinco dias por semana nas
624 comunidades indígenas tinham quase 10 vezes mais chances de serem soropositivos
625 do que aqueles que as visitavam esporadicamente, sugerindo exposição ao *Toxocara*
626 spp. durante atividades laborais, levantando preocupações com a saúde. Além disso,
627 este estudo revelou que a soroprevalência foi significativamente maior em indígenas
628 do que em profissionais de saúde, provavelmente devido à exposição ao *Toxocara*
629 spp. ao longo do tempo.

630

631 **Agradecimentos**

632 Agradecemos ao Distrito Sanitário Especial Indígena (DSEI), à Secretaria Especial de
633 Saúde Indígena (SESAI), às lideranças e povos indígenas. Agradecemos também a
634 Josias Castro da Silva, Andréia de Fátima Fernandes, Rivelino Gabriel de Castro,
635 Dionísio Rodrigues e Regiane Rodrigues pela colaboração na coleta de amostras e
636 acompanhamento.

637

638 **Referências**

- 639 1. Brasil. Ministério dos Povos Indígenas. IBGE divulga novos dados do Censo
640 Indígena de 2022. Português (Brasil). Available at:
641 <https://www.gov.br/povosindigenas/pt-br/assuntos/noticias/2024/10/ibge-divulga-novos-dados-do-censo-indigena-de-2022> .(Accessed August 22, 2025).
- 643 2. Riley T, Anderson NE, Lovett R, Meredith A, Cumming B, Thandrayen J. One
644 health in indigenous communities: a critical review of the evidence. Int J Environ Res
645 Public Health. (2021) 18:1–12. doi: 10.3390/ijerph182111303
- 646 3. Bowman DD. Georgis' Parasitology for veterinarians. Rio de Janeiro: Elsevier
647 (2014). 498 p.
- 648 4. Azam D, Ukpai OM, Said A, Abd-Allah GA, Morgan ER. Temperature and the
649 development and survival of infective *Toxocara canis* larvae. Parasitol Res. (2012)
650 110:649–56. doi: 10.1007/s00436-011-2536-8
- 651 5. Fan C-K. Pathogenesis of cerebral toxocariasis and neurodegenerative diseases.
652 Adv Parasitol. (2020) 109:233–59. doi: 10.1016/bs.apar.2020.01.008
- 653 6. Bowman DD. History of *Toxocara* and the associated larva migrans. Adv Parasitol.
654 (2020) 109:17–38. doi: 10.1016/bs.apar.2020.01.037

- 655 7. Jimenez Castro PD, Sapp SG. Role of cats in human toxocarosis. Companion
656 Anim. (2020) 26:6–14. doi: 10.12968/coan.2020.0104
- 657 8. Schwartz R, Bidaisee S, Fields PJ, Macpherson MLA, Macpherson CNL. The
658 epidemiology and control of *Toxocara canis* in puppies. Parasite Epidemiol Control.
659 (2022) 16:e00232. doi: 10.1016/j.parepi.2021.e00232
- 660 9. Park K-Y, Park H-K, Hwang H-S, Ryu J-S, Lee K-G, Jang K-S. Space occupying
661 lesion in the liver caused by hepatic visceral larva migrans: a case report. Am J Trop
662 Med Hyg. (2018) 99:1602–5. doi: 10.4269/ajtmh.18-0199
- 663 10. Ritu MKS, Malik R. Hepatic visceral larva migrans causing hepatic artery
664 pseudoaneurysm. Indian Pediatr. (2021) 58:184–6. doi: 10.1007/s13312-021-2141-6
- 665 11. Ranasuriya G, Mian A, Boujaoude Z, Tsigrelis C. Pulmonary toxocariasis: a case
666 report and literature review. Infection. (2014) 42:575–8. doi: 10.1007/s15010-014-
667 0587-3
- 668 12. Gemmell A. Toxocariasis as a cause of multiple pulmonary nodules in a
669 paediatric patient. BMJ Case Rep. (2015) 2015:bcr2014207073. doi: 10.1136/bcr-
670 2014-207073
- 671 13. Inagaki K, Kirmse B, Bradbury RS, Moorthy RS, Arguello I, McGuffey CD, et al.
672 Case report: ocular toxocariasis: a report of three cases from the Mississippi Delta.
673 Am J Trop Med Hyg. (2019) 100:1223–6. doi: 10.4269/ajtmh.18-0766
- 674 14. Hu X-F, Feng J, Kang H, Wang H, Liu X-H, Tao Y. Clinical characteristics of
675 ocular toxocariasis in adults in North China. Int J Ophthalmol. (2022) 15:401–6. doi:
676 10.18240/ijo.2022.03.05
- 677 15. Xie Y, Sun L, Chen Y, Zhou X, Zhang Z, Ding X. Ocular toxocariasis presenting
678 as leukocoria. Lancet Infect Dis. (2022) 22:426. doi:10.1016/S1473-3099(21)00704-0
- 679 16. Nhari M, Rezkallah A, Gerfaud-Valentin M, Seve P, Kodjikian L, Denis P, et al.
680 Recurrent bilateral vasculitis without granuloma in a well-treated neurotoxocariasis
681 with optic neuritis. Ocul Immunol Inflamm. (2023) 31:407–9. doi:
682 10.1080/09273948.2021.2025252
- 683 17. Sánchez SS, García HH, Nicoletti A. Clinical and magnetic resonance imaging
684 findings of neurotoxocariasis. Front Neurol. (2018) 9:53. doi:
685 10.3389/fneur.2018.00053
- 686 18. Lee K-P, Shen P-C, Shih Y-C, Chou C-M, Tsai C-S, Sun Y-T, et al. The first two
687 cases of neurotoxocariasis in Taiwan. J Formos Med Assoc. (2021) 120:1520–5.
688 doi:10.1016/j.jfma.2021.01.025

- 689 19. Gavignet B, Piarroux R, Aubin F, Millon L, Humbert P. Cutaneous manifestations
690 of human toxocariasis. *J Am Acad Dermatol.* (2008) 59:1031–42. doi:
691 10.1016/j.jaad.2008.06.031
- 692 20. Phuc LDV, Hai TX, Loi CB, Quang HH, Vinh LD, Le T-A. The kinetic profile of
693 clinical and laboratory findings and treatment outcome of patients with toxocariasis.
694 *Tropical Med Int Health.* (2021) 26:1419–26. doi: 10.1111/tmi.13665
- 695 21. Recuero JK, Binda G, Kiszevski AE. Eosinophilic panniculitis associated with
696 toxocariasis in a child. *An Bras Dermatol.* (2019) 94:250–1. doi: 10.1590/abd1806-
697 4841.20198172
- 698 22. Rostami A, Riahi SM, Holland CV, Taghipour A, Khalili-Fomeshi M, Fakhri Y, et
699 al. Seroprevalence estimates for toxocariasis in people worldwide: a systematic
700 review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis.* (2019) 13:e0007809.
701 doi:10.1371/journal.
- 702 23. Romano N, Nor Azah MO, Rahmah N, Lim Y AL, Rohela M. Seroprevalence of
703 toxocariasis among Orang Asli (Indigenous people) in Malaysia using two
704 immunoassays. *Trop Biomed.* 2010 Dec;27(3):585-94.
- 705 24. Fan CK, Liao CW, Kao TC, Li MH, Du WY, Su KE. Seroepidemiology of *Toxocara*
706 *canis* infection among aboriginal schoolchildren in the mountainous areas of North-
707 Eastern Taiwan. *Ann Trop Med Parasitol.* (2005) 99:593–600. doi:
708 10.1179/136485905X51373
- 709 25. Waindok P, Kann S, Aristizabal A, Dib JC, Strube C. *Toxocara* seroprevalence
710 and risk factor analysis in four communities of the Wiwa, an indigenous tribe in
711 Colombia. *Microorganisms.* (2021) 9:1–8. doi: 10.3390/microorganisms9081768
- 712 26. Silva MB, Amor ALM, Santos LN, Galvão AA, Oviedo Vera AV, Silva ES, et al.
713 Risk factors for *Toxocara* spp. seroprevalence and its association with atopy and
714 asthma phenotypes in school-age children in a small town and semi-rural areas of
715 Northeast Brazil. *Acta Trop.* (2017) 174:158–64. doi:
716 10.1016/j.actatropica.2016.04.005
- 717 27. Araújo AC, Villela MM, Sena-Lopes Â, Farias NADR, Faria LMJ, Avila LFDC, et
718 al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Toxocara canis* in a human rural
719 population of southern Rio Grande do Sul. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* (2018)
720 60:e28. doi: 10.1590/s1678-9946201860028
- 721 28. de Andrade SA. Uma proposta etnoarqueológica sobre a concepção do território:
722 Os Mbya Guarani e o Tekoa Pindoty. *Cadernos do LEPAARQ (UFPEL).* (2014)
723 11(21):62–77. doi:10.15210/lepaarq.v11i21.3153

- 724 29. Dalila CS. Mutirões extracomunitários versus turismo voluntário: experiências
725 nas aldeias Tupã Nhe’é Kretã (Morretes-PR) e Kuaray Haxa (Guaraqueçaba-PR).
726 Ver Iberoam Tur. (2017) 7:22–39. doi: 10.2436/20.8070.01.53
- 727 30. Pinto DBG. O desenvolvimento rural e as populações indígenas paulistas: uma
728 etnografia de duas aldeias Terena da Terra Indígena Araribá. Univ Fed Flum.
729 Português (Brasil). (2019). Available at: <https://app.uff.br/riuff/handle/1/22019>
730 (Accessed December 10, 2022).
- 731 31. Losnak SR. Re-significação da identidade cultural dos Terêna de Ekeruá: uma
732 abordagem da produção cultural subalterna. Rev Extraprensa. (2010) 1:1–17.
733 doi:10.5841/extraprensa.v1i1e.122
- 734 32. Finateli M. “Projetos” e “misturas” indígenas: os Terena e Guarani da aldeia
735 Tereguá (Araribá-SP). Português (Brasil). (2015). Available at:
736 <https://silo.tips/download/universidade-federal-de-santa-catarina-centro-de-filosofia-e-ciencias-humanas-cu-13> (Accessed December 10, 2022).
- 738 33. Distrito Sanitário Especial Indígena — Português (Brasil). Available at:
739 <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sesai/estrutura/distrito-sanitario-especialindigena-dsei> (Accessed February 22, 2023).
- 741 34. Otero D, Alho AM, Nijssse R, Roelfsema J, Overgaauw P, Madeira de Carvalho L.
742 Environmental contamination with *Toxocara* spp. eggs in public parks and
743 playground sandpits of greater Lisbon, Portugal. J Infect Public Health. (2018) 11:94–
744 8. doi: 10.1016/j.jiph.2017.05.002
- 745 35. Elefant GR, Shimizu SH, Arroyo Sanchez MC, Jacob CMA, Ferreira AW. A
746 serological follow-up of toxocariasis patients after chemotherapy based on the
747 detection of IgG, IgA, and IgE antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay. J
748 Clin Lab Anal. (2006) 20:164–72. doi: 10.1002/jcla.20126
- 749 36. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the
750 Folin phenol reagent. J Biol Chem. (1951) 193:265–75. doi: 10.1016/s0021-
751 9258(19)52451-6
- 752 37. Romasanta A, Romero JL, Arias M, Sánchez-Andrade R, López C, Suárez JL, et
753 al. Diagnosis of parasitic zoonoses by immunoenzymatic assays - analysis of cross-
754 reactivity among the excretory/secretory antigens of *Fasciola hepatica*, *Toxocara*
755 *canis*, and *Ascaris suum*. Immunol Investig. (2003) 32:131–42. doi: 10.1081/IMM-
756 120022974
- 757 38. Glickman L, Schantz P, Dombroske R, Cypess R. Evaluation of serodiagnostic
758 tests for visceral larva migrans. Am J Trop Med Hyg. (1978) 27:492–8. doi:
759 10.4269/ajtmh.1978.27.492

- 760 39. Fillaux J, Magnaval JF. Laboratory diagnosis of human toxocariasis. *Vet*
761 *Parasitol.* (2013) 193:327–36. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.12.028
- 762 40. Matos Fialho PM, Correa CRS, Lescano SZ. Seroprevalence of toxocariasis in
763 children with urticaria: a population-based study. *J Trop Pediatr.* (2017) 63:fmw094–
764 357. doi: 10.1093/tropej/fmw094
- 765 41. Fialho PMM, Correa CRS, Lescano SZ. Asthma and seroconversion from
766 *Toxocara* spp. infection: which comes first? *Biomed Res Int.* (2018) 2018:1–6. doi:
767 10.1155/2018/4280792
- 768 42. De Savigny DH, Voller A, Woodruff AW. Toxocariasis: serological diagnosis by
769 enzyme immunoassay. *J Clin Pathol.* (1979) 32:284–8. doi: 10.1136/jcp.32.3.284
- 770 43. Merigueti YFFB, Santarém VA, Ramires LM, da Silveira BA, da Costa Beserra
771 LV, Nuci AL, et al. Protective and risk factors associated with the presence of
772 *Toxocara* spp. eggs in dog hair. *Vet Parasitol.* (2017) 244:39–43. doi:
773 10.1016/j.vetpar.2017.07.020
- 774 44. Rosa Xavier IG, Ramos BC, Santarém VA. Recovery threshold of *Toxocara canis*
775 eggs from soil. *Vet Parasitol.* (2010) 167:77–80. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.09.052
- 776 45. Roddie G, Stafford P, Holland C, Wolfe A. Contamination of dog hair with eggs of
777 *Toxocara canis*. *Vet Parasitol.* (2008) 152:85–93. doi: 10.1016/j.vetpar.2007.12.008
- 778 46. Wang Z, Shibata M, Nguyen YTH, Hayata Y, Nonaka N, Maruyama H, et al.
779 Development of nested multiplex polymerase chain reaction (PCR) assay for the
780 detection of *Toxocara canis*, *Toxocara cati* and *Ascaris suum* contamination in meat
781 and organ meats. *Parasitol Int.* (2018) 67:622–6. doi: 10.1016/j.parint.2018.06.006
- 782 47. The R Project for Statistical Computing. Available online at: <https://www.r-project.org/> (Accessed October 10, 2022)
- 783
- 784 48. Noordin R, Yunus MH, Tan Farrizam SN, Arifin N. Serodiagnostic methods for
785 diagnosing larval toxocariasis. *Adv Parasitol.* (2020) 109:131–52. doi:
786 10.1016/bs.apar.2020.01.003
- 787 49. Araújo Z, Brandes S, Pinelli E, Bochichio MA, Palacios A, Wide A, et al.
788 Seropositivity for ascariasis and toxocariasis and cytokine expression among. *Rev*
789 *Inst Med Trop São Paulo.* (2015) 57:47–55. doi: 10.1590/S0036-
790 46652015000100007
- 791 50. Alvarado-Esquivel C. Seroepidemiology of toxocariasis in a rural Tepehuano population from Durango. Mexico *J Helminthol.* (2014) 88:173–6. doi:
792 10.1017/S0022149X12000880
- 793

- 794 51. Beér SA, Novosil'tsev G, Mel'nikova L. The role of the water factor in the
795 dissemination of *Toxocara* eggs and the spread of toxocariasis in a megalopolis.
796 *Parazitologiiia*. (1999) 33:129–35.
- 797 52. Bowman DD. *Ascaris* and *Toxocara* as foodborne and waterborne pathogens.
798 *Res Vet Sci*. (2021) 135:1–7. doi: 10.1016/j.rvsc.2020.12.017
- 799 53. Delai RR, Freitas AR, Kmetiuk LB, Merigueti YFFB, Ferreira IB, Lescano SAZ, et
800 al. One health approach on human seroprevalence of anti-*Toxocara* antibodies,
801 *Toxocara* spp. eggs in dogs and sand samples between seashore mainland and
802 island areas of southern Brazil. *One Heal*. (2021) 13:100353. doi:
803 10.1016/j.onehlt.2021.100353
- 804 54. Ikotun K, Sowemimo O, Chou CM, Ajenifuja K, Chuang TW, Asaolu S, et al. High
805 seroprevalence of *Toxocara* antibodies in pregnant women attending an antenatal
806 clinic at a university hospital in Ile-Ife, Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. (2020)
807 114:301–7. doi: 10.1093/trstmh/trz116
- 808 55. Lötsch F, Obermüller M, Mischlinger J, Mombo-Ngoma G, Groger M, Adegnika
809 AA, et al. Seroprevalence of *Toxocara* spp. in a rural population in central African
810 Gabon. *Parasitol Int*. (2016) 65:632–4. doi: 10.1016/j.parint.2016.09.001
- 811 56. Ma G, Rostami A, Wang T, Hofmann A, Hotez PJ, Gasser RB. Global and
812 regional seroprevalence estimates for human toxocariasis: a call for action. *Adv
813 Parasitol*. (2020) 109:275–90. doi: 10.1016/bs.apar.2020.01.011
- 814 57. Rubinsky-Elefant G, Da Silva-Nunes M, Malafronte RS, Muniz PT, Ferreira MU.
815 Human toxocariasis in rural Brazilian Amazonia: seroprevalence, risk factors, and
816 spatial distribution. *Am J Trop Med Hyg*. (2008) 79:93–8.
817 doi:10.4269/ajtmh.2008.79.93
- 818 58. Ma G, Holland CV, Wang T, Hofmann A, Fan C-K, Maizels RM, et al. Human
819 toxocariasis. *Lancet Infect Dis*. (2018) 18:e14–24. doi: 10.1016/S1473-
820 3099(17)30331-6
- 821 59. Merigueti YFFB, Giuffrida R, da Silva RC, Kmetiuk LB, Dos SAP, Biondo AW, et
822 al. Dog and cat contact as risk factor for human toxocariasis: systematic review and
823 metaanalysis. *Front Public Heal*. (2022) 10:1–13. doi: 10.3389/fpubh.2022.854468
- 824 60. Sampasa-Kanyinga H, Lévesque B, Anassour-Laouan-sidi E, Côté S, Serhir B,
825 Ward BJ, et al. Zoonotic infections in communities of the James Bay Cree territory:
826 an overview of seroprevalence. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. (2013) 24:79–84.
827 doi:10.1155/2013/370321
- 828 61. Fan CK, Lan HS, Hung CC, Chung WC, Liao CW, Du WY, et al.
829 Seroepidemiology of *Toxocara canis* infection among mountain aboriginal adults in
830 Taiwan. *Am J Trop Med Hyg*. (2004) 71:216–21. doi: 10.4269/ajtmh.2004.71.216

- 831 62. Dantas-Torres F. *Toxocara* prevalence in dogs and cats in Brazil. Adv Parasitol.
832 (2020) 109:715–41. doi: 10.1016/bs.apar.2020.01.028
- 833 63. Jenkins DJ. *Toxocara canis* in Australia. Adv Parasitol. (2020) 109:873–8.
834 doi:10.1016/bs.apar.2020.01.033
- 835 64. Mizgajska-Wiktor H, Jarosz W, Fogt-Wyrwas R, Drzewiecka A. Distribution and
836 dynamics of soil contamination with *Toxocara canis* and *Toxocara cati* eggs in
837 Poland and prevention measures proposed after 20 years of study. Vet Parasitol.
838 (2017) 234:1–9. doi: 10.1016/j.vetpar.2016.12.011
- 839 65. Maciąg L, Morgan ER, Holland C. *Toxocara*: time to let *cati* ‘out of the bag.’.
840 Trends Parasitol. (2022) 38:280–9. doi: 10.1016/j.pt.2021.12.006

1 **ARTIGO CIENTÍFICO 2²**

2 **Alta soroprevalência para *Toxocara* spp. em uma comunidade indígena da
3 tríplice fronteira (Brasil, Paraguai e Argentina): uma perspectiva de Saúde
4 Única**

5

6 **Resumo**

7 A toxocaríase é uma zoonose parasitária negligenciada que afeta principalmente
8 populações vulneráveis de regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo. Além da
9 vulnerabilidade, comunidades indígenas existem há muito tempo antes das áreas
10 limítrofes, particularmente em países da América do Sul, levando ao isolamento
11 cultural, preocupações migratórias e ambientais, ultimamente associadas à baixa
12 infraestrutura e falta de políticas de saúde. O objetivo do presente estudo foi realizar
13 um levantamento sorológico para *Toxocara* spp. em indígenas e pesquisar ovos do
14 parasito em amostras de cães e solo de uma comunidade indígena Guarani-Mbyá
15 localizada em uma área de tríplice fronteira entre Brasil, Paraguai e Argentina. No
16 geral, a soropositividade foi observada em 246/258 (95,3%; IC 95%: 92,1–97,3)
17 indígenas, sem fatores de risco estatisticamente associados à soropositividade,
18 provavelmente devido à maior soroprevalência humana relatada até o momento em
19 todo o mundo. Embora ovos de *Toxocara* spp. tenham sido visualizados em apenas
20 8/124 (6,5%) amostras de fezes de cães, ovos do parasito foram recuperados em
21 13/42 (30,9%) amostras de solo de áreas comuns e 17/32 (53,1%) peridomiciliares,
22 identificados molecularmente como *T. canis* por amplificação de DNA. O alto número
23 de ovos infectivos de *T. canis* encontrados nas amostras de solo reforça o papel da
24 exposição ambiental diária na manutenção da transmissão da doença dentro da
25 comunidade, o que pode refletir o padrão da doença em outras comunidades
26 indígenas. Além disso, o comportamento migratório da etnia Guarani através da
27 tríplice fronteira pode ter disseminado a infecção para outras comunidades indígenas
28 fronteiriças do Brasil, Paraguai e Argentina.

29 **Palavras-chave:** epidemiologia; Saúde Única; *Toxocara* spp.; vulnerabilidade social;
30 zoonoses.

² Artigo científico de acordo com as normas da revista One Health.

31 **1 Introdução**

32 Parasitos do gênero *Toxocara* têm sido patógenos zoonóticos de importância
33 socioeconômica [1], com impacto econômico da toxocaríase estimado em 2,5 bilhões
34 de dólares por ano, geralmente relacionado a custos de tratamento médico e perda
35 de renda dos acometidos [2]. Embora subestimada, aproximadamente um quinto da
36 população global pode estar infectada por *T. canis* e *T. cati* [3], nematódeos comuns
37 em cães e gatos, respectivamente [4].

38 A infecção humana comumente ocorre pela ingestão acidental de ovos
39 embrionados de *Toxocara* spp. presentes no solo [5] ou pelo consumo de carne crua
40 ou malcozida de hospedeiros paratênicos, principalmente bovinos e aves [6]. Após a
41 ingestão, as larvas L3 são liberadas do ovo ou da carne, penetram a parede do
42 intestino delgado, acessam a circulação sanguínea e migram pelo corpo,
43 potencialmente invadindo os órgãos [5]. Embora sejam raros, dois casos congênitos
44 de toxocaríase foram relatados na literatura até o momento [7,8].

45 Embora as infecções humanas sejam principalmente subclínicas, as larvas de
46 *Toxocara* spp. podem desencadear inflamação local associada à eosinofilia com
47 aumento da produção de citocinas e anticorpos específicos [9]. A patologia clínica da
48 toxocaríase varia de acordo com a forma e a intensidade da infecção, juntamente com
49 a localização das larvas e a idade do hospedeiro [10]. A forma visceral da toxocaríase
50 pode ocasionar lesões hepáticas [11,12], pulmonares [13,14] e cardíacas [15], ou
51 resultar em morte [16]. A toxocaríase ocular pode levar a granuloma periférico ou
52 posterior, endoftalmite, distorções e descolamento da retina, estrabismo e cegueira
53 [17,18]. A neurotoxocaríase também pode ocasionar manifestações neurológicas,
54 como meningite, encefalite, mielite, vasculite cerebral, convulsões e cefaleia [19,20].

55 A toxocaríase é uma zoonose parasitária negligenciada que tem impactado
56 comunidades mais pobres [4] de regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo [9],
57 podendo afetar desproporcionalmente populações indígenas que vivem em situação
58 de pobreza [21]. As populações indígenas brasileiras têm sido historicamente
59 conquistadas, dizimadas e translocadas para áreas geográficas remotas,
60 principalmente para unidades de conservação, carentes de saneamento básico, água
61 potável e assistência veterinária para animais de estimação e gado, resultando em
62 exposição a agentes zoonóticos e desvantagem socioeconômica, quando
63 comparadas a outras etnias brasileiras [22].

Nenhuma espécie nativa domesticada foi encontrada no Brasil na época das invasões europeias no início do século XVI, demonstrando que as comunidades indígenas brasileiras podem nunca ter domesticado espécies nativas durante 20 a 30.000 anos de existência [23]. Dessa forma, cães e gatos domésticos podem ter trazido novos patógenos e estabelecido novos ciclos de doenças, impactando a saúde indígena. Além da vulnerabilidade inerente, comunidades indígenas localizadas em áreas limítrofes de países em desenvolvimento podem estar expostas a índices de desenvolvimento humano ainda mais baixos, associados a preocupações ambientais, fluxo migratório e políticas de saúde, o que pode apresentar fragilidades na perspectiva de Saúde Única [24].

Diante deste cenário, recentemente nosso grupo de pesquisa detectou alta exposição a *Toxocara* spp. (73,9%; IC 95%: 70,0–77,7) em populações indígenas que vivem no sul e sudeste do Brasil, incluindo a recuperação de ovos de *Toxocara* spp. em 9/194 (4,6%) amostras de fezes e em 4/204 (2,0%) amostras de pelos de cães, com detecção de ovos em 36/90 (40,0%) amostras de solo de áreas comuns, identificamos molecularmente como *T. canis* [25]. No entanto, até o momento nenhum estudo avaliou comunidades indígenas que vivem em áreas limítrofes brasileiras. Dessa forma, o presente estudo avaliou uma grande comunidade indígena localizada perto da tríplice fronteira do Brasil, Argentina e Paraguai, avaliando a soroprevalência humana e potenciais fatores de risco associados a soropositividade, a infecção de cães e a contaminação do solo sob a perspectiva de Saúde Única.

85

86 **2 Materiais e Métodos**

87 **2.1 Aspectos éticos**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Saúde Humana do Ministério da Saúde do Brasil (protocolo 52039021.9.0000.0102) e pela CEUA (protocolo número 033/2021) da Universidade Federal do Paraná, Brasil. O presente estudo também foi aprovado pelo Comitê Assessor de Pesquisa Institucional e pela CEUA da Unoeste (projeto 7994).

93

94 **2.2 Desenho do estudo**

Este foi um estudo soroepidemiológico transversal baseado em uma abordagem “One Health” para toxocaríase em uma comunidade indígena clinicamente saudável (assintomática), localizada em uma área de três fronteiras entre o Brasil,

98 Argentina e Paraguai. A comunidade indígena Ocoy foi escolhida com base em sua
99 alta vulnerabilidade devido à área de embarque de três países altamente povoada
100 (comércio, contrabando e tráfico), translocação forçada de seu desembarque original
101 após a inundação da barragem, hábitos de higiene precários, ambiente insalubre
102 (água da barragem não potável) e habitada principalmente por indivíduos que falam
103 apenas o guarani (tradutor necessário). A seleção foi feita pelo Distrito Sanitário
104 Especial Indígena (DSEI) Litoral Sul, Secretaria Especial de Saúde Indígena (SESAI)
105 e Ministério da Saúde do Brasil, entre 150 comunidades indígenas com cerca de 20
106 mil indígenas vivendo nos estados do Paraná, São Paulo e Rio de Janeiro. Além disso,
107 como parte das atribuições oficiais do Sistema Único de Saúde (SUS), essa
108 comunidade indígena foi considerada prioritária para a abordagem Saúde Única
109 devido à alta presença de cães e gatos abandonados, não castrados, não
110 vermifugados e não vacinados.

111

112 **2.3 Área do estudo**

113 O presente estudo foi realizado na comunidade indígena Avá Guarani Tekoha
114 Ocoy (Figura 1), da etnia Guarani, subgrupo Mbyá, localizada em Santa Rosa do Ocoí,
115 distrito do município de São Miguel do Iguaçu, extremo Oeste do estado do Paraná,
116 Brasil, fazendo fronteira com a Argentina ao sul, distante 10 km a oeste do Paraguai
117 e 40 km até a tríplice fronteira Brasil, Paraguai e Argentina.

118

119 **2.4 Características da população**

120 Historicamente, os grupos étnicos Guarani foram marcados por ondas
121 migratórias pelo Brasil, Paraguai e Argentina entre 1800 e 1900, relacionadas a
122 invasões europeias, aspectos religiosos e exploração de subsistência. Como
123 resultado dessa dispersão, os Guarani alcançaram as áreas de Mata Atlântica da
124 costa sul e sudeste do Brasil no início de 1900 [26]. Três grandes grupos da etnia
125 Guarani, denominados Mbyá, Kaiowá e Nhandeva, se estabeleceram, diferenciando-
126 se entre si por costumes, dialetos, rituais e ocupação de terras [27].

127 A comunidade Guarani Mbyá tem se mantido tradicionalmente por meio da
128 subsistência com recursos naturais. A alta mobilidade populacional entre as
129 comunidades Guarani é conhecida como tekoá ("lugar bom para viver" ou "lugar do
130 jeito Guarani de ser"), historicamente conduzida por quarenta a cem indivíduos na

131 época para fins religiosos e rituais, além da troca de matérias-primas, artesanato e
 132 produtos agrícolas [27,28].

133 A nação Guarani Ava Mbyá pesquisada no presente estudo foi removida de
 134 suas terras ancestrais na fronteira entre Brasil e Paraguai pelo governo militar no início
 135 da década de 1970, que foram submersas devido à construção da hidrelétrica
 136 binacional de Itaipu, juntamente com a maior barragem de usina hidrelétrica artificial
 137 do mundo (e atualmente a terceira) na época [29]. A comunidade indígena foi
 138 parcialmente realocada para uma área de barragem à beira do lago de 251 hectares,
 139 lutando com sua crescente população (atualmente 800 habitantes) vivendo em um
 140 território insuficiente e com a falta de água potável, visto que o lago local se tornou
 141 inadequado para consumo, tomar banho e pescar, devido à poluição por resíduos
 142 sólidos e pesticidas [29].



143 **Figura 1.** Localização da comunidade indígena Avá Guarani Tekoha Ocoy, situada no estado
 144 do Paraná, na região da tríplice fronteira Brasil, Paraguai e Argentina.

145 **2.4 Amostragens e testes**

146 **2.4.1 Humanos**

147 A amostragem de indígenas foi realizada por conveniência após assinatura do
148 termo de consentimento e preenchimento de um questionário epidemiológico.
149 Amostras de sangue (10 mL) foram coletadas por punção venosa utilizando tubos a
150 vácuo sem anticoagulante, realizada por enfermeiros certificados. Os tubos foram
151 mantidos em temperatura ambiente (25 °C) até a formação de coágulos visíveis e, em
152 seguida, centrifugados (800 g por cinco minutos). As amostras de soro obtidas foram
153 congeladas (-20 °C) até realização de ELISA para detecção de IgG anti-*Toxocara* spp.

154 Os fatores de risco associados à soropositividade para *Toxocara* spp. foram
155 avaliados por meio das respostas ao questionário aplicado aos indígenas
156 participantes. O questionário incluiu perguntas sobre gênero, idade, escolaridade,
157 fonte de água, consumo de carne crua ou malpassada, consumo de carne de caça,
158 hábito de roer unhas, contato com o solo e posse de cães e gatos.

159 Para realização da sorologia, todas as amostras de soro foram pré-adsorvidas
160 com extrato de parasitos adultos de *Ascaris suum*, seguindo um protocolo
161 previamente estabelecido [30], melhorando a especificidade do ensaio e evitando
162 reatividade cruzada com outros抗ígenos ascarídeos [31], apresentando
163 sensibilidade de 78,3% e especificidade de 92,3% [32,33].

164 A preparação do抗ígeno TES para o ELISA foi conduzida utilizando um
165 concentrado de proteínas de larvas eclodidas de ovos de *T. canis* coletados de fêmeas
166 adultas do parasito, conforme descrito na literatura [30]. O ELISA foi realizado em
167 microplacas de poliestireno de 96 poços (Corning, Costar, Nova York, EUA) revestidas
168 com抗ígenos TES (1,9 μg/μL por poço) em tampão carbonato-bicarbonato (0,06 M)
169 a pH 9,6 por 1 hora a 37 °C e 18 horas a 4 °C. As placas foram lavadas (PBS-T) e
170 bloqueadas com solução comercial de PBS-T com leite desnatado por 1 hora a 37 °C.
171 Após uma lavagem tripla com PBS-T de 5 minutos, as amostras de soro pré-
172 adsorvidas foram adicionadas em duplicata e as placas incubadas por 1 hora a 37 °C.
173 O anticorpo anti-IgG humano (específico para Fc) produzido em cabras (Sigma
174 A6029) na diluição de 1:10.000 foi adicionado (1 hora a 37 °C), seguido por outra
175 lavagem tripla de 5 minutos. A reação foi revelada usando substrato o-fenilenodiamina
176 (0,4 mg/mL, Sigma) e interrompida pela adição de ácido hiposulfuroso (H₂SO₂ 2 N).

177 Controles positivos e negativos foram incluídos em cada placa. A absorbância
178 foi lida a 492 nm, e o ponto de corte foi definido como a absorbância média de 96

179 soros de controle negativo mais três desvios-padrão. Os níveis de anticorpos foram
180 calculados como a razão entre os valores de absorbância de cada amostra e o valor
181 de corte fixado em 0,314.

182

183 **2.4.2 Cães**

184 Amostras de fezes e de pelo foram coletadas por conveniência de cães da
185 comunidade indígena. As fezes foram coletadas da ampola retal e armazenadas em
186 tubos graduados (50 mL) contendo solução de formalina a 10%, seguidas de
187 refrigeração (4 °C) até o exame microscópico. Após a coleta de fezes, amostras de
188 pelo foram coletadas das regiões perineal e lombar com lâminas de bisturi e colocadas
189 em tubos graduados individuais (50 mL) mantidos sob refrigeração (4 °C) até o
190 processamento.

191 As amostras de fezes foram processadas pela técnica de flutuação com
192 solução hipersaturada de cloreto de sódio (NaCl) ($d = 1,20 \text{ g/cm}^3$). As amostras foram
193 misturadas à solução de NaCl, filtradas e transferidas para recipientes limpos cobertos
194 com uma lâmina. Após 5 minutos de flutuação, as lâminas foram analisadas em
195 microscopia óptica com aumento de 10x para detecção de ovos de *Toxocara* spp.

196 As amostras de pelo foram processadas seguindo um protocolo previamente
197 descrito com modificações [34]. Em resumo, as amostras foram mantidas em
198 overnight com água destilada (20 mL) e detergente aniônico Tween 80 a 5% (0,2 mL),
199 sendo posteriormente homogeneizadas novamente após a adição das mesmas
200 quantidades de água destilada e detergente. A mistura foi filtrada em tamises de malha
201 metálica (300, 212 e 38 µm) em água corrente por 5 minutos. O material retido no
202 último tamis (38 µm) foi examinado microscopicamente (aumentos: 10x e 40x) para
203 detecção de ovos de *Toxocara* spp.

204

205 **2.4.3 Solo**

206 **2.4.3.1 Amostragens e processamento**

207 Amostras de solo foram coletadas aleatoriamente em áreas comuns (escola,
208 parquinho, casa de reza, posto de saúde, trilha e campos de jogos) e em áreas
209 peridomiciliares da comunidade indígena. O número de amostras coletadas em cada
210 local foi determinado pelas características da área circundante, evitando áreas com
211 presença de grama ou fezes.

O solo foi coletado de 5 a 15 cm de profundidade, acondicionado em sacos plásticos individuais e refrigerado (4°C) até o processamento [35]. As amostras foram processadas para recuperação de ovos de *Toxocara* spp. combinando alguns protocolos descritos anteriormente [35,36]. Cada amostra de solo foi pesada (20 g) e mantida “overnight” com detergente aniônico Tween 80 a 5% (100 mL). Em seguida, o sobrenadante foi descartado e a amostra recebeu adição de mais detergente (100 mL). O solo foi filtrado em tamises de malha metálica (300, 212, 90 e 38 µm) em água corrente e o material retido no último tamis (38 µm) foi coletado e submetido a um método de centrífugo-flutuação com solução de sulfato de zinco ($d = 1,35 \text{ g/cm}^3$). O material flutuado foi transferido para tubos de 15 mL, preenchidos com água destilada e centrifugado a 873 g por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e o processo de lavagem foi repetido mais duas vezes para remoção do sulfato de zinco. Por fim, todo o pellet foi examinado em microscopia óptica (aumentos: 10x e 40x). Os ovos de *Toxocara* spp. recuperados do solo foram classificados (não viáveis, viáveis, em embrionamento ou embrionados) [37] e coletados com auxílio de micropipeta de 25 µL e congelados (-20 °C) em microtubos com água destilada para posterior extração de DNA.

2.4.3.2 Caracterização molecular

A caracterização molecular dos ovos de *Toxocara* spp. recuperados do solo foi realizada de acordo com um protocolo previamente descrito [25,38]. “Pools” de ovos de *Toxocara* spp. recuperados das amostras de solo foram agrupados de acordo com os locais de coleta, rompidos usando um homogeneizador de tecidos (Scilogex D160, Rocky Hill, CT, EUA) e incubados a 65 °C por 16 horas com 20 µL de solução de proteinase K. Em seguida, o DNA genômico foi extraído seguindo as instruções do fabricante de um kit comercial (PureLink™ Microbiome DNA purification kit, Invitrogen, Waltham, MA, EUA). Para as amostras controle positivo, o DNA genômico foi extraído de ovos coletados de parasitos fêmea de *T. canis* e *T. cati*. A concentração de DNA extraída foi verificada usando espectrofotômetro por absorbância a 260/280 nm (NanoDrop 2000, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada com alvo nas sequências de ITS1 e ITS2 da região do rDNA, usando os pares de primers descritos anteriormente [39] para *T. canis* (Forward: 5'-CTCGAGTCGACGAAGTATGTAC-3'; Reverse: 5'-AATTGGGCCGCCATCATA-3') e *T. cati* (Forward: 5'-

246 GTAAGATCGTGGCACCGCTACGTA-3'; Reverse: 5'-
247 TCTTGATGTCAAGACTTCACGGC-3').

248 Cada reação de PCR foi preparada com 10 µM dos primers forward e reverse,
249 0,02 mM de desoxinucleotídeo, 30 mM de MgCl₂, 2 µL de tampão (tampão PCR 10x),
250 1 U de *Taq* DNA polimerase (Invitrogen) e aproximadamente 50 ng do DNA extraído.
251 Água livre de RNase foi adicionada às reações em quantidade suficiente para
252 completar o volume de 25 µL por reação. A PCR foi realizada em termociclador
253 (Multigene, Labnet International, Edison, NJ, EUA) sob as seguintes condições:
254 desnaturação inicial a 94 °C por 60 segundos; seguida por 35 ciclos a 94 °C por 60
255 segundos, 55 °C por 45 segundos e 72 °C por 30 segundos; e um ciclo final a 72 °C
256 por 5 minutos. Os amplicons foram visualizados em gel de agarose a 1,5% corado
257 com brometo de etídio sob luz ultravioleta após eletroforese (80 V por 60 minutos).

258

259 **2.6 Análise estatística**

260 As informações socioepidemiológicas coletadas nos questionários foram
261 tabuladas e categorizadas usando um software comercial (Excel, versão 2401,
262 Microsoft Co., Redmond, WA, EUA) e as análises estatísticas foram conduzidas no
263 software R versão 4.2.2 [40]. A análise univariada foi realizada usando o teste qui-
264 quadrado ou teste exato de Fisher para avaliar potenciais fatores de risco associados
265 à soropositividade para *Toxocara* spp. nos indígenas. O valor da razão de chances
266 (OR) de cada variável avaliada foi calculado com intervalos de confiança a 95%,
267 considerando um valor de p menor que 0,05 como estatisticamente significativo. Os
268 testes de Fisher e Mann-Whitney foram aplicados para a comparação de amostras
269 positivas de solo e o número de ovos de *Toxocara* spp. recuperados dessas amostras.

270

271 **3 Resultados**

272 **3.1 Humanos**

273 Um total de 246/258 indígenas (95,3%; IC 95%: 92,1-97,3) apresentaram
274 sorologia positiva para *Toxocara* spp. De todos os participantes, 160/258 (62,0%)
275 eram mulheres e 98/258 (38,0%) homens. A idade variou de 2 a 101 anos (mediana:
276 18 anos), sendo que participantes com idade menor ou igual a 18 anos representaram
277 51,6% (133/258), enquanto 45,3% (117/258) tinham mais de 18 anos. Alguns
278 participantes (8/258; 3,1%) não souberam informar sua idade ou data de nascimento.

279 Em relação à escolaridade, 107/258 (41,5%) participantes relataram ter
280 estudado até o ensino fundamental, e 150/258 (58,1%) possuíam, pelo menos, o
281 ensino fundamental completo. Os hábitos comportamentais e alimentares revelaram
282 que 103/258 (39,9%) indivíduos tinham o hábito de consumir carne de caça, enquanto
283 21/258 (8,1%) relataram consumir carne crua ou malpassada. O consumo de água de
284 poço artesiano foi relatado por 65/258 (25,2%) indivíduos, enquanto a maioria
285 (184/258; 71,3%) relatou o uso de outras fontes, como água de rio e nascente. Além
286 disso, 227/258 (88,0%) participantes declararam possuir cão e 135/258 (52,3%) gato.
287 O comportamento de roer unhas foi relatado por 108/258 (41,9%) indivíduos.

288 A análise univariada foi realizada para avaliar a associação entre a presença
289 de anticorpos anti-*Toxocara* spp. e as variáveis estudadas. No entanto, nenhuma
290 variável foi considerada estatisticamente significativa (Tabela 1).

291

292 **3.2 Cães**

293 A técnica de flutuação utilizada para o processamento de fezes de cães revelou
294 a presença de ovos de *Toxocara* spp. em 8/124 (6,5%) amostras. Nenhum ovo de
295 *Toxocara* spp. foi recuperado das amostras de pelo.

296

297 **3.3 Solo**

298 No geral, ovos de *Toxocara* spp. foram recuperados em 30/74 (40,5%)
299 amostras de solo, sendo 13/42 (30,9%) amostras de áreas comuns e 17/32 (53,1%)
300 de 16 domicílios (2 amostras por casa). Ovos de *Toxocara* spp. foram encontrados
301 em amostras de solo de todas as seis áreas comuns (escola, parquinho, posto de
302 saúde, campos de jogos, trilha e casa de reza) e em 11/16 (68,7%) casas avaliadas.

303 Um total de 388 ovos de *Toxocara* spp. (média de 5 ovos/20 g de solo) foram
304 recuperados de amostras de solo, sendo a maioria classificada como embrionados
305 (303/388; 78,0%) contendo larva, seguido por ovos viáveis (53/388; 13,6%), não
306 viáveis (19/388; 4,9%) e em embrionamento (13/388; 3,3%). Um número maior de
307 ovos de *Toxocara* spp. foi recuperado de áreas residenciais (370 ovos no total; média
308 de 11 ovos/20 g de solo) do que de áreas comuns (18 ovos no total; média de 0,4
309 ovos/20 g de solo).

310 Não houve diferença estatística na comparação entre a proporção de amostras
311 de solo positivas em áreas comuns e em áreas domiciliares ($p=0,061$). No entanto, o

312 número de ovos de *Toxocara* spp. recuperados dos domicílios foi significativamente
 313 maior do que das áreas comuns ($p=0,001$).

314 Um “pool” dos ovos de *Toxocara* spp. recuperados do solo em cada área
 315 positiva ($n = 17$) foi submetido à extração de DNA e PCR convencional para *T. canis*
 316 e *T. cati*. Apenas DNA de *T. canis* foi amplificado em 13 dos 17 locais positivos. Nos
 317 4 locais restantes, não foi detectado DNA de *T. canis* nem de *T. cati*, apesar de terem
 318 sido considerados positivos pela análise microscópica. O número de ovos de
 319 *Toxocara* spp. encontrados em cada local e o resultado da PCR convencional estão
 320 apresentados na tabela 2.

321

322 **Tabela 1.** Associação entre a presença de anticorpos anti-*Toxocara* spp. (IgG) no ELISA e
 323 características dos indivíduos indígenas ($n = 258$), em uma comunidade de uma área de
 324 tríplice fronteira no sul do Brasil, por análise univariada.

Variáveis	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Análise univariada	<i>p</i>
	246 (95,3)	12 (4,7)	OR (IC 95%)	
Gênero				0,77
Feminino	153 (62,2)	7 (58,3)	1,0 [Referência]	
Masculino	93 (37,8)	5 (41,7)	0,84(0,26-3,01)	
Idade (anos)				0,065
Até 18	123 (51,7)	10 (83,3)	1,0 [Referência]	
19 ou mais	115 (48,3)	2 (16,7)	4,39(1,11-31,8)	
Nível educacional				0,246
Ensino médio ou acima	145 (59,2)	5 (41,7)	1,0 [Referência]	
Até o fundamental	100 (40,8)	7 (58,3)	0,50(0,14-1,64)	
Fonte de água				0,194
Poços artesianos	64 (27,0)	1 (8,33)	1,0 [Referência]	
Outros/rio	173 (73,0)	11 (91,7)	0,28(0,01-1,49)	
Consumo de carne de				
caça				1
Não	64 (26,7)	3 (27,3)	1,0 [Referência]	
Sim	176 (73,3)	8 (72,7)	1,06(0,22-3,89)	
Consumo de carne				
crua/malpassada				1
Não	197 (83,8)	10 (83,3)	1,0 [Referência]	
Sim	38 (16,2)	2 (16,7)	0,91(0,22-6,70)	
Posse de cão				1
Não	28 (11,5)	1 (8,33)	1,0 [Referência]	
Sim	216 (88,5)	11 (91,7)	0,79(0,03-4,36)	

Posse de gato				0,624
Não	114 (46,7)	7 (58,3)	1,0 [Referência]	
Sim	130 (53,3)	5 (41,7)	1,58(0,48-5,63)	
Onicofagia				0,183
Não	134 (57,3)	4 (33,3)	1,0 [Referência]	
Sim	100 (42,7)	8 (66,7)	0,38 (0,10-1,27)	
Contato com solo				1
Não	24 (10,1)	1 (8,33)	1,0 [Referência]	
Sim	214 (89,9)	11 (91,7)	0,91 (0,04-5,08)	

325

326 **Tabela 2.** Ovos de *Toxocara* spp. recuperados de amostras de solo coletadas em áreas
 327 comuns e domiciliares em uma comunidade indígena de uma área de tríplice fronteira no sul
 328 do Brasil de acordo com características morfológicas e resultados de PCR para *T. canis*.

Áreas comuns	Amostras positivas/ total (%)	Classificação morfológica dos ovos de <i>Toxocara</i> spp. eggs recuperados do solo (n= 388 ovos)				Resultado PCR
		V	NV	EM	E	
Escola	4/6 (66.6)	1	2	0	1	positivo
Parquinho	2/6 (33.3)	4	0	0	0	positivo
Posto de saúde	1/6 (16.6)	0	1	0	0	negativo
Campos de jogos	1/15 (6.6)	0	1	0	0	positivo
Casa de reza	2/5 (40.0)	0	2	0	0	positivo
Trilha	3/4 (75.0)	2	4	0	0	negativo
Total	13/42 (30.9)	7	10	0	1	
Áreas domiciliares		V	NV	EM	E	
Casa 1	0/2 (0.0)	0	0	0	0	-
Casa 2	2/2 (100.0)	3	1	4	0	positivo
Casa 3	1/2 (50.0)	0	1	0	1	positivo
Casa 4	1/2 (50.0)	0	1	0	0	positivo
Casa 5	0/2 (0.0)	0	0	0	0	-
Casa 6	0/2 (0.0)	0	0	0	0	-
Casa 7	1/2 (50.0)	0	1	0	0	negativo
Casa 8	0/2 (0.0)	0	0	0	0	-
Casa 9	2/2 (100.0)	20	1	4	59	positivo
Casa 10	2/2 (100.0)	5	0	3	13	negativo
Casa 11	1/2 (50.0)	0	0	1	0	positivo
Casa 12	2/2 (100.0)	6	2	1	217	positivo
Casa 13	2/2 (100.0)	12	0	0	0	positivo
Casa 14	0/2 (0.0)	0	0	0	0	-
Casa 15	1/2 (50.0)	0	2	0	0	positivo
Casa 16	2/2 (100.0)	0	0	0	12	positivo
Total	17/32 (53.1)	46	9	13	302	

329 * V: viável; NV: não viável; EM: em embrionamento; E: embrionados (contendo larva).

330

331 4 Discussão

332 O presente estudo avaliou a toxocaríase humana, a infecção de cães e a
 333 contaminação do solo em uma comunidade indígena com alto fluxo migratório,

334 localizada próxima à tríplice fronteira entre Brasil, Paraguai e Argentina, com base na
335 perspectiva de Saúde Única. De acordo com o conhecimento dos autores, até o
336 momento, a soroprevalência humana para *Toxocara* spp. (95,3%) observada no
337 presente estudo foi a mais alta relatada em todo o mundo, superando outras taxas
338 mais altas, incluindo 359/387 (92,8%) indivíduos na África [41]; 172/208 (82,7%)
339 quilombolas no Brasil [42]; e 383/483 (79,3%) indígenas da comunidade Wiwa na
340 Colômbia [43]. A soroprevalência também foi maior do que a soropositividade geral
341 de 73,9% (342/463) relatada por nosso grupo de pesquisa em nove comunidades
342 indígenas distribuídas no sul e sudeste do Brasil [38].

343 O alto número de indígenas soropositivos no presente estudo indicou um alto
344 nível de exposição ao *Toxocara* spp., o que prejudicou a avaliação e o teste de fatores
345 de risco associados. A exposição ao *Toxocara* spp. tem sido associada a áreas rurais
346 [3], e populações dessas áreas no Brasil apresentaram amplas taxas de
347 soropositividade, variando de 14,4% [44] a 71,8% [45], relacionadas a baixos padrões
348 de vida e falta de condições sanitárias básicas, o que pode predispor a transmissão
349 da toxocaríase [25,46,47]. Além disso, as comunidades indígenas Guarani
350 apresentam taxas de mortalidade causadas principalmente por causas evitáveis
351 (51,6%), incluindo doenças respiratórias (40,6%), infecciosas e parasitárias (18,8%),
352 indicando maior exposição de povos indígenas à doença quando comparados à
353 população em geral [48]. Neste estudo, as desigualdades em saúde incluíram falta de
354 água potável, condições de saneamento inadequadas e acesso limitado de
355 assistência à saúde [48]. Portanto, esse padrão distinto da população indígena
356 Guarani pode ter contribuído com o aumento da exposição ao *Toxocara* spp. e
357 potencialmente a outros helmintos transmitidos pelo solo.

358 Outras variáveis também são associadas à toxocaríase, como gênero
359 masculino [42], idade mais jovem [3,50], baixo nível educacional [51–53], baixa renda
360 [54], hábitos alimentares [55,56] e contato com o solo [50,57,58]. Embora um
361 questionário epidemiológico individual tenha sido aplicado para identificar possíveis
362 fatores de risco associados à soropositividade na comunidade estudada, a alta
363 prevalência de 95,3% comprometeu a comparação estatística entre os grupos e a
364 avaliação da associação entre soropositividade e variáveis epidemiológicas. No
365 entanto, a alta soroprevalência alerta para a exposição grave e os potenciais riscos à
366 saúde enfrentados por esta população vulnerável. Apesar da alta soroprevalência

367 para *Toxocara* spp. observada no presente estudo, os indivíduos foram considerados
368 clinicamente saudáveis no momento da amostragem.

369 Embora o teste de ELISA tenha sido amplamente utilizado em estudos de
370 soroprevalência para a detecção de anticorpos anti-*Toxocara*, com sensibilidade de
371 78,3% e especificidade de 92,3% [32,33], a reação cruzada com outros ascarídeos
372 pode levar a resultados superestimados ou subestimados, enviesando a comparação
373 entre estudos sorológicos. O protocolo utilizado no presente estudo adotou a pré-
374 adsorção das amostras de soro com extrato de *A. suum* para reduzir a reatividade
375 cruzada com outros ascarídeos, incluindo *A. lumbricoides* [31]. Este protocolo também
376 tem sido utilizado para avaliar a soropositividade em diferentes populações, inclusive
377 em pesquisas com pessoas que vivem em assentamentos rurais [44,46,52], crianças
378 [49], doadores de sangue adultos [59], pessoas em situação de rua [25], indígenas
379 [38], mulheres privadas de liberdade [60], quilombolas [42] e gestantes [58,61], com
380 soropositividade variando de 11,1% [49] a 82,7% [60].

381 Ovos de *Toxocara* spp. são comumente encontrados nas fezes de cães e gatos
382 infectados, contaminando o solo de áreas onde esses animais estão presentes [5].
383 Nesse contexto, o contato com o solo tem sido considerado um importante fator de
384 risco para toxocaríase [3,41,49,50], pois os ovos de *Toxocara* spp. podem sobreviver
385 no solo por vários anos sob condições favoráveis de temperatura e umidade [62]. Esse
386 fato é particularmente relevante para indivíduos que vivem em áreas rurais, trabalham
387 em atividades agrícolas e para crianças que brincam no solo [41,50,63]. A
388 contaminação do solo por ovos de *Toxocara* spp. já foi relatada em áreas rurais [64],
389 comunidades indígenas [38] e quilombolas [42]. No presente estudo, ovos do parasita
390 foram encontrados em 40,5% (30/74) das amostras de solo analisadas, em uma taxa
391 semelhante à de 40,0% (36/90) observada anteriormente em amostras de solo
392 coletadas de áreas comuns em nove comunidades indígenas dos estados do Paraná
393 e São Paulo [38]. No presente estudo, além das amostras de áreas comuns, amostras
394 peridomiciliares também foram avaliadas, resultando em mais da metade das
395 amostras (53,1%; 17/32) contaminadas, apresentando um número maior de ovos
396 infecciosos em áreas domiciliares do que em áreas comuns. A caracterização
397 molecular dos locais positivos revelou apenas DNA de *T. canis*, como detectado
398 anteriormente em comunidades indígenas do sul do Brasil [38]. No presente estudo,
399 apesar das proporções semelhantes de amostras positivas, as áreas domiciliares
400 apresentaram maior quantidade de ovos de *T. canis* do que as áreas comuns. Como

nenhuma espécie domesticada estava presente em comunidades indígenas brasileiras antes das invasões europeias no início dos anos 1500 [23], a toxocaríase na comunidade pode ter sido consequência direta da presença de cães e gatos em comunidades indígenas, o que pode ter prejudicado, juntamente com outras causas, o equilíbrio da Saúde Única.

O uso de água não filtrada tem sido considerado um fator de risco para toxocaríase, pois a água pode estar contaminada com ovos infectivos de *Toxocara* spp. [50]. Comunidades indígenas brasileiras com infraestrutura sanitária inadequada apresentaram 2,72 vezes mais chances de serem soropositivas, e o uso de água de rio em vez de poços artesianos aumentou em 11,4 vezes o risco de soropositividade nessas populações [38]. No presente estudo, apesar de a fonte de água não ter sido identificada como um fator de risco, a maioria dos indígenas (71,3%) relatou o consumo dessas fontes de risco como água de rio e nascente, indicando a fonte de água como uma potencial contribuição para a alta soropositividade humana.

O contato direto com cães e gatos, especialmente aqueles não vermifugados ou limpos regularmente, pode aumentar o risco de toxocaríase humana, uma vez que ovos de *Toxocara* spp. presentes nas fezes e no pelo de animais podem ser fontes de infecção [34,37,65]. Neste estudo, nenhum ovo de *Toxocara* spp. foi recuperado das amostras de pelo dos cães, indicando que o contato direto com a pelagem desses animais pode não ser uma via de transmissão importante na comunidade indígena estudada. Os resultados do presente estudo corroboraram os de comunidades quilombolas no Brasil, onde nenhuma amostra positiva de pelo de cães foi observada [42]. No entanto, 22/104 (21,15%) amostras de pelo de cães apresentaram ovos de *Toxocara* spp. em comunidades litorâneas do sul do Brasil [66].

Apenas 8/124 (6,45%) amostras de fezes de cães foram positivas para *Toxocara canis*, semelhante a 9/194 (4,6%) amostras positivas de outras comunidades indígenas [38]; 5/96 (5,2%) em comunidades quilombolas [42]; e 12/115 (10,43%) em áreas litorâneas no Brasil [66]. Apesar da baixa frequência de *Toxocara* spp. nas fezes dos cães avaliados, o resultado pode ter sido subestimado, uma vez que os filhotes não foram amostrados devido a razões de bem-estar animal. Os filhotes têm maior quantidade de parasitos adultos de *Toxocara canis* em seus intestinos (80%) em comparação aos adultos (22,5%) [37], principalmente devido à transmissão transplacentária, onde a infecção pode passar verticalmente da mãe para os filhotes antes do nascimento [67].

435 Como limitação, a coleta de fezes de gatos não foi realizada no presente
436 estudo. Os gatos da comunidade estudada eram, em sua maioria, gatos selvagens e
437 de vida livre. Dessa forma, devido ao estresse e às condições de saúde
438 desconhecidas dos gatos ferais, a captura e a contenção não foram realizadas. No
439 presente estudo, DNA de *T. cati* não foi identificado nas amostras de solo. Estudos
440 anteriores mostraram que a recuperação de *T. cati* em amostras de solo de áreas
441 urbanas, especialmente parques, foi maior do que em áreas rurais [35,68–70]. Os
442 gatos têm o hábito de enterrar suas fezes no solo e na areia, o que pode explicar a
443 falta de amplificação do DNA de *T. cati* nessas áreas rurais [71]. Além disso, como o
444 DNA foi amplificado a partir de um conjunto de ovos recuperados, a possibilidade da
445 presença de ovos de *T. cati* não pode ser excluída. Ainda, o tipo de uso da terra e a
446 precipitação podem afetar a distribuição de ovos de *T. canis* e *T. cati* em amostras de
447 solo [72]. Por exemplo, ovos de *T. cati* presentes nas fezes enterradas podem ser
448 protegidos da dessecação e de condições climáticas adversas, prolongando a
449 longevidade e o período de transmissão para humanos e gatos [73]. Portanto, futuros
450 estudos podem considerar a coleta de solo durante todas as estações do ano e em
451 diferentes terrenos e usos do solo.

452 Em resumo, o presente estudo revelou a maior soroprevalência para *Toxocara*
453 spp. já relatada no mundo até o momento, encontrada em uma comunidade indígena
454 de uma área de tríplice fronteira no sul do Brasil. Apesar da ausência de fatores de
455 risco na análise estatística, o grande número de ovos infectivos observados no solo
456 reforça o papel da exposição ambiental na manutenção da transmissão nessa
457 comunidade. A alta soropositividade também pode ser consequência da cultura
458 migratória Guarani e da exposição adicional ao *Toxocara* sp. durante os movimentos
459 na área de tríplice fronteira do Brasil, Paraguai e Argentina. Como o tratamento de
460 solo contaminado por ovos de *Toxocara* spp. não está bem estabelecido, a prevenção
461 da contaminação do solo e as práticas de higiene continuam sendo a melhor opção
462 disponível. Dessa forma, intervenções visando saneamento ambiental, vermiculação
463 regular de cães e educação em saúde sobre toxocaríase e outras doenças zoonóticas
464 podem ser cruciais para melhorar a saúde humana, animal e ambiental (Saúde Única)
465 dessas comunidades indígenas.

466 Em conclusão, a abordagem Saúde Única aplicada no presente estudo
467 enfatizou a interconexão entre a saúde humana, animal e ambiental, destacando a
468 necessidade de estratégias abrangentes para abordar a transmissão da toxocaríase

469 e o impacto na saúde, particularmente em populações vulneráveis, como as
470 comunidades indígenas. Futuros estudos envolvendo populações indígenas devem
471 sempre considerar a etnia, sua cultura e hábitos para avaliar as vias de transmissão
472 do patógeno, desenvolver estratégias e aplicar ações eficazes para monitorar,
473 controlar e prevenir com sucesso a toxocariase e outras zoonoses relacionadas aos
474 animais de estimação.

475

476 **Agradecimentos**

477 Os autores agradecem ao Distrito Sanitário Especial Indígena (DSEI), à Secretaria
478 Especial de Saúde Indígena (SESAI) do Ministério da Saúde pelo apoio, infraestrutura
479 e assistência em saúde durante as coletas; às lideranças e povos indígenas por
480 auxiliarem nas reuniões comunitárias, na tradução das entrevistas e no
481 acompanhamento das informações. Os autores também agradecem à deputada Gleisi
482 Helena Hoffmann, que financiou parcialmente a pesquisa em saúde da comunidade
483 indígena no estado do Paraná. Os autores também agradecem à Coordenação de
484 Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida a
485 Isabella Braghin Ferreira.

486

487 **Referências**

488 [1] G. Ma, C.V. Holland, T. Wang, A. Hofmann, C.-K. Fan, R.M. Maizels, P.J.
489 Hotez, R.B. Gasser, Human toxocariasis, Lancet Infect Dis 18 (2018) e14–e24.
490 [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30331-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30331-6).

491 [2] A. Antonopoulos, A. Giannelli, E.R. Morgan, J. Charlier, Quantifying the
492 neglected: Initial estimation of the global burden and economic impact of human
493 toxocariasis, Curr Res Parasitol Vector Borne Dis 5 (2024) 100180.
494 <https://doi.org/10.1016/j.crpvbd.2024.100180>.

495 [3] A. Rostami, S.M. Riahi, C.V. Holland, A. Taghipour, M. Khalili-Fomeshi, Y.
496 Fakhri, V.F. Omrani, P.J. Hotez, R.B. Gasser, Seroprevalence estimates for
497 toxocariasis in people worldwide: A systematic review and meta-analysis, PLoS Negl
498 Trop Dis 13 (2019) e0007809. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007809>.

499 [4] J. Chen, Q. Liu, G.-H. Liu, W.-B. Zheng, S.-J. Hong, H. Sugiyama, X.-Q. Zhu,
500 H.M. Elsheikha, Toxocariasis: a silent threat with a progressive public health impact,
501 Infect Dis Poverty 7 (2018) 59. <https://doi.org/10.1186/s40249-018-0437-0>.

- 502 [5] D. Despommier, Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical
503 ecology, and molecular aspects, *Clin Microbiol Rev* 16 (2003) 265–272.
504 <https://doi.org/10.1128/CMR.16.2.265-272.2003>.
- 505 [6] C. Strube, L. Heuer, E. Janecek, *Toxocara* spp. infections in paratenic hosts,
506 *Vet Parasitol* 193 (2013) 375–389. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.033>.
- 507 [7] C. Or, J.A. David, M. Singh, H.S. Eustis, D.A. Mazzulla, S. Hypes, J.
508 Benevento, A rare case of congenitally acquired ocular toxocariasis in a five-week-
509 old infant, *Ocul Immunol Inflamm* 29 (2021) 1277–1279.
510 <https://doi.org/10.1080/09273948.2020.1866619>.
- 511 [8] R. Maffrand, M. Avila-Vázquez, D. Princich, P. Alasia, Congenital ocular
512 toxocariasis in a premature neonate, *An Pediatr (Barc)* 64 (2006) 599–600.
513 <https://doi.org/10.1157/13089931>.
- 514 [9] G. Ma, A. Rostami, T. Wang, A. Hofmann, P.J. Hotez, R.B. Gasser, Global
515 and regional seroprevalence estimates for human toxocariasis: A call for action, *Adv
516 Parasitol* 109 (2020) 275–290. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2020.01.011>.
- 517 [10] K. Mazur-Melewska, A. Mania, W. Sluzewski, M. Figlerowicz, Clinical
518 pathology of larval toxocariasis, *Adv Parasitol* 109 (2020) 153–163.
519 <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2020.01.004>.
- 520 [11] null Ritu, K.S. Madhusudhan, R. Malik, Hepatic visceral larva migrans causing
521 hepatic artery pseudo-aneurysm, *Indian Pediatr* 58 (2021) 184–186.
522 <https://doi.org/10.1007/s13312-021-2141-6>.
- 523 [12] H. Fukuya, M. Miyazaki, Y. Morita, K. Tanaka, M. Yada, A. Masumoto, K.
524 Motomura, A case of hepatic toxocariasis in a patient with hepatitis B, *Nihon
525 Shokakibyo Gakkai Zasshi* 117 (2020) 270–276.
526 <https://doi.org/10.11405/nisshoshi.117.270>.
- 527 [13] T. Lupia, E. Crisà, V. Sangiorgio, R. Bosio, G. Stroffolini, E. Staffilano, V.
528 Gregorc, S. Corcione, F.G. De Rosa, Presumptive pulmonary toxocariasis in a
529 patient affected by acute myeloid leukemia and Hodgkin lymphoma: case report and
530 review of the literature in immunocompromised hosts, *Infez Med* 32 (2024) 103–112.
531 <https://doi.org/10.53854/liim-3201-14>.
- 532 [14] K.H. Lee, T.J. Kim, K.W. Lee, Pulmonary Toxocariasis: Initial and Follow-Up
533 CT Findings in 63 Patients, *AJR Am J Roentgenol* 204 (2015) 1203–1211.
534 <https://doi.org/10.2214/AJR.14.13700>.
- 535 [15] E. Kuenzli, A. Neumayr, M. Chaney, J. Blum, Toxocariasis-associated cardiac
536 diseases--A systematic review of the literature, *Acta Trop* 154 (2016) 107–120.
537 <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.11.003>.

- 538 [16] C.M. Wygant, S.D. Cohle, Fatal visceral larva migrans from *Toxocara catis*
539 infection of the heart and liver in a child, Cardiovasc Pathol 63 (2023) 107496.
540 <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2022.107496>.
- 541 [17] J. Krásný, J. Šach, Forms of ocular larval toxocariasis in childhood. A Review,
542 *Cesk Slov Oftalmol* 79 (2023) 59–67. <https://doi.org/10.31348/2022/28>.
- 543 [18] J. Liu, S. Li, G. Deng, W. Yang, W. Chen, H. Lu, Ultrasound biomicroscopic
544 imaging in paediatric ocular toxocariasis, *Br J Ophthalmol* 101 (2017) 1514–1517.
545 <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2016-309850>.
- 546 [19] M. Biała, J. Nieleńczuk, A. Chodorowska, B. Szetela, Challenges in
547 toxocariasis diagnosis: from pericarditis, through hepatic tumor, to the detection of
548 brain aneurysms: case report, *Pathogens* 13 (2024) 254.
549 <https://doi.org/10.3390/pathogens13030254>.
- 550 [20] A. Nicoletti, Neurotoxocariasis, *Adv Parasitol* 109 (2020) 219–231.
551 <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2020.01.007>.
- 552 [21] P.J. Hotez, S. Aksoy, P.J. Brindley, S. Kamhawi, World neglected tropical
553 diseases day, *PLoS Negl Trop Dis* 14 (2020) e0007999.
554 <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007999>.
- 555 [22] F.R. Doline, J.H. Farinhas, L.M. Biondo, P.R.F. de Oliveira, N.J.L. Rodrigues,
556 K.P. Patrício, R.A. Mota, H. Langoni, C. Pettan-Brewer, R. Giuffrida, V.A. Santarém,
557 W.A.C. de Castro, A.P. Dos Santos, L.B. Kmetiuk, A.W. Biondo, *Toxoplasma gondii*
558 exposure in Brazilian indigenous populations, their dogs, environment, and
559 healthcare professionals, *One Health* 16 (2023) 100567.
560 <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2023.100567>.
- 561 [23] L.B. Kmetiuk, C. Pettan-Brewer, V.M. Morikawa, V. Negrini, W.A. Chiba de
562 Castro, P. Maiorka, A.W. Biondo, Protecting urban wildlife fauna, fighting zoonoses,
563 and preventing biophobia in Brazil, *Front. Conserv. Sci.* 6 (2025) 1554076.
564 <https://doi.org/10.3389/fcosc.2025.1554076>.
- 565 [24] F. Mendes Oliveira, R. Arcêncio, M.A. Moraes Arcoverde, I. Fronteira, Are the
566 neglected tropical diseases under control in the tri-border region between Brazil,
567 Argentina, and Paraguay?, *J Infect Dev Ctries* 16 (2022) 547–556.
568 <https://doi.org/10.3855/jidc.13613>.
- 569 [25] V.A. Santarém, A.C. do Couto, S.Z. Lescano, W.H. Roldán, R.R. Delai, R.
570 Giuffrida, L.B. Kmetiuk, A.W. Biondo, S. Dangoudoubiyam, A.P. Dos Santos,
571 Serosurvey of anti-*Toxocara canis* antibodies in people experiencing homelessness
572 and shelter workers from São Paulo, Brazil, *Parasit Vectors* 15 (2022) 373.
573 <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05499-x>.

- 574 [26] A. de A.V. Held, Perception of Health Among the Guarany Mbyá Ethny and
575 Health Care., (n.d.). <http://www.cienciasaudedeletiva.com.br/en/articles/perception-of-health-among-the-guarany-mbyaacute-ethny-and-health-care/3220?id=3220&id=3220> (accessed April 13, 2025).
- 578 [27] A.D.R. Caldas, A.A. Nobre, E. Brickley, N. Alexander, G.L. Werneck, Y.N.
579 Farias, C.T. Garcia Barreto Ferrão, F.G. Tavares, L. de N. Pantoja, M.C. da L.
580 Duarte, A.M. Cardoso, How, what, and why: housing, water & sanitation and wealth
581 patterns in a cross-sectional study of the Guarani Birth Cohort, the first Indigenous
582 birth cohort in Brazil, Lancet Reg Health Am 21 (2023) 100496.
583 <https://doi.org/10.1016/j.lana.2023.100496>.
- 584 [28] J.H.C. de Andrade, J. Rodrigues, A. Benites, C. Benites, A. Acosta, M.
585 Benites, C. Benites, I. Gomes, J.V. da Silva, E. Antunes, E. Antunes, J. Martins, D.M.
586 Timóteo, S. Franco, J.C.P. Morinico, F.R. da Silva, N. Hanazaki, Notes on current
587 Mbyá-Guarani medicinal plant exchanges in southern Brazil, J Ethnobiol Ethnomed
588 17 (2021) 38. <https://doi.org/10.1186/s13002-021-00465-w>.
- 589 [29] M. Mondardo, The struggle for the ancestral continental territory of the
590 transboundary Guarani people in South America, Estudios Fronterizos 22 (2021).
591 <https://doi.org/10.21670/ref.2113076>.
- 592 [30] G.R. Elefant, S.H. Shimizu, M.C.A. Sanchez, C.M.A. Jacob, A.W. Ferreira, A
593 serological follow-up of toxocariasis patients after chemotherapy based on the
594 detection of IgG, IgA, and IgE antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay, J
595 Clin Lab Anal 20 (2006) 164–172. <https://doi.org/10.1002/jcla.20126>.
- 596 [31] A. Romasanta, J.L. Romero, M. Arias, R. Sánchez-Andrade, C. López, J.L.
597 Suárez, P. Díaz, P. Díez-Baños, P. Morrondo, A. Paz-Silva, Diagnosis of parasitic
598 zoonoses by immunoenzymatic assays--analysis of cross-reactivity among the
599 excretory/secretory antigens of *Fasciola hepatica*, *Toxocara canis*, and *Ascaris*
600 *suum*, Immunol Invest 32 (2003) 131–142. <https://doi.org/10.1081/imm-120022974>.
- 601 [32] J. Fillaux, J.-F. Magnaval, Laboratory diagnosis of human toxocariasis, Vet
602 Parasitol 193 (2013) 327–336. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.028>.
- 603 [33] L. Glickman, P. Schantz, R. Dombroske, R. Cypess, Evaluation of
604 serodiagnostic tests for visceral larva migrans, Am J Trop Med Hyg 27 (1978) 492–
605 498. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1978.27.492>.
- 606 [34] Y.F.F.B. Merigueti, V.A. Santarém, L.M. Ramires, A. da Silveira Batista, L.V.
607 da Costa Beserra, A.L. Nuci, T.M. de Paula Esposte, Protective and risk factors
608 associated with the presence of *Toxocara* spp. eggs in dog hair, Veterinary
609 Parasitology 244 (2017) 39–43. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.07.020>.
- 610 [35] D. Otero, A.M. Alho, R. Nijssse, J. Roelfsema, P. Overgaauw, L. Madeira de
611 Carvalho, Environmental contamination with *Toxocara* spp. eggs in public parks and

- 612 playground sandpits of Greater Lisbon, Portugal, J Infect Public Health 11 (2018) 94–
613 98. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2017.05.002>.
- 614 [36] I.G. Rosa Xavier, B.C. Ramos, V.A. Santarém, Recovery threshold of
615 *Toxocara canis* eggs from soil, Vet Parasitol 167 (2010) 77–80.
616 <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.09.052>.
- 617 [37] G. Roddie, P. Stafford, C. Holland, A. Wolfe, Contamination of dog hair with
618 eggs of *Toxocara canis*, Vet Parasitol 152 (2008) 85–93.
619 <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.008>.
- 620 [38] V.A. Santarém, F.R. Doline, I.B. Ferreira, J.H. Farinhas, L.M. Biondo, R.T. de
621 Souza Filho, C. Pettan-Brewer, R. Giuffrida, S.A.Z. Lescano, A.P. Dos Santos, L.B.
622 Kmetiuk, A.W. Biondo, One health approach to toxocariasis in Brazilian indigenous
623 populations, their dogs, and soil contamination, Front Public Health 11 (2023)
624 1220001. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1220001>.
- 625 [39] Z. Wang, M. Shibata, Y.T.H. Nguyen, Y. Hayata, N. Nonaka, H. Maruyama, A.
626 Yoshida, Development of nested multiplex polymerase chain reaction (PCR) assay
627 for the detection of *Toxocara canis*, *Toxocara cati* and *Ascaris suum* contamination in
628 meat and organ meats, Parasitol Int 67 (2018) 622–626.
629 <https://doi.org/10.1016/j.parint.2018.06.006>.
- 630 [40] R: The R Project for Statistical Computing, (n.d.). <https://www.r-project.org/>
631 (accessed April 25, 2025).
- 632 [41] F. Lötsch, M.P. Grobusch, Seroprevalence of *Toxocara* spp. antibodies in
633 humans in Africa: A review, Adv Parasitol 109 (2020) 483–499.
634 <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2020.01.022>.
- 635 [42] V.A. Santarém, G.K. Panazzolo, L.B. Kmetiuk, O.J. Domingues, I.B. Ferreira,
636 R.T. de Souza Filho, J.H. Farinhas, F.R. Doline, S.A.Z. Lescano, L.M. Biondo, R.
637 Giuffrida, A.W. Biondo, G.M. Fávero, One health approach to toxocariasis in
638 quilombola communities of southern Brazil, Parasit Vectors 16 (2023) 379.
639 <https://doi.org/10.1186/s13071-023-06010-w>.
- 640 [43] P. Waindok, S. Kann, A. Aristizabal, J.C. Dib, C. Strube, *Toxocara*
641 seroprevalence and risk factor analysis in four communities of the Wiwa, an
642 indigenous tribe in Colombia, Microorganisms 9 (2021) 1768.
643 <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081768>.
- 644 [44] L.E. Prestes-Carneiro, G. Rubinsky-Elefant, A.W. Ferreira, P.R. Araujo, C.
645 Troiani, S.C. Zago, M. Kaiahara, L. Sasso, A. Iha, A. Vaz, Seroprevalence of
646 toxoplasmosis, toxocariasis and cysticercosis in a rural settlement, São Paulo State,
647 Brazil, Pathog Glob Health 107 (2013) 88–95.
648 <https://doi.org/10.1179/2047773213Y.0000000079>.

- 649 [45] A.C. Araújo, M.M. Villela, Â. Sena-Lopes, N.A. da R. Farias, L.M.J. de Faria,
650 L.F. da C. Avila, M.E.A. Berne, S. Borsuk, Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and
651 *Toxocara canis* in a human rural population of Southern Rio Grande do Sul, Rev.
652 Inst. Med. Trop. S. Paulo 60 (2018) e28. [https://doi.org/10.1590/S1678-
653 9946201860028](https://doi.org/10.1590/S1678-9946201860028).
- 654 [46] L.E. Prestes-Carneiro, V. Santarém, S.C.S. Zago, N.A. Miguel, S. de F.
655 Zambelli, R. Villas, A.J. Vaz, G. Rubinsky-Elefant, Seroepidemiology of toxocariasis
656 in a rural settlement in São Paulo state, Brazil, Ann Trop Med Parasitol 102 (2008)
657 347–356. <https://doi.org/10.1179/136485908X278801>.
- 658 [47] A.A. Adeel, Chapter Twenty-Five - Seroepidemiology of human toxocariasis in
659 North Africa, in: D.D. Bowman (Ed.), Advances in Parasitology, Academic Press,
660 2020: pp. 501–534. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2020.01.023>.
- 661 [48] A.M. Cardoso, C.E.A. Coimbra Jr., C.T.G. Barreto, G.L. Werneck, R.V.
662 Santos, Mortality among Guarani Indians in southeastern and southern Brazil, Cad.
663 Saúde Pública 27 (2011) s222–s236. [https://doi.org/10.1590/S0102-311X2011001400010](https://doi.org/10.1590/S0102-
664 311X2011001400010).
- 665 [49] V.A. Santarém, F.N.C. Leli, G. Rubinsky-Elefant, R. Giuffrida, Protective and
666 risk factors for toxocariasis in children from two different social classes of Brazil, Rev.
667 Inst. Med. Trop. S. Paulo 53 (2011) 66–72. [https://doi.org/10.1590/S0036-46652011000200002](https://doi.org/10.1590/S0036-
668 46652011000200002).
- 669 [50] M. Foroutan, A. Vafae Eslahi, S. Soltani, N. Kamyari, E. Moradi-Joo, J.F.
670 Magnaval, M. Badri, Seroprevalence and potential risk factors of toxocariasis among
671 general population in southwest Iran: Implications on the One Health Approach, J
672 Immunol Res. (2024) 4246781. <https://doi.org/10.1155/2024/4246781>.
- 673 [51] A.Y. Oviedo-Vera, I. Chis Ster, M.E. Chico, M.B. Silva, L.F. Salazar-Garcés,
674 N.M. Alcantara-Neves, P.J. Cooper, A prospective seroepidemiological study of
675 toxocariasis during early childhood in coastal Ecuador: potential for congenital
676 transmission and risk factors for infection, Parasit Vectors 14 (2021) 95.
677 <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04575-4>.
- 678 [52] L.E. Prestes-Carneiro, D.H.P. Souza, G.C. Moreno, C. Troiani, V. Santarém,
679 S.C.S. Zago, N.A. Miguel, S.B.Z. Freitas, R. Faria, L. Martini, G. Rubinsky-Elefant, A.
680 Iha, A.J. Vaz, Toxocariasis/cysticercosis seroprevalence in a long-term rural
681 settlement, São Paulo, Brazil, Parasitology 136 (2009) 681–689.
682 <https://doi.org/10.1017/S0031182009005769>.
- 683 [53] A.N. Berrett, L.D. Erickson, S.D. Gale, A. Stone, B.L. Brown, D.W. Hedges,
684 *Toxocara* seroprevalence and associated risk factors in the United States, Am J Trop
685 Med Hyg 97 (2017) 1846–1850. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0542>.

- 686 [54] T. Cabral Monica, F. Evers, B. de Souza Lima Nino, F. Pinto-Ferreira, J.W.
687 Breganó, M. Ragassi Urbano, G. Rubinsky-Elefant, R.L. Freire, I.T. Navarro, R.
688 Mitsuka-Breganó, Socioeconomic factors associated with infection by *Toxoplasma*
689 *gondii* and *Toxocara canis* in children, Transbound Emerg Dis 69 (2022) 1589–1595.
690 <https://doi.org/10.1111/tbed.14129>.
- 691 [55] S. Ebrahimi, A.T. Kareshk, M. Darvishi, N. Asadi, V. Bagheri, G. Barzegar, R.
692 Solgi, Risk factors and prevalence of toxocariasis in healthy adults in South
693 Khorasan Province, Eastern Iran, Mod Care J 19 (2022).
694 <https://doi.org/10.5812/modernc-128079>.
- 695 [56] H.B. Song, D. Lee, Y. Jin, J. Kang, S.-H. Cho, M.S. Park, J.-H. Park, W.-J.
696 Song, H.-R. Kang, S.H. Lee, S.-T. Hong, M.-H. Choi, Prevalence of toxocariasis and
697 its risk factors in patients with eosinophilia in Korea, Korean J Parasitol 58 (2020)
698 413–419. <https://doi.org/10.3347/kjp.2020.58.4.413>.
- 699 [57] A. Pouryousef, R. Abbasi, S. Mehrabi, A. Moshfe, F. Mikaeili, Z. Rezaei, D.
700 Rostamzadeh, A. Saadat, N. ArefKhah, Serosurvey of toxocariasis and its
701 association with allergic asthma in children: a case-control study in southwest Iran,
702 Parasite Immunol 47 (2025) e70005. <https://doi.org/10.1111/pim.70005>.
- 703 [58] P. de Oliveira Azevedo, S.Z. Lescano, R. Giuffrida, L.B. Kmetiuk, A.P. Dos
704 Santos, S. Dangoudoubiyam, A.W. Biondo, V.A. Santarém, Serosurvey of anti-
705 *Toxocara* antibodies and risk factors in adolescent and adult pregnant women of
706 southeastern Brazil, PLoS Negl Trop Dis 15 (2021) e0009571.
707 <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009571>.
- 708 [59] E.C. Negri, V.A. Santarém, G. Rubinsky-Elefant, R. Giuffrida, Anti-*Toxocara*
709 spp. antibodies in an adult healthy population: serosurvey and risk factors in
710 southeast Brazil, Asian Pac J Trop Biomed 3 (2013) 211–216.
711 [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60052-0](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60052-0).
- 712 [60] Risk factors for toxocariasis during incarceration: the One Health intervention
713 approach, Scientific Reports, (n.d.). <https://www.nature.com/articles/s41598-023-45484-7> (accessed April 6, 2025).
- 715 [61] E.L.G.M. Pereira, I.B. Ferreira, R.B. Victorino, S.A.Z. Lescano, R. Giuffrida,
716 L.B. Kmetiuk, A.W. Biondo, V.A. Santarém, Serosurvey of *Toxoplasma gondii* and
717 *Toxocara* spp. co-infection in pregnant women in low-income areas of Brazil, Front
718 Public Health 12 (2024) 1340434. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1340434>.
- 719 [62] E.A. Pautova, L.D. Shchuchinova, A.S. Dovgalev, The development and
720 survival of *Toxocara canis* eggs in the natural climatic conditions of gorno-altaisk,
721 Med Parazitol (Mosk) (2015) 42–44.
- 722 [63] M. Fecková, D. Antolová, G. Zalešny, M. Halánová, G. Štrkolcová, M.
723 Goldová, T. Weissová, B. Lukáč, M. Nováková, Seroepidemiology of human

- 724 toxocariasis in selected population groups in Slovakia: A cross-sectional study, J
725 Infect Public Health 13 (2020) 1107–1111. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.04.006>.
- 726 [64] M.E.G. Abadilla, V.G.V. Paller, *Toxocara canis* prevalence in soil, dog stool,
727 and human serum samples from a rural village in Los Baños, Laguna, Philippines, J
728 Parasit Dis 46 (2022) 889–895. <https://doi.org/10.1007/s12639-022-01507-0>.
- 729 [65] Human toxocariasis and direct contact with dogs - Wolfe - 2003 - Veterinary
730 Record - Wiley Online Library, (n.d.).
731 <https://bvajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1136/vr.152.14.419> (accessed April
732 6, 2025).
- 733 [66] R.R. Delai, A.R. Freitas, L.B. Kmetiuk, Y.F.F.B. Merigueti, I.B. Ferreira, S.A.Z.
734 Lescano, W.H.R. González, A.P.D. Brandão, I.R. de Barros-Filho, C. Pettan-Brewer,
735 F.B. Figueiredo, A.P. Dos Santos, C.T. Pimpão, V.A. Santarém, A.W. Biondo, One
736 Health approach on human seroprevalence of anti-*Toxocara* antibodies, *Toxocara*
737 spp. eggs in dogs and sand samples between seashore mainland and island areas of
738 southern Brazil, One Health 13 (2021) 100353.
739 <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2021.100353>.
- 740 [67] A. Corda, C. Tamponi, R. Meloni, A. Varcasia, M.L.P. Parpaglia, P. Gomez-
741 Ochoa, A. Scala, Ultrasonography for early diagnosis of *Toxocara canis* infection in
742 puppies, Parasitol Res 118 (2019) 873–880. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06239-4>.
- 744 [68] F. Kazemi, R. Arjmand, S. Fallahizadeh, M. Tavalla, Comparison of the
745 Detection of *Toxocara* spp. in the soils of public parks of Ahvaz (southwest of Iran) by
746 PCR and loop-mediated isothermal amplification (LAMP), Infect Disord Drug Targets
747 21 (2021) 375–383. <https://doi.org/10.2174/1871526520666200715100433>.
- 748 [69] H. Mizgajska-Wiktor, W. Jarosz, A comparison of soil contamination with
749 *Toxocara canis* and *Toxocara cati* eggs in rural and urban areas of Wielkopolska
750 district in 2000-2005, Wiad Parazytol 53 (2007) 219–225.
- 751 [70] M. Ozlati, A. Spotin, A. Shahbazi, M. Mahami-Oskouei, T. Hazratian, M.
752 Adibpor, E. Ahmadpour, A. Dolatkhah, P. Khoshakhlagh, Genetic variability and
753 discrimination of low doses of *Toxocara* spp. from public areas soil inferred by loop-
754 mediated isothermal amplification assay as a field-friendly molecular tool, Vet World
755 9 (2016) 1471–1477. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.1471-1477>.
- 756 [71] L. Maciag, E.R. Morgan, C. Holland, *Toxocara*: time to let cati “out of the bag”,
757 Trends Parasitol 38 (2022) 280–289. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2021.12.006>.
- 758 [72] X. Gao, H. Wang, J. Li, H. Qin, J. Xiao, Influence of land use and
759 meteorological factors on the spatial distribution of *Toxocara canis* and *Toxocara cati*
760 eggs in soil in urban areas, Veterinary Parasitology 233 (2017) 80–85.
761 <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.12.004>.

762 [73] J.L. Bonilla-Aldana, A.C. Espinosa-Nuñez, D.K. Bonilla-Aldana, A.J.
763 Rodriguez-Morales, *Toxocara cati* infection in cats (*Felis catus*): a systematic review
764 and meta-analysis, *Animals* (Basel) 14 (2024) 1022.
765 <https://doi.org/10.3390/ani14071022>.

ANEXO A – NORMAS DA REVISTA FRONTIERS IN PUBLIC HEALTH

Author guidelines - General standards

Article type

Frontiers requires authors to select the appropriate article type for their manuscript and to comply with the article type descriptions defined in the journal's 'Article types' page, which can be seen from the 'For authors' menu on every Frontiers journal page. Please pay close attention to the word count limits.

Templates

If working with Word please use our Word templates. If you wish to submit your article as LaTeX, we recommend our LaTeX templates. For LaTeX files, please ensure all relevant manuscript files are uploaded: .tex file, PDF, and .bib file (if the bibliography is not already included in the .tex file).

During the interactive review, authors are encouraged to upload versions using track changes. Editors and reviewers can only download the PDF file of the submitted manuscript.

Manuscript length

Frontiers encourages the authors to closely follow the article word count lengths given in the 'Article types' page of the journals. The manuscript length includes only the main body of the text, footnotes, and all citations within it, and excludes the abstract, section titles, figure and table captions, funding statement, acknowledgments, and references in the bibliography. Please indicate the number of words and the number of figures and tables included in your manuscript on the first page.

Language editing

Frontiers requires manuscripts submitted to meet international English language standards to be considered for publication.

For authors who would like their manuscript to receive language editing or proofreading to improve the clarity of the manuscript and help highlight their research, Frontiers recommends the language-editing services provided by the following external partners.

Note that sending your manuscript for language editing does not imply or guarantee that it will be accepted for publication by a Frontiers journal. Editorial decisions on the scientific content of a manuscript are independent of whether it has received language editing or proofreading by these partner services or other services.

Editage Frontiers is pleased to recommend the language-editing service provided by our external partner Editage to authors who believe their manuscripts would benefit from

professional editing. These services may be particularly useful for researchers for whom English is not the primary language. They can help to improve the grammar, syntax, and flow of your manuscript prior to submission. Frontiers authors will receive a 10% discount by visiting the following link: editage.com/frontiers.

The Charlesworth Group Frontiers recommends the Charlesworth Group's author services, who has a long-standing track record in language editing and proofreading. This is a third-party service for which Frontiers authors will receive a 10% discount by visiting the following link: www.cwauthors.com/frontiers.

Language style

The default language style at Frontiers is American English. If you prefer your article to be formatted in British English, please specify this on the first page of your manuscript. For any questions regarding style, Frontiers recommends authors to consult the Chicago Manual of Style.

Search engine optimization (SEO)

There are a few simple ways to maximize your article's discoverability. Follow the steps below to improve the search results of your article:

- include a few of your article's keywords in the title of the article
- do not use long article titles
- pick 5-8 keywords using a mix of generic and more specific terms on the article subject(s)
- use the maximum amount of keywords in the first two sentences of the abstract
- use some of the keywords in level 1 headings.

CrossMark policy

CrossMark is a multi-publisher initiative to provide a standard way for readers to locate the current version of a piece of content. By applying the CrossMark logo Frontiers is committed to maintaining the content it publishes and to alerting readers to changes if and when they occur. Clicking on the CrossMark logo will tell you the current status of a document and may also give you additional publication record information about the document.

Title

The title should be concise, omitting terms that are implicit and, where possible, be a statement of the main result or conclusion presented in the manuscript. Abbreviations should be avoided within the title.

Witty or creative titles are welcome, but only if relevant and within measure. Consider if a title meant to be thought-provoking might be misinterpreted as offensive or alarming. In

extreme cases, the editorial office may veto a title and propose an alternative. Authors should avoid:

- titles that are a mere question without giving the answer
- unambitious titles, for example starting with 'Towards,' 'A description of,' 'A characterization of' or 'Preliminary study on'
- vague titles, for example starting with 'Role of', 'Link between', or 'Effect of' that do not specify the role, link, or effect
- including terms that are out of place, for example the taxonomic affiliation apart from species name.

For Corrigenda, General Commentaries, and Editorials, the title of your manuscript should have the following format:

- 'Corrigendum: Title of Original Article'
- General Commentaries: 'Commentary: Title of Original Article' 'Response: Commentary: Title of Original Article'
- 'Editorial: Title of Research Topic'

The running title should be a maximum of five words in length.

Authors and affiliations

All names are listed together and separated by commas. Provide exact and correct author names as these will be indexed in official archives. Affiliations should be keyed to the author's name with superscript numbers and be listed as follows:

Laboratory, Institute, Department, Organization, City, State abbreviation (only for United States, Canada, and Australia), and Country (without detailed address information such as city zip codes or street names).

Example: Max Maximus¹ 1 Department of Excellence, International University of Science, New York, NY, United States.

Correspondence

The corresponding author(s) should be marked with an asterisk in the author list. Provide the exact contact email address of the corresponding author(s) in a separate section.
 Example: Max Maximus* maximus@iuscience.edu If any authors wish to include a change of address, list the present address(es) below the correspondence details using a unique superscript symbol keyed to the author(s) in the author list.

Equal contributions

The authors who have contributed equally should be marked with a symbol (†) in the author list of the doc/latex and pdf files of the manuscript uploaded at submission.

Please use the appropriate standard statement(s) to indicate equal contributions:

- Equal contribution: These authors contributed equally to this work
- First authorship: These authors share first authorship
- Senior authorship: These authors share senior authorship
- Last authorship: These authors share last authorship
- Equal contribution and first authorship: These authors contributed equally to this work and share first authorship
- Equal contribution and senior authorship: These authors contributed equally to this work and share senior authorship
- Equal contribution and last authorship: These authors contributed equally to this work and share last authorship

Example: Max Maximus 1†, John Smith2† and Barbara Smith1 †These authors contributed equally to this work and share first authorship

Consortium/group and collaborative authors

Consortium/group authorship should be listed in the manuscript with the other author(s).

In cases where authorship is retained by the consortium/group, the consortium/group should be listed as an author separated by a comma or 'and'. The consortium/group name will appear in the author list, in the citation, and in the copyright. If provided, the consortium/group members will be listed in a separate section at the end of the article.

For the collaborators of the consortium/group to be indexed in PubMed, they do not have to be inserted in the Frontiers submission system individually. However, in the manuscript itself, provide a section with the name of the consortium/group as the heading followed by the list of collaborators, so they can be tagged accordingly and indexed properly.

Example: John Smith, Barbara Smith and The Collaborative Working Group. In cases where work is presented by the author(s) on behalf of a consortium/group, it should be included in the author list separated with the wording 'for' or 'on behalf of.' The consortium/group will not retain authorship and will only appear in the author list.

Example: John Smith and Barbara Smith on behalf of The Collaborative Working Group.

Artificial intelligence

These guidelines cover acceptable uses of generative AI technologies such as Large Language Models (ChatGPT, Jasper) and text-to-image generators (DALL-E 2, Midjourney, Stable Diffusion) in the writing or editing of manuscripts submitted to Frontiers.

AI use by authors

Authors should not list a generative AI technology as a co-author or author of any submitted manuscript. Generative AI technologies cannot be held accountable for all aspects of a manuscript and consequently do not meet the criteria required for authorship.

If the author of a submitted manuscript has used written or visual content produced by or edited using a generative AI technology, this use must follow all Frontiers guidelines and policies. Specifically, the author is responsible for checking the factual accuracy of any content created by the generative AI technology. This includes, but is not limited to, any quotes, citations or references. Figures produced by or edited using a generative AI technology must be checked to ensure they accurately reflect the data presented in the manuscript. Authors must also check that any written or visual content produced by or edited using a generative AI technology is free from plagiarism.

If the author of a submitted manuscript has used written or visual content produced by or edited using a generative AI technology, such use must be acknowledged in the acknowledgements section of the manuscript and the methods section if applicable. This explanation must list the name, version, model, and source of the generative AI technology. We encourage authors to upload all input prompts provided to a generative AI technology and outputs received from a generative AI technology in the supplementary files for the manuscript.

Abstract

As a primary goal, the abstract should make the general significance and conceptual advance of the work clearly accessible to a broad readership. The abstract should be no longer than a single paragraph and should be structured, for example, according to the IMRAD format. For the specific structure of the abstract, authors should follow the requirements of the article type or journal to which they're submitting. Minimize the use of abbreviations and do not cite references, figures or tables. For clinical trial articles, please include the unique identifier and the URL of the publicly-accessible website on which the trial is registered.

Keywords

All article types require a minimum of five and a maximum of eight keywords.

Text

The entire document should be single-spaced and must contain page and line numbers in order to facilitate the review process. The manuscript should be written using either Word or LaTeX. See above for templates.

Nomenclature

The use of abbreviations should be kept to a minimum. Non-standard abbreviations should be avoided unless they appear at least four times, and must be defined upon first use in the main text. Consider also giving a list of non-standard abbreviations at the end, immediately before the acknowledgments.

Equations should be inserted in editable format from the equation editor.

Italicize gene symbols and use the approved gene nomenclature where it is available. For human genes, please refer to the HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC). New symbols for human genes should be submitted to the HGNC here. Common alternative gene aliases may also be reported, but should not be used alone in place of the HGNC symbol. Nomenclature committees for other species are listed here. Protein products are not italicized.

We encourage the use of Standard International Units in all manuscripts.

Chemical compounds and biomolecules should be referred to using systematic nomenclature, preferably using the recommendations by the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC).

Astronomical objects should be referred to using the nomenclature given by the International Astronomical Union (IAU) provided here.

Life Science Identifiers (LSIDs) for ZOOBANK registered names or nomenclatural acts should be listed in the manuscript before the keywords. An LSID is represented as a uniform resource name (URN) with the following format:
 urn:lsid:<Authority>:<Namespace>:<ObjectID>[:<Version>]

For more information on LSIDs please see the 'Code' section of our policies and publication ethics.

Sections

The manuscript is organized by headings and subheadings. The section headings should be those appropriate for your field and the research itself. You may insert up to 5 heading levels into your manuscript (i.e.,: 3.2.2.1.2 Heading Title).

For Original Research articles, it is recommended to organize your manuscript in the following sections or their equivalents for your field.

Introduction: Succinct, with no subheadings.

Materials and methods: This section may be divided by subheadings and should contain sufficient detail so that when read in conjunction with cited references, all procedures can be repeated. For experiments reporting results on animal or human subject research, an ethics approval statement should be included in this section (for further information, see the 'Bioethics' section of our policies and publication ethics.)

Results: This section may be divided by subheadings. Footnotes should not be used and must be transferred to the main text.

Discussion: This section may be divided by subheadings. Discussions should cover the key findings of the study: discuss any prior research related to the subject to place the novelty of the discovery in the appropriate context, discuss the potential shortcomings and limitations on their interpretations, discuss their integration into the current understanding of the problem and how this advances the current views, speculate on the future direction of the research, and freely postulate theories that could be tested in the future.

For further information, please check the descriptions defined in the journal's 'Article types' page, in the 'For authors' menu on every journal page.

Acknowledgments

This is a short text to acknowledge the contributions of specific colleagues, institutions, or agencies that aided the efforts of the authors. Should the content of the manuscript have previously appeared online, such as in a thesis or preprint, this should be mentioned here, in addition to listing the source within the reference list.

Scope statement

When you submit your manuscript, you will be required to summarize in 200 words your manuscript's scope and its relevance to the journal and/or specialty section you're submitting to. The aim is to convey to editors and reviewers how the contents of your manuscript fit within the selected journal's scope. This statement will not be published with your article if it is accepted for publication. The information will be used during the initial validation and review processes to assess whether the manuscript is a suitable fit for the chosen journal and specialty. We encourage you to consider carefully where to submit your manuscript, as submissions to an unsuitable journal or specialty will result in delays and increase the likelihood of manuscript rejection. If you are submitting to a Research Topic, please also clarify how your submission is suited to the specific topic.

Figure and table guidelines

CC-BY license

All figures, tables, and images will be published under a Creative Commons CC-BY license, and permission must be obtained for use of copyrighted material from other sources (including re-published/adapted/modified/partial figures and images from the internet). It is the responsibility of the authors to acquire the licenses, follow any citation instructions requested by third-party rights holders, and cover any supplementary charges.

For additional information, please see the 'Image manipulation' section of our policies and publication ethics.

Figure requirements and style guidelines

Frontiers requires figures to be submitted individually, in the same order as they are referred to in the manuscript; the figures will then be automatically embedded at the end of the submitted manuscript. Kindly ensure that each figure is mentioned in the text and in numerical order.

For figures with more than one panel, panels should be clearly indicated using labels (A), (B), (C), (D), etc. However, do not embed the part labels over any part of the image, these labels will be replaced during typesetting according to Frontiers' journal style. For graphs, there must be a self-explanatory label (including units) along each axis.

For LaTeX files, figures should be included in the provided PDF. In case of acceptance, our production office might require high-resolution files of the figures included in the manuscript in EPS, JPEG or TIF/TIFF format.

To upload more than one figure at a time, save the figures (labeled in order of appearance in the manuscript) in a zip file and upload them as 'Supplementary Material Presentation.'

Please note that figures not in accordance with the guidelines will cause substantial delay during the production process.

Captions

Captions should be preceded by the appropriate label, for example 'Figure 1.' Figure captions should be placed at the end of the manuscript. Figure panels are referred to by bold capital letters in brackets: (A), (B), (C), (D), etc.

Image size and resolution requirements

Figures should be prepared with the PDF layout in mind. Individual figures should not be longer than one page and with a width that corresponds to 1 column (85 mm) or 2 columns (180 mm).

All images must have a resolution of 300 dpi at final size. Check the resolution of your figure by enlarging it to 150%. If the image appears blurry, jagged, or has a stair-stepped effect, the resolution is too low.

The text should be legible and of high quality. The smallest visible text should be no less than eight points in height when viewed at actual size.

Solid lines should not be broken up. Any lines in the graphic should be no smaller than two points wide.

Please note that saving a figure directly as an image file (JPEG, TIF) can greatly affect the resolution of your image. To avoid this, one option is to export the file as PDF, then convert into TIFF or EPS using a graphics software.

Format and color image mode

The following formats are accepted: TIF/TIFF (.tif/.tiff), JPEG (.jpg), and EPS (.eps) (upon acceptance). Images must be submitted in the color mode RGB.

Chemical structures

Chemical structures should be prepared using ChemDraw or a similar program. If working with ChemDraw please use our ChemDraw template. If working with another program please follow the guidelines below.

Drawing settings: chain angle, 120° bond spacing, 18% width; fixed length, 14.4 pt; bold width, 2.0 pt; line width, 0.6 pt; margin width, 1.6 pt; hash spacing, 2.5 pt. Scale 100%
Atom Label settings: font, Arial; size, 8 pt

Assign all chemical compounds a bold, Arabic numeral in the order in which the compounds are presented in the manuscript text.

Table requirements and style guidelines

Tables should be inserted at the end of the manuscript in an editable format. If you use a word processor, build your table in Word. If you use a LaTeX processor, build your table in LaTeX. An empty line should be left before and after the table.

Table captions must be placed immediately before the table. Captions should be preceded by the appropriate label, for example 'Table 1.' Please use only a single paragraph for the caption.

Kindly ensure that each table is mentioned in the text and in numerical order.

Please note that large tables covering several pages cannot be included in the final PDF for formatting reasons. These tables will be published as supplementary material.

Tables which are not according to the above guidelines will cause substantial delay during the production process.

Accessibility

Frontiers encourages authors to make the figures and visual elements of their articles accessible for the visually impaired. An effective use of color can help people with low visual acuity, or color blindness, understand all the content of an article.

These guidelines are easy to implement and are in accordance with the W3C Web Content Accessibility Guidelines (WCAG 2.1), the standard for web accessibility best practices.

Ensure sufficient contrast between text and its background. People who have low visual acuity or color blindness could find it difficult to read text with low contrast background color. Try using colors that provide maximum contrast.

WC3 recommends the following contrast ratio levels:

- Level AA, contrast ratio of at least 4.5:1
- Level AAA, contrast ratio of at least 7:1

You can verify the contrast ratio of your palette with these online ratio checkers:

- WebAIM
- Color Safe

Avoid using red or green indicators: More than 99% of color-blind people have a red-green color vision deficiency. Avoid using only color to communicate information: Elements with complex information like charts and graphs can be hard to read when only color is used to distinguish the data. Try to use other visual aspects to communicate information, such as shape, labels, and size. Incorporating patterns into the shape fills also make differences clearer; for an example please see below:

Supplementary material

Data that are not of primary importance to the text, or which cannot be included in the article because they are too large or the current format does not permit it (such as videos, raw data traces, PowerPoint presentations, etc.), can be uploaded as supplementary material during the submission procedure and will be displayed along with the published article. All supplementary files are deposited to Figshare for permanent storage and receive a DOI.

Supplementary material is not typeset, so please ensure that all information is clearly presented without tracked changes/highlighted text/line numbers, and the appropriate caption is included in the file. To avoid discrepancies between the published article and the supplementary material, please do not add the title, author list, affiliations or correspondence in the supplementary files.

The supplementary material can be uploaded as: data sheet (Word, Excel, CSV, CDX, FASTA, PDF or Zip files); presentation (PowerPoint, PDF or Zip files); image (CDX, EPS, JPEG, PDF, PNG or TIF/TIFF); table (Word, Excel, CSV or PDF); audio (MP3, WAV or WMA); video (AVI, DIVX, FLV, MOV, MP4, MPEG, MPG or WMV).

Technical requirements for supplementary images: 300 DPIs; RGB color mode. For supplementary material templates (LaTeX and Word), see our supplementary material templates.

References

Frontiers' journals use one of two reference styles, either Harvard (author-date) or Vancouver (numbered). Please check our help center to find the correct style for the journal to which you are submitting.

All citations in the text, figures or tables must be in the reference list and vice-versa

The names of the first six authors followed by et al. and the DOI (when available) should be provided

Given names of authors should be abbreviated to initials (e.g., Smith, J., Lewis, C.S., etc.)

The reference list should only include articles that are published or accepted

Unpublished data, submitted manuscripts, or personal communications should be cited within the text only, for article types that allow such inclusions.

For accepted but unpublished works use 'in press' instead of page numbers

Data sets that have been deposited to an online repository should be included in the reference list. Include the version and unique identifier when available

Personal communications should be documented by a letter of permission

Website URLs should be included as footnotes.

Any inclusion of verbatim text must be contained in quotation marks and clearly reference the original source.

Preprints can be cited as long as a DOI or archive URL is available, and the citation clearly mentions that the contribution is a preprint. If a peer-reviewed journal publication for the same preprint exists, the official journal publication is the preferred source. See the preprints section for each reference style below for more information.

ANEXO B – NORMAS DA REVISTA ONE HEALTH

Writing and formatting

File format

We ask you to provide editable source files for your entire submission (including figures, tables and text graphics). Some guidelines:

Save files in an editable format, using the extension .doc/.docx for Word files and .tex for LaTeX files. A PDF is not an acceptable source file.

Lay out text in a single-column format.

Remove any strikethrough and underlined text from your manuscript, unless it has scientific significance related to your article.

Use spell-check and grammar-check functions to avoid errors.

We advise you to read our Step-by-step guide to publishing with Elsevier.

Title page

You are required to include the following details in the title page information:

Article title. Article titles should be concise and informative. Please avoid abbreviations and formulae, where possible, unless they are established and widely understood, e.g., DNA).

Author names. Provide the given name(s) and family name(s) of each author. The order of authors should match the order in the submission system. Carefully check that all names are accurately spelled. If needed, you can add your name between parentheses in your own script after the English transliteration.

Affiliations. Add affiliation addresses, referring to where the work was carried out, below the author names. Indicate affiliations using a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the corresponding address. Ensure that you provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the email address of each author.

Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence for your article at all stages of the refereeing and publication process and also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about your results, data, methodology and materials. It is important that the email address and contact details of your corresponding author are kept up to date during the submission and publication process.

Present/permanent address. If an author has moved since the work described in your article was carried out, or the author was visiting during that time, a "present address" (or "permanent address") can be indicated by a footnote to the author's name. The address where the author carried out the work must be retained as their main affiliation address. Use superscript Arabic numerals for such footnotes.

Abstract

You are required to provide a concise and factual abstract which does not exceed 250 words. The abstract should briefly state the purpose of your research, principal results and major conclusions. Some guidelines:

Abstracts must be able to stand alone as abstracts are often presented separately from the article.

Avoid references. If any are essential to include, ensure that you cite the author(s) and year(s).

Avoid non-standard or uncommon abbreviations. If any are essential to include, ensure they are defined within your abstract at first mention.

Keywords

You are required to provide 1 to 7 keywords for indexing purposes. Keywords should be written in English. Please try to avoid keywords consisting of multiple words (using "and" or "of").

We recommend that you only use abbreviations in keywords if they are firmly established in the field.

Highlights

You are encouraged to provide article highlights at submission.

Highlights are a short collection of bullet points that should capture the novel results of your research as well as any new methods used during your study. Highlights will help increase the discoverability of your article via search engines. Some guidelines:

Submit highlights as a separate editable file in the online submission system with the word "highlights" included in the file name.

Highlights should consist of 3 to 5 bullet points, each a maximum of 85 characters, including spaces.

We encourage you to view example article highlights and read about the benefits of their inclusion.

Graphical abstract

You are encouraged to provide a graphical abstract at submission.

The graphical abstract should summarize the contents of your article in a concise, pictorial form which is designed to capture the attention of a wide readership. A graphical abstract will help draw more attention to your online article and support readers in digesting your research. Some guidelines:

Submit your graphical abstract as a separate file in the online submission system.

Ensure the image is a minimum of 531 x 1328 pixels (h x w) or proportionally more and is readable at a size of 5 x 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi.

Our preferred file types for graphical abstracts are TIFF, EPS, PDF or MS Office files.

We encourage you to view example graphical abstracts and read about the benefits of including them.

Units, classifications codes and nomenclature

This journal requires you to use the international system of units (SI) which follows internationally accepted rules and conventions. If other units are mentioned within your article, you should provide the equivalent unit in SI.

Math formulae

Submit math equations as editable text, not as images.

Present simple formulae in line with normal text, where possible.

Use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms such as X/Y.

Present variables in italics.

Denote powers of e by exp.

Display equations separately from your text, numbering them consecutively in the order they are referred to within your text.

Tables

Tables must be submitted as editable text, not as images.

Some guidelines: Place tables next to the relevant text or on a separate page(s) at the end of your article; Cite all tables in the manuscript text; Number tables consecutively according to their appearance in the text; Please provide captions along with the tables; Place any table notes below the table body; Avoid vertical rules and shading within table cells; We recommend that you use tables sparingly, ensuring that any data presented in tables is not duplicating results described elsewhere in the article.

Figures, images and artwork

Figures, images, artwork, diagrams and other graphical media must be supplied as separate files along with the manuscript. We recommend that you read our detailed artwork and media instructions. Some excerpts:

When submitting artwork: Cite all images in the manuscript text; Number images according to the sequence they appear within your article; Submit each image as a separate file using a logical naming convention for your files (for example, Figure_1, Figure_2 etc);

Please provide captions for all figures, images, and artwork.

Text graphics may be embedded in the text at the appropriate position. If you are working with LaTeX, text graphics may also be embedded in the file.

Artwork formats

When your artwork is finalized, "save as" or convert your electronic artwork to the formats listed below taking into account the given resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations:

Vector drawings: Save as EPS or PDF files embedding the font or saving the text as "graphics."

Color or grayscale photographs (halftones): Save as TIFF, JPG or PNG files using a minimum of 300 dpi (for single column: min. 1063 pixels, full page width: 2244 pixels).

Bitmapped line drawings: Save as TIFF, JPG or PNG files using a minimum of 1000 dpi (for single column: min. 3543 pixels, full page width: 7480 pixels).

Combinations bitmapped line/halftones (color or grayscale): Save as TIFF, JPG or PNG files using a minimum of 500 dpi (for single column: min. 1772 pixels, full page width: 3740 pixels).

Please do not submit files that are too low in resolution (for example, files optimized for screen use such as GIF, BMP, PICT or WPG files); disproportionately large images compared to font size, as text may become unreadable.

Figure captions

All images must have a caption. A caption should consist of a brief title (not displayed on the figure itself) and a description of the image. We advise you to keep the amount of text in any image to a minimum, though any symbols and abbreviations used should be explained. Provide captions in a separate file.

Color artwork

If you submit usable color figures with your accepted article, we will ensure that they appear in color online.

Please ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision. Learn more about color and web accessibility.

Generative AI and Figures, images and artwork

Please read our policy on the use of generative AI and AI-assisted tools in figures, images and artwork, which can be found in Elsevier's GenAI Policies for Journals. This policy states:

We do not permit the use of Generative AI or AI-assisted tools to create or alter images in submitted manuscripts.

The only exception is if the use of AI or AI-assisted tools is part of the research design or methods (for example, in the field of biomedical imaging). If this is the case, such use must be described in a reproducible manner in the methods section, including the name of the model or tool, version and extension numbers, and manufacturer.

The use of generative AI or AI-assisted tools in the production of artwork such as for graphical abstracts is not permitted. The use of generative AI in the production of cover art may in some cases be allowed, if the author obtains prior permission from the journal editor and publisher, can demonstrate that all necessary rights have been cleared for the use of the relevant material, and ensures that there is correct content attribution.

Supplementary material

We encourage the use of supplementary materials such as applications, images and sound clips to enhance research.

Some guidelines: Supplementary material should be accurate and relevant to the research; Cite all supplementary files in the manuscript text.

Submit supplementary materials at the same time as your article. Be aware that all supplementary materials provided will appear online in the exact same file type as received. These files will not be formatted or typeset by the production team. Include a concise, descriptive caption for each supplementary file describing its content.

Provide updated files if at any stage of the publication process you wish to make changes to submitted supplementary materials.

Do not make annotations or corrections to a previous version of a supplementary file. Switch off the option to track changes in Microsoft Office files. If tracked changes are left on, they will appear in your published version.

Video

This journal accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. We encourage you to include links to video or animation files within articles. Some guidelines:

When including video or animation file links within your article, refer to the video or animation content by adding a note in your text where the file should be placed.

Clearly label files ensuring the given file name is directly related to the file content.

Provide files in one of our recommended file formats. Files should be within our preferred maximum file size of 150 MB per file, 1 GB in total.

Provide "stills" for each of your files. These will be used as standard icons to personalize the link to your video data. You can choose any frame from your video or animation or make a separate image.

Provide text (for both the electronic and the print version) to be placed in the portions of your article that refer to the video content. This is essential text, as video and animation files cannot be embedded in the print version of the journal.

We publish all video and animation files supplied in the electronic version of your article.

For more detailed instructions, we recommend that you read our guidelines on submitting video content to be included in the body of an article.

Research data

We are committed to supporting the storage of, access to and discovery of research data, and our research data policy sets out the principles guiding how we work with the research community to support a more efficient and transparent research process.

Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings, which may also include software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Please read our guidelines on sharing research data for more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials.

For this journal, the following instructions from our research data guidelines apply.

Option C: Research data deposit, citation and linking

You are required to: Deposit your research data in a relevant data repository; Cite and link to this dataset in your article; If this is not possible, make a statement explaining why research data cannot be shared.

Data statement

To foster transparency, you are encouraged to state the availability of any data at submission. Ensuring data is available may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you can state the reason why (e.g., your research data includes sensitive or confidential information such as patient data) during the submission process. This statement will appear with your published article on ScienceDirect. Read more about the importance and benefits of providing a data statement.

Data linking

Linking to the data underlying your work increases your exposure and may lead to new collaborations. It also provides readers with a better understanding of the described research.

If your research data has been made available in a data repository there are a number of ways your article can be linked directly to the dataset:

Provide a link to your dataset when prompted during the online submission process.

For some data repositories, a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

You can also link relevant data or entities within the text of your article through the use of identifiers. Use the following format: Database: 12345 (e.g. TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). Learn more about linking research data and research articles in ScienceDirect.

Research Elements

This journal enables the publication of research objects (e.g. data, methods, protocols, software and hardware) related to original research in Elsevier's Research Elements journals.

Research Elements are peer-reviewed, open access journals which make research objects findable, accessible and reusable. By providing detailed descriptions of objects and their application with links to the original research article, your research objects can be placed into context within your article.

You will be alerted during submission to the opportunity to submit a manuscript to one of the Research Elements journals. Your Research Elements article can be prepared by you, or by one of your collaborators.

Article structure - Article sections

Divide your manuscript into clearly defined sections covering all essential elements using headings.

Glossary: Please provide definitions of field-specific terms used in your article, in a separate list.

Footnotes: We advise you to use footnotes sparingly. If you include footnotes in your article, ensure that they are numbered consecutively.

You may use system features that automatically build footnotes into text. Alternatively, you can indicate the position of footnotes within the text and present them in a separate section at the end of your article.

Acknowledgements

Include any individuals who provided you with help during your research, such as help with language, writing or proof reading, in the acknowledgements section. Acknowledgements should be placed in a separate section which appears directly before the reference list. Do not include acknowledgements on your title page, as a footnote to your title, or anywhere else in your article other than in the separate acknowledgements section.

Author contributions: CRediT

Corresponding authors are required to acknowledge co-author contributions using CRediT (Contributor Roles Taxonomy) roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Writing – original draft; Writing – review and editing. Not all CRediT roles will apply to every manuscript and some authors may contribute through multiple roles. We advise you to read more about CRediT and view an example of a CRediT author statement.

Funding sources

Authors must disclose any funding sources who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article. The role of sponsors, if any, should be declared in relation to the study design, collection, analysis and interpretation of data, writing of the report and decision to submit the article for publication. If funding sources had no such involvement this should be stated in your submission. List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants, scholarships and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Appendices

We ask you to use the following format for appendices: Identify individual appendices within your article using the format: A, B, etc. Give separate numbering to formulae and equations within appendices using formats such as Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc. and in subsequent appendices, Eq. (B.1), Eq. (B. 2) etc. In a similar way, give separate numbering to tables and figures using formats such as Table A.1; Fig. A.1, etc.

References

References within text

Any references cited within your article should also be present in your reference list and vice versa. Some guidelines:

- References cited in your abstract must be given in full.
- We recommend that you do not include unpublished results and personal communications in your reference list, though you may mention them in the text of your article.
- Any unpublished results and personal communications included in your reference list must follow the standard reference style of the journal. In substitution of the publication date add "unpublished results" or "personal communication."
- References cited as "in press" imply that the item has been accepted for publication.
- Linking to cited sources will increase the discoverability of your research.

Before submission, check that all data provided in your reference list are correct, including any references which have been copied. Providing correct reference data allows us to link to abstracting and indexing services such as Scopus, Crossref and PubMed. Any incorrect surnames, journal or book titles, publication years or pagination within your references may prevent link creation.

We encourage the use of Digital Object Identifiers (DOIs) as reference links as they provide a permanent link to the electronic article referenced.

Reference style

Indicate references by adding a number within square brackets in the text. You can refer to author names within your text, but you must always give the reference number, e.g., "as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result".

Number references in the order they appear in your article.

Abbreviate journal names according to the List of Title Word Abbreviations (LTWA).

ANEXO C – PUBLICAÇÃO DO ARTIGO CIENTÍFICO 1 NA REVISTA FRONTIERS IN PUBLIC HEALTH

 | Frontiers in Public Health

TYPE Original Research
PUBLISHED 07 September 2023
DOI 10.3389/fpubh.2023.1220001



OPEN ACCESS

EDITED BY

Kokouvi Kassegne,
Shanghai Jiao Tong University, China

REVIEWED BY

Héctor Gabriel Avila,
National Scientific and Technical Research Council (CONICET), Argentina
Teresa Letra Mateus,
Escola Superior Agrária,
Instituto Politécnico de Viana do Castelo,
Portugal
Mohammad Zibaei,
Alborz University of Medical Sciences, Iran
Sukwan Handali,
Centers for Disease Control and Prevention (CDC), United States
Fabrizio Bruschi,
University of Pisa, Italy

*CORRESPONDENCE

Alexander Welker Biondo
abiondo@ufpr.br

RECEIVED 07 June 2023

ACCEPTED 25 August 2023

PUBLISHED 07 September 2023

One health approach to toxocariasis in Brazilian indigenous populations, their dogs, and soil contamination

Vamilton Alvares Santarém¹, Fernando Rodrigo Doline²,
Isabella Braghin Ferreira¹, João Henrique Farinhias²,
Leandro Meneguelli Biondo³, Roberto Teixeira de Souza Filho¹,
Christina Pettan-Brewer⁴, Rogério Giuffrida²,
Susana Angélica Zevallos Lescano⁵, Andrea Pires dos Santos^{6*},
Louise Bach Kmetiuk⁶ and Alexander Welker Biondo^{2,6*}

¹Graduate College in Animal Sciences, University of Western São Paulo (UNOESTE), Presidente Prudente, São Paulo, Brazil, ²Graduate College of Cell and Molecular Biology, Federal University of Paraná (UFPR), Curitiba, Paraná, Brazil, ³National Institute of the Atlantic Forest (INMA), Brazilian Ministry of Science, Technology, and Innovation, Santa Teresa, Espírito Santo, Brazil, ⁴Department of Comparative Medicine, School of Medicine, University of Washington, Seattle, WA, United States, ⁵Laboratory of Medical Investigation, Institute of Tropical Medicine of São Paulo, University of São Paulo, São Paulo, Brazil,

⁶Department of Comparative Pathobiology, Purdue University, West Lafayette, IN, United States

ANEXO D – PUBLICAÇÃO DO ARTIGO CIENTÍFICO 2 NA REVISTA ONE HEALTH

Journal Pre-proof

High toxocariasis seroprevalence in a tri-border indigenous community (Brazil, Paraguay and Argentina): A One Health perspective



Isabella Braghin Ferreira, Roberto Teixeira de Souza Filho, Susana Angélica Zevallos Lescano, Rogério Giuffrida, Daniele Rodrigues, Suelen Teixeira de Faria Resende, Fabiano Borges Figueiredo, Louise Bach Kmetiuk, Andrea Pires dos Santos, Alexander Welker Biondo, Vamilton Alvares Santarém

PII: S2352-7714(25)00142-9

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2025.101106>

Reference: ONEHLT 101106

To appear in: *One Health*

Received date: 25 April 2025

Revised date: 8 June 2025

Accepted date: 9 June 2025

Please cite this article as: I.B. Ferreira, R.T. de Souza Filho, S.A.Z. Lescano, et al., High toxocariasis seroprevalence in a tri-border indigenous community (Brazil, Paraguay and Argentina): A One Health perspective, *One Health* (2024), <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2025.101106>