



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM FISIOPATOLOGIA E SAÚDE ANIMAL**

ISABELLA BRAGHIN FERREIRA

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

Presidente Prudente - SP
2025



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM FISIOPATOLOGIA E SAÚDE ANIMAL**

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
F383t

Ferreira, Isabella Braghin.

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.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "TOXOCARIASE 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)

rodrigossilva@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: 15505fd85f73c564ee62e7d58f4cb95d42ad32a1686f1f64b1b6d5502bfc85f

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

ARTIGO CIENTÍFICO 1¹

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

Resumo

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

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

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

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

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

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

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

1 Introdução

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

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

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

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

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

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

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

2 Materiais e Métodos

2.1 Aspectos éticos

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

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

2.2 Desenho do estudo

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

2.3 Área de estudo

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

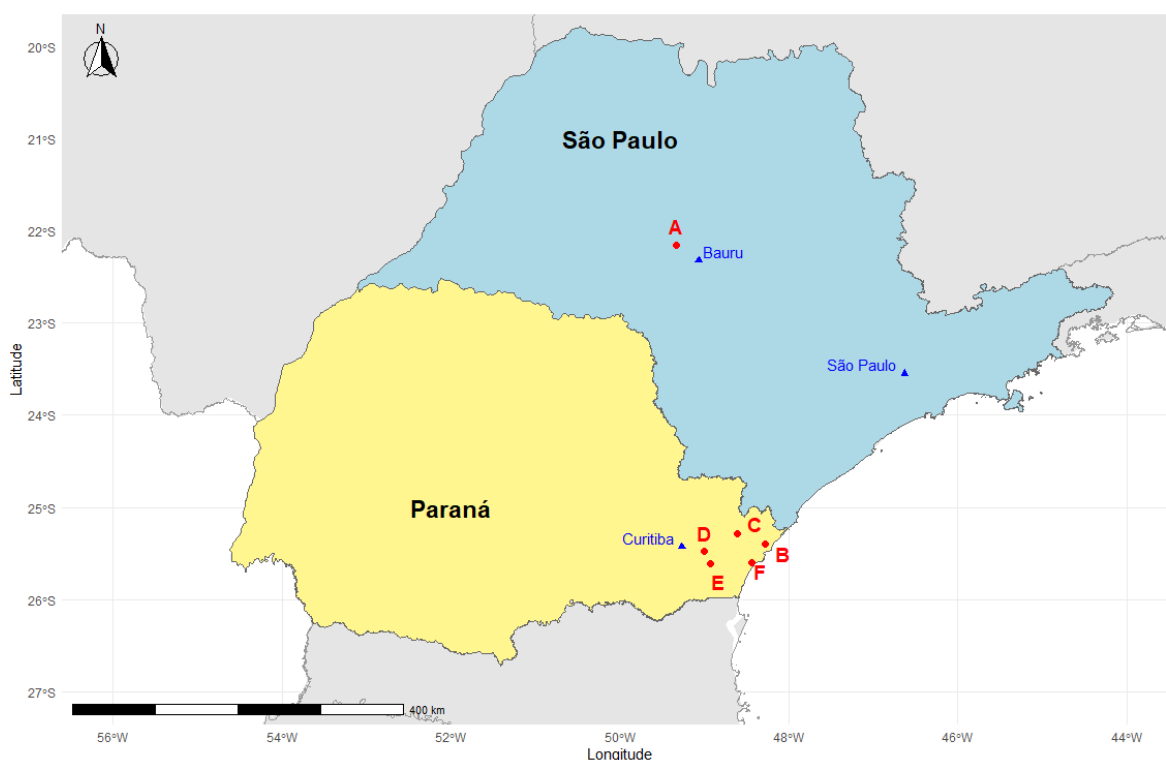


Figura 1. Localização das aldeias Kopenoty, Tereguá, Ekeruá e Nimuendajú no município de Avaí (A) no estado de São Paulo; e das aldeias Tekoa Pindoty (B), Kuaray Haxa (C), Araça'í (D), Tupã Nhe'e Kretã (E) e Guaviraty (F) no estado do Paraná.

2.4 Características da população

2.4.1 Comunidades indígenas

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

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

2.4.2 Profissionais da saúde

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

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

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

2.5 Coleta das amostras

2.5.1 Amostras de sangue humano

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

2.5.2 Amostras de fezes e pelo de cães

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

2.5.3 Amostras de solo

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

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

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

2.6 Sorologia de humanos

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

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

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

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

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

2.6.3 ELISA indireto

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.10 Coleta de informações epidemiológicas

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

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

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

2.11 Análise estatística

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

3 Resultados

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

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

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

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

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

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

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

Variáveis			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		
Letrados	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)			

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

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

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

	Resultado do ELISA		Análise Univariada		Análise Multivariada	
	Positivo (%)	Negativo (%)	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
Variáveis	46 (31,3)	101 (68,1)				
Gênero				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)			

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

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

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

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

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

Amostras: positivas /total (%)		
Comunidades do Paraná	Fezes	Pelo
Araça'í	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)

N.A.: não amostrado.

3.3 Ovos de *Toxocara* spp. no solo

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

Tabela 5. Ovos de *Toxocara* spp. recuperados de amostras de solo coletadas em comunidades indígenas dos estados do Paraná (região Sul) e São Paulo (região Sudeste), 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
Araça'í	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

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

3.4 Detecção Molecular (PCR)

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

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

4 Discussão

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

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

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

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

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

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

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

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

A soropositividade não foi influenciada pela idade, corroborando os resultados de populações indígenas no México (50). No entanto, esse achado diferiu daquele em comunidades indígenas colombianas, onde uma prevalência maior foi observada em adultos do que em adolescentes (25). Por outro lado, em comunidades rurais da Amazônia brasileira, a idade acima de 14 anos foi considerada um fator de proteção (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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Agradecimentos

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

Referências

1. Brasil. Ministério dos Povos Indígenas. IBGE divulga novos dados do Censo Indígena de 2022. Português (Brasil). Available at: <https://www.gov.br/povosindigenas/pt-br/assuntos/noticias/2024/10/ibge-divulga-novos-dados-do-censo-indigena-de-2022> .(Accessed August 22, 2025).
2. Riley T, Anderson NE, Lovett R, Meredith A, Cumming B, Thandrayen J. One health in indigenous communities: a critical review of the evidence. *Int J Environ Res Public Health*. (2021) 18:1–12. doi: 10.3390/ijerph182111303
3. Bowman DD. *Georgis' Parasitology for veterinarians*. Rio de Janeiro: Elsevier (2014). 498 p.
4. Azam D, Ukpai OM, Said A, Abd-Allah GA, Morgan ER. Temperature and the development and survival of infective *Toxocara canis* larvae. *Parasitol Res*. (2012) 110:649–56. doi: 10.1007/s00436-011-2536-8
5. Fan C-K. Pathogenesis of cerebral toxocariasis and neurodegenerative diseases. *Adv Parasitol*. (2020) 109:233–59. doi: 10.1016/bs.apar.2020.01.008
6. Bowman DD. History of *Toxocara* and the associated larva migrans. *Adv Parasitol*. (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, Kiszewski 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-](https://silo.tips/download/universidade-federal-de-santa-catarina-centro-de-filosofia-e-ciencias-humanas-cu-13)
737 [e-ciencias-humanas-cu-13](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-](https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sesai/estrutura/distrito-sanitario-especialindigena-dsei)
740 [especialindigena-dsei](https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sesai/estrutura/distrito-sanitario-especialindigena-dsei) (Accessed February 22, 2023).
- 741 34. Otero D, Alho AM, Nijse 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

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

- 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 *Parazitologiya*. (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. Maciag 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

ARTIGO CIENTÍFICO 2 ²

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

Resumo

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

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

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

1 Introdução

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

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

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

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

2 Materiais e Métodos

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).

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,

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

2.3 Área do estudo

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

2.4 Características da população

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

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

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

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



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

2.4 Amostragens e testes

2.4.1 Humanos

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

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

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

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

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

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

2.4.2 Cães

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

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

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

2.4.3 Solo

2.4.3.1 Amostragens e processamento

Amostras de solo foram coletadas aleatoriamente em áreas comuns (escola, parquinho, casa de reza, posto de saúde, trilha e campos de jogos) e em áreas peridomiciliares da comunidade indígena. O número de amostras coletadas em cada local foi determinado pelas características da área circundante, evitando áreas com 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'-AATTGGGCCGCCCATCATAC-3') e *T. cati* (Forward: 5'-

GTAAGATCGTGGCACGCGTACGTA-3'; Reverse: 5'-
TCTTTGATGTCAAGACTTCACGGC-3').

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

2.6 Análise estatística

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

3 Resultados

3.1 Humanos

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

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

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

3.2 Cães

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

3.3 Solo

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

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

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

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

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

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

	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Análise univariada	
	246 (95,3)	12 (4,7)	OR (IC 95%)	p
Variáveis				
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/malp passada				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)	

Tabela 2. Ovos de *Toxocara* spp. recuperados de amostras de solo coletadas em áreas comuns e domiciliares em uma comunidade indígena de uma área de tríplice fronteira no sul 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	

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

4 Discussão

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Agradecimentos

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

Referências

- [1] G. Ma, C.V. Holland, T. Wang, A. Hofmann, C.-K. Fan, R.M. Maizels, P.J. Hotez, R.B. Gasser, Human toxocariasis, *Lancet Infect Dis* 18 (2018) e14–e24. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30331-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30331-6).
- [2] A. Antonopoulos, A. Giannelli, E.R. Morgan, J. Charlier, Quantifying the neglected: Initial estimation of the global burden and economic impact of human toxocariasis, *Curr Res Parasitol Vector Borne Dis* 5 (2024) 100180. <https://doi.org/10.1016/j.crpvbd.2024.100180>.
- [3] A. Rostami, S.M. Riahi, C.V. Holland, A. Taghipour, M. Khalili-Fomeshi, Y. Fakhri, V.F. Omrani, P.J. Hotez, R.B. Gasser, Seroprevalence estimates for toxocariasis in people worldwide: A systematic review and meta-analysis, *PLoS Negl Trop Dis* 13 (2019) e0007809. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007809>.
- [4] J. Chen, Q. Liu, G.-H. Liu, W.-B. Zheng, S.-J. Hong, H. Sugiyama, X.-Q. Zhu, H.M. Elsheikha, Toxocariasis: a silent threat with a progressive public health impact, *Infect Dis Poverty* 7 (2018) 59. <https://doi.org/10.1186/s40249-018-0437-0>.

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

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

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

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

- [54] T. Cabral Monica, F. Evers, B. de Souza Lima Nino, F. Pinto-Ferreira, J.W. Breganó, M. Ragassi Urbano, G. Rubinsky-Elefant, R.L. Freire, I.T. Navarro, R. Mitsuka-Breganó, Socioeconomic factors associated with infection by *Toxoplasma gondii* and *Toxocara canis* in children, *Transbound Emerg Dis* 69 (2022) 1589–1595. <https://doi.org/10.1111/tbed.14129>.
- [55] S. Ebrahimi, A.T. Kareshk, M. Darvishi, N. Asadi, V. Bagheri, G. Barzegar, R. Solgi, Risk factors and prevalence of toxocariasis in healthy adults in South Khorasan Province, Eastern Iran, *Mod Care J* 19 (2022). <https://doi.org/10.5812/modernc-128079>.
- [56] H.B. Song, D. Lee, Y. Jin, J. Kang, S.-H. Cho, M.S. Park, J.-H. Park, W.-J. Song, H.-R. Kang, S.H. Lee, S.-T. Hong, M.-H. Choi, Prevalence of toxocariasis and its risk factors in patients with eosinophilia in Korea, *Korean J Parasitol* 58 (2020) 413–419. <https://doi.org/10.3347/kjp.2020.58.4.413>.
- [57] A. Pouryousef, R. Abbasi, S. Mehrabi, A. Moshfe, F. Mikaeili, Z. Rezaei, D. Rostamzadeh, A. Saadat, N. ArefKhah, Serosurvey of toxocariasis and its association with allergic asthma in children: a case-control study in southwest Iran, *Parasite Immunol* 47 (2025) e70005. <https://doi.org/10.1111/pim.70005>.
- [58] P. de Oliveira Azevedo, S.Z. Lescano, R. Giuffrida, L.B. Kmetiuk, A.P. Dos Santos, S. Dangoudoubiyam, A.W. Biondo, V.A. Santarém, Serosurvey of anti-*Toxocara* antibodies and risk factors in adolescent and adult pregnant women of southeastern Brazil, *PLoS Negl Trop Dis* 15 (2021) e0009571. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009571>.
- [59] E.C. Negri, V.A. Santarém, G. Rubinsky-Elefant, R. Giuffrida, Anti-*Toxocara* spp. antibodies in an adult healthy population: serosurvey and risk factors in southeast Brazil, *Asian Pac J Trop Biomed* 3 (2013) 211–216. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60052-0](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60052-0).
- [60] Risk factors for toxocariasis during incarceration: the One Health intervention approach, *Scientific Reports*, (n.d.). <https://www.nature.com/articles/s41598-023-45484-7> (accessed April 6, 2025).
- [61] E.L.G.M. Pereira, I.B. Ferreira, R.B. Victorino, S.A.Z. Lescano, R. Giuffrida, L.B. Kmetiuk, A.W. Biondo, V.A. Santarém, Serosurvey of *Toxoplasma gondii* and *Toxocara* spp. co-infection in pregnant women in low-income areas of Brazil, *Front Public Health* 12 (2024) 1340434. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1340434>.
- [62] E.A. Pautova, L.D. Shchuchinova, A.S. Dovgalev, The development and survival of *Toxocara canis* eggs in the natural climatic conditions of gorno-altaisk, *Med Parazitol (Mosk)* (2015) 42–44.
- [63] M. Fecková, D. Antolová, G. Zalešny, M. Halánová, G. Štrkolcová, M. Goldová, T. Weisssová, 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. Gonzáles, 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-](https://doi.org/10.1007/s00436-019-06239-4)
743 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 Rodríguez-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); disproportionally 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 repositor; 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



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 Farinhas²,
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>