

**AVIDEZ DE ANTICORPOS (IgG) ANTI-*Toxocara canis* EM COELHAS
INFECTADAS EXPERIMENTAMENTE**

LUNDIA LUARA CAVALCANTE BIN

**AVIDEZ DE ANTICORPOS (IgG) ANTI-*Toxocara canis* EM COELHAS
INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE**

LUNDIA LUARA CAVALCANTE BIN

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal- Área de Concentração: Fisiopatologia Animal

Orientador: Prof. Dr. Vamilton Alvares Santarém

636.932 2 Bin, Lúndia Luara Cavalcante.
B612a Avidéz de anticorpos (IgG) anti-*Toxocara canis*
em coelhas infectadas experimentalmente / Lúndia
Luara Cavalcante Bin – Presidente Prudente, 2013.
44 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) -
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste,
Presidente Prudente, SP, 2013.
Bibliografia.
Orientador: Vamilton Alvares Santarém.

1. Coelho 2. Infecção 3. Larva migrans 4.
Toxocaríase. I. Título.

LUNDIA LUARA CAVALCANTE BIN

**AVIDEZ DE ANTICORPOS (IgG) ANTI-*Toxocara canis* EM COELHAS
INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Presidente Prudente, 23 de agosto de 2013.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Vamilton Alvares Santarém
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof. Dra. Lisiane de Almeida Martins
Universidade Paranaense - UNIPAR
Umuarama - PR

Prof. Dr. Rogério Giuffrida
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

DEDICATÓRIA

Dedico esta bem como todas as minhas demais conquistas, aos meus amados pais Hildo Antonio Bin e Neiva Quirino Cavalcante Bin – Meus melhores exemplos!

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer, em primeiro lugar, a Deus, pela força e coragem durante toda esta longa caminhada.

Agradeço também ao Prof. Dr. Rogério Giuffrida pela ajuda e apoio, a Prof. Dra. Rosa Maria Barilli Nogueira presente a banca de qualificação, pela ajuda e palavras de incentivo.

Em especial ao meu querido orientador Prof. Dr. Vamilton Álvares Santarém, por me aceitar como orientada e sem medir esforços esteve presente em todas as etapas deste trabalho, com carinho e paciência. Obrigada também, pela amizade e ensinamentos não só durante essa fase, mas desde a graduação, onde tudo começou. Você faz parte dessa conquista novamente!!!

Aos amigos e colegas, pelo incentivo e pelo apoio. A todos que direta ou indiretamente, ajudaram na conclusão deste trabalho.

*“Há conhecimento de dois tipos: sabemos sobre um assunto,
ou sabemos onde podemos buscar informações sobre ele”*

Samuel Johnson (Escritor e Pensador Inglês: 1709-1784)

RESUMO

Avidez de anticorpos (IgG) anti-*Toxocara canis* em coelhas infectadas experimentalmente

A toxocaríase é uma importante zoonose transmitida principalmente pela ingestão de ovos embrionados de *T.canis*, um parasito de cães, presente no solo. A larva do nematódeo pode migrar por vários órgãos do corpo e ocasionar distúrbios, como problemas respiratórios, hepáticos, neurológicos, cardíacos e oftálmicos. O diagnóstico é realizado principalmente com a detecção de anticorpos, em especial de Imunoglobulinas da classe G (IgG), pela técnica de ELISA. A avidéz de IgG tem sido utilizada para avaliar a fase de infecção de uma doença. No caso da toxocaríase, estudos experimentais são escassos na literatura. O objetivo do estudo foi o de avaliar a avidéz de anticorpos anti-*Toxocara canis* em coelhas infectadas experimentalmente, antes e após lactação, e de suas progênies. Foram utilizadas 17 coelhas da linhagem Nova Zelândia, brancas, nulíparas, distribuídas em dois grupos. No grupo experimental, doze coelhas foram infectadas, oralmente, com 1.000 ovos larvados de *T. canis*. O segundo grupo, constituído por cinco coelhas serviu como controle. Nos dias 7, 14, 21 e 28 pós-infecção (DPI) e no primeiro dia após o desmame (60 DPI), foram coletadas amostras de soro para análise. O teste de ELISA indireto foi realizado para avaliar a o índice de reatividade (IR) de anticorpos IgG anti-*T. canis* e para cálculo do índice de avidéz (IA). A soroconversão nos animais ocorreu a partir do 14^o DPI. Com exceção de um animal (aos 14 DPI), todos os IA foram classificados como de alta avidéz. Após lactação, (60 DPI), todos os animais foram considerados como ELISA positivo. Em relação aos filhotes todos os animais foram sororreagentes e apresentaram alto IA. Entretanto, tanto o IR quanto o IA das fêmeas foram significativamente maiores que da sua progênie. Os resultados demonstraram a transmissão vertical de larvas. A correlação negativa entre os valores da IR das coelhas e de seus filhotes sugere a possibilidade de proteção passiva pela transferência de anticorpos maternos.

Palavras-chave: Toxocaríase; Resposta Humoral; ELISA; Infecção Experimental.

ABSTRACT

Anti-*Toxocara canis* (IgG) avidity in experimentally infected rabbits

Toxocariasis is an important zoonosis mainly transmitted by ingestion of embryonated *T. canis* eggs, a parasite of dogs, present in soil. The nematode larvae can migrate by a variety of organs and may cause disturbances, including respiratory, hepatic, neurological, cardiac and ophthalmic problems. Diagnostic of toxocariasis is based on detection of anti-*Toxocara* antibodies, particularly IgG, by ELISA. Avidity of IgG has been employed in order to evaluate the phase of infection of a disease. However, experimental studies regard to toxocariasis are scarce in literature. This study aimed to evaluate the *Toxocara canis*-IgG avidity in experimentally infected rabbits, before and after lactation, and of their offsprings. Seventeen nullipar white New Zealand female rabbits were distributed in two groups. In experimentally infected group, 12 animals were inoculated by oral route with 1,000 *T. canis* embryonated eggs, whereas five animals were uninfected (control group). Blood samples collections were performed on +7, +14, +21 and +28 days post-infection (dpi) and on the first day following the weaning (60 dpi) in order to obtaining serum for ELISA analysis. ELISA indirect test was run in order to obtain the anti- *T. canis* antibody reactivity index (RI) as well as the avidity index (AI). Seroconversion was observed on 14 dpi, and all the evaluated animals showed a high AI, excepting one animal (on 14 dpi). After the weaning period, all the studied rabbit showed seroconversion. All the studied bunnies were considered positive for ELISA and showed a high AI. Nevertheless, both RI and AI of mothers were significantly higher than their offspring. According to the results, it was possible to demonstrate the vertical transmission of *T. canis* larvae. In addition, the negative correlation between the RI obtained from the rabbits and the bunnies pointed out the possibility of passive protection due to the maternal transfer of antibodies.

Keywords: Toxocariasis; Humoral Response; ELISA; Experimental Infection.

LISTA DE SIGLAS

Ig – Imunoglobulina

ELISA – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*)

DPI – Dias pós-infecção

IA – Índice de Aidez

IR – Índice de Reatividade

spp. – Espécie

°C – Grau(s) Celsius

r.p.m. – Rotações por minuto

® – Marca Registrada

mg/Kg – Miligrama por quilograma

ml – Mililitro

PBS – Solução Fosfato Tamponada

µg/ml – Micrograma por litro

M – Molar

pH – Potencial de Hidrogênio

PBS-T – Solução Fosfato Tamponada com adição de Tween

µg – Micrograma

H₂O₂ – Peróxido de Hidrogênio

H₂SO₄ – Ácido Sulfúrico

N – Normal

D.O. – Densidade Ótica

R² – Coeficiente de Determinação da Regressão

IC – Intervalo de Confiança

SNC – Sistema Nervoso Central

IC – Intervalo de Confiança

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Classificação e Ciclo Biológico e Transmissão	12
2.2 Epidemiologia.....	16
2.3 Sinais Clínicos.....	17
2.4 Diagnóstico.....	18
2.4.1 Cão.....	18
2.4.2 Homem.....	18
2.5 Avidéz de Anticorpos.....	19
3 OBJETIVOS	21
4 REFERÊNCIAS.....	22
5 ARTIGO CIENTIFICO	27

1 INTRODUÇÃO

A toxocaríase é uma doença parasitária cosmopolita, de caráter zoonótico, mas pouco reconhecida como um problema de saúde pública (MAGNAVAL et al., 2001; ALTCHER et al., 2003; SANTARÉM; RUBINSKY-ELEFANT; FERREIRA, 2011).

O homem se infecta principalmente pela ingestão acidental de ovos embrionados presentes em solo contaminado (SCHANTZ, 1989). As larvas presentes nos ovos após ingestão eclodem no intestino delgado, atravessam a sua parede e alcançam a circulação hepática. A partir do fígado, pode haver uma migração somática por diversos órgãos, como coração, pulmão, olhos, entre outros (STENSVOLD; NIELSEN; PETERSEN, 2011).

A migração das larvas pode ocasionar lesões em diversos órgãos, ocasionando a toxocaríase visceral (Larva *Migrans* Visceral) (STENSVOLD; NIELSEN; PETERSEN, 2011), ou atingir os olhos, provocando a toxocaríase ocular (Larva *Migrans* Ocular) (AREVALO; ESPINOZA; AREVALO, 2013).

O diagnóstico da doença é geralmente confirmado por testes sorológicos, especialmente o teste de ELISA (RUBINSKY-ELEFANT et al., 2010).

Modelos experimentais têm sido realizados em animais para avaliar a toxocaríase, especialmente em modelo murino, considerado o de escolha, um vez que as larvas seguem o ciclo com sinais e sintomas semelhante ao dos seres humanos (CHIEFFI; CASEIRO, 2002).

Entretanto, o modelo murino não permite a avaliação de um mesmo animal em diferentes momentos de infecção, e mesmo não permite o estudo das suas progênes.

Com base no ELISA, o teste de avidéz de anticorpos tem sido amplamente utilizado para avaliar o curso da infecção em várias doenças parasitárias de importância em saúde pública, como doença-de-Chagas (MARCIPAR et al., 2001), toxoplasmose (LAPPALAINEN; HEDMAN, 2004; CANDOLFI et al., 2007; CLEMENTINO; SOUZA; ANDRADE NETO, 2007) e cisticercose (MANHANI et al., 2009).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Classificação, Ciclo Biológico e Transmissão

Os nematódeos do gênero *Toxocara* pertencem ao filo Nematoda, ordem Ascaridida (BOWMAN, 2009). São conhecidas 21 espécies do gênero *Toxocara*, sendo que, as espécies *T. canis* e *T. cati*, que parasitam, respectivamente, cães e gatos são as mais prevalentes em animais de companhia (CHIEFFI; CASEIRO, 2002; ALVARADO-ESQUIVEL, 2013).

T. canis tem sido considerado como o principal nematódeo envolvido na toxocaríase humana (SANTARÉM; RUBINSKY-ELEFANT; FERREIRA, 2011). O parasito, quando adulto, pode medir de 4 a 18 cm de comprimento.

Os ovos, quando eliminados pelas fezes de cães, não são embrionados, e necessitam de duas a três semanas em condições adequadas de umidade e temperatura, para seu embrionamento. Os ovos tornam-se infectante quando há o desenvolvimento da larva de segundo estágio L₂ no seu interior. (DESPOMMIER, 2003; SANTARÉM; RUBINSKY-ELEFANT; FERREIRA, 2011).

Os cães adultos adquirem a infecção principalmente após ingestão de ovos embrionados infectantes de *T. canis* presentes no meio ambiente (MAGNAVAL et al., 2001). O ovo, quando ingerido, passa pelo estômago, e ao chegar ao intestino delgado, há eclosão da larva. As larvas que eclodem no intestino atravessam a mucosa intestinal e, por via linfática, alcançam o fígado, e, posteriormente, através do sistema vascular chegam ao coração e pulmão. Após a chegada das larvas nos pulmões, podem ocorrer duas migrações. A migração traqueal, onde as larvas são deglutidas e chegam à sua fase adulta (L₅) no intestino. A migração somática ocorre quando as larvas invadem os tecidos, tornam-se latentes (hipobiose), e podem permanecer inativas por um período prolongado (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981; DESPOMMIER, 2003).

A ingestão de ovos infectantes por animais adultos, dificilmente resulta na presença do parasito adulto no trato digestivo desses animais, devido à aquisição de resistência à reinfecção (WOODRUFF, 1970).

Animais com menos de cinco meses de idade ainda não apresentam resposta imunológica eficiente. Consequentemente, cães jovens são frequentemente mais acometidos que os animais adultos, uma vez que a rota de migração mais comumente seguida pelas larvas do parasito é a hepato-traqueal. A partir dos seis meses de idade, os cães apresentam uma resposta imunológica adquirida, em resposta ao parasito. Consequentemente, as larvas seguem por migração somática, passando pelos pulmões e retornando ao coração, então migram para os tecidos, onde permanecem em estado de hipobiose (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981).

Roedores e aves, comportam-se como hospedeiros paratênicos, e pela migração somática que ocorre nesses animais, podem apresentar larvas de *T. canis* em hipobiose na musculatura e, assim sendo, comportam-se como fonte de infecção aos cães, quando estes ingerirem os mesmos (NIEC, 1980).

Outra forma de infecção nos cães é a migração transplacentária, que ocorre quando a cadela gestante possui larvas em hipobiose nos tecidos, e por ativação hormonal no terço final da gestação, alcançam o fígado dos fetos através da placenta. Além dessa via, as larvas podem ainda alcançar as glândulas mamárias e serem transmitidas aos filhotes pela via transmamária (BARRIGA, 1988).

A carga parasitaria do animal infectado pode chegar a várias centenas de parasitos, uma vez que a fêmea adulta do *T. canis* é capaz de produzir até 200.000 ovos por dia. Portanto, a contaminação do ambiente pelas fezes desses hospedeiros pode chegar a milhões de ovos por dia (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981).

A infecção entre os cães é observada com maior frequência em cadelas prenhes e lactantes (transmissão transplacentária e transmamária), assim como em filhotes com idade de três a seis meses. Nos filhotes de cães infectados, o parasito completa seu ciclo de três a quatro semanas após o nascimento, quando são capazes de eliminar ovos de *T. canis* para o meio ambiente junto com as fezes (DAMIAN et al., 2007).

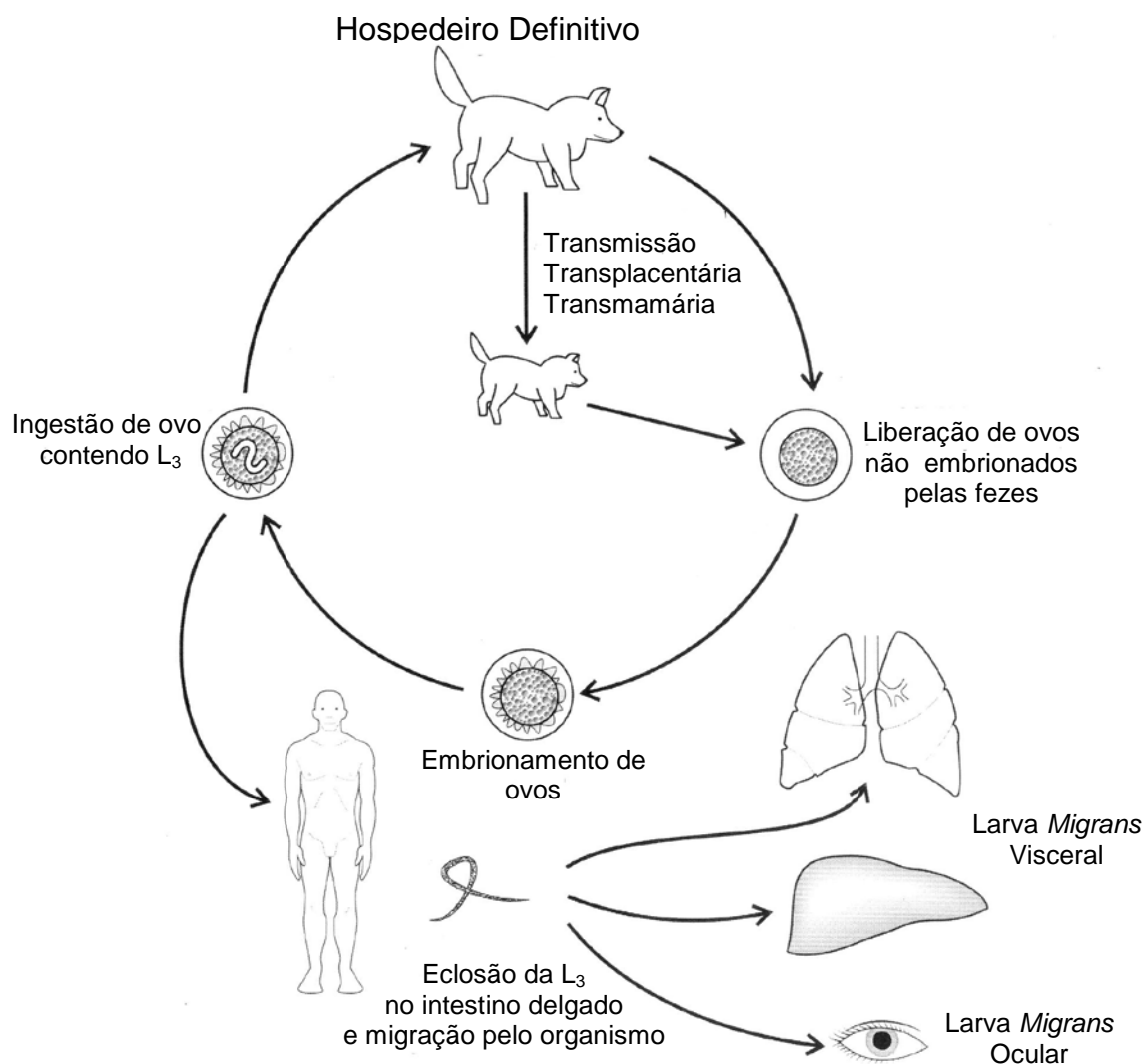
Os ovos eliminados nas fezes não são embrionados, passando cerca de duas a cinco semanas, em temperatura e umidade ambiental adequadas, para se tornarem infectantes (SCHANTZ, 1989). Os ovos são muito resistentes à ação dos produtos químicos, mas perdem sua viabilidade se submetidos a temperaturas altas (FORTES, 2004).

Do ponto de vista epidemiológico, a transmissão transplacentária é a mais importante, uma vez que os filhotes nascem com alto grau de infecção, contaminando o meio ambiente (WOODRUFF, 1970).

O homem se comporta como hospedeiro paratênico de *Toxocara* spp., uma vez que o parasito migra por diversos órgãos, mas não completa o seu ciclo. A infecção do ser humano se dá, principalmente, pela ingestão acidental de ovos embrionados (SANTARÉM; PEREIRA; PORTO ALEGRE, 2012).

No ser humano, após serem ingeridas, as larvas eclodem no intestino delgado e, através da circulação pela via hepática, atingem a circulação sistêmica, seguindo a mesma rota somática como no hospedeiro definitivo (DESPOMMIER, 2003), como apresentado na Figura 1.

Figura 1. Ciclo simplificado *Toxocara canis*.



A principal via de transmissão de toxocaríase humana se dá pela ingestão de ovos embrionados ou estágios larvais de *T. canis* que pode acarretar a migração errática de suas larvas através dos tecidos. Uma vez que o homem não é o hospedeiro habitual do nematódeo, as larvas não conseguem completar o seu ciclo evolutivo, e podem permanecer vivas por períodos prolongados e provocar diversas manifestações clínicas, entre as quais a síndrome conhecida como larva *migrans* (SILVA, TAKEDA, 2007).

A toxocaríase é de caráter cosmopolita, e está associada a baixos níveis econômicos da população, acometendo principalmente crianças, já que as mesmas possuem maior exposição ao solo contaminado, hábitos de geofagia e onicofagia, o que facilita a ingestão de ovos de *Toxocara* spp. presentes no ambiente (MAGNAVAL et al., 2001).

Certos hábitos culturais também podem representar fator de risco de infecção por *Toxocara*; entre estes está o hábito de comer carnes e vísceras cruas de hospedeiros paratênicos, observada em algumas populações (TAIRA et al., 2004). Mesmo que nesses hospedeiros o ciclo não seja completado, ocorre a migração somática que mantém as larvas em hipobiose nos tecidos. Casos de toxocaríase humana têm sido associados ao consumo de aves, como frango (NAKAMURA et al., 1989; MORIMATSU et al., 2006), pato (HOFFMEISTER et al., 2007) e avestruz (NOH et al., 2012); de ruminantes, incluindo ovinos (SALEM; SCHANTZ, 1992) e bovinos (YOSHIKAWA et al., 2008; PARK et al., 2012), além de outros animais como coelhos (STÜRCHLER; WEISS; GASSMAN, 1990),

Cianferoni et al. (2006) relata que o consumo de vegetais frescos cultivados em solos contaminados permite a ingestão de legumes contaminados com ovos de *Toxocara* spp.

O contato direto com os cães, principalmente filhotes, pode servir também como fonte de transmissão, uma vez que a presença de ovos embrionados tem sido observada no pêlo desses animais (AYDENIZÖZ-OZKAYHAN; YAGCI; ERAT, 2008; RODDIE et al., 2008; KEEGAN; HOLLAND, 2010), inclusive em estudo realizado no Brasil (AMARAL et al., 2010).

2.2 Epidemiologia

A toxocaríase está associada a baixos níveis econômicos da população e acomete principalmente crianças (SANTARÉM; RUBINSKY-ELEFANT; FERREIRA, 2011). Entretanto, a doença tem sido considerada como a principal helmintose em países industrializados (MAGNAVAL et al., 2001).

No Brasil, estudos soropidemiológicos têm mostrado a presença de anticorpos anti-*Toxocara* tanto em crianças quanto em pessoas adultas (Quadro 1).

Quadro 1 - Frequência (%) de anticorpos anti-*Toxocara* spp. em população humana no Brasil, nos últimos 10 anos

Cidade/Estado	Amostras	Frequência (%)	Autor(es) (Ano)
São Paulo, SP	208 ^C	54,8	Figueiredo et al. (2005)
Salvador, Ba	1445 ^C	47,0	Mendonça et al. (2012)
Salvador, Ba	268 ^A	46,3	Dattoli et al. (2011)
Recife, Pe	386 ^C	39,4	Aguiar-Santos et al. (2004)
São Paulo, SP	399 ^C	38,8	Alderete et al. (2003)
Sorocaba, SP	180 ^C	38,3	Coelho et al. (2004)
Maringá, Pr	450 ^C	28,8	Paludo et al. (2007)
São Paulo, SP	338 ^C	26,9	Muradian et al. (2005)
Ramal do Granada, Ac	403 ^{AC}	26,8	Rubinsky-Elefant et al. (2008)
Teodoro Sampaio, SP*	79 ^{AC}	21,5	Prestes-Carneiro et al. (2008)
Teodoro Sampaio, SP*	182 ^{AC}	13,7	Prestes-Carneiro et al. (2009)
Jaboatão Guararapes, Pe	215 ^{AC}	12,1	Coelho et al. (2005)
Presidente Prudente, SP	252 ^C	11,0	Santarém et al. (2011)
Presidente Prudente, SP	253 ^A	8,7	Negri et al. (2013)
Uberlândia, MG	242 ^{AC}	8,7	Teixeira et al. (2006)

^CPopulação infantil ^APopulação adulta *Comunidade Rural

Fonte: Adaptado de Santarém, Rubinsky-Elefant e Ferreira (2011)

2.3 Sinais Clínicos

Nos cães, principalmente filhotes, observa-se abaulamento abdominal, perda de apetite, diarreia, pneumonia e a presença de parasitos imaturos em vômito (FORTES, 2004).

As manifestações clínicas da toxocaríase no homem dependem de vários fatores, como resposta imune do hospedeiro, a frequência de reinfecções e a dose infectante, padrão de migração e distribuição das larvas nos diferentes tecidos (SCHANTZ, 1989; DESPOMMIER, 2003).

As lesões ocasionadas pelas larvas de *Toxocara* spp. podem ser decorrentes das lesões mecânicas ou da resposta aos antígenos liberados pelas mesmas, conhecidos como antígenos excretórios-secretórios (TES) (DESPOMMIER, 2003).

No homem, durante o processo de migração pelo organismo, as larvas podem causar a síndrome de larva *migrans* visceral - LMV (BEAVER et al., 1952), ou pelos olhos, originando a síndrome larva *migrans* ocular - LMO (ZINKHAM, 1978). Podem ainda provocar hemorragia, necrose e inflamação eosinofílica, ou serem encapsuladas em granulomas, sendo destruídas ou permanecendo viáveis por muitos anos (MAGNAVAL et al., 2001).

Finsterer e Auer (2007) propuseram a denominação de neurotoxocaríase para os quadros com comprometimento do sistema nervoso central. Taylor (1987) propôs a toxocaríase assintomática, ou forma oculta da toxocaríase (*covert* toxocaríase), casos com sinais clínicos inespecíficos.

A LMV pode se manifestar através de alterações respiratórias como sibilância ou asma (FERNANDO et al., 2009; KANOBANA et al., 2013); urticária, hepatomegalia (ALTCHEH et al., 2003); abscessos hepáticos (TRESKA et al., 2011); manifestações cardiovasculares (BOLÍVAR-MEJÍA et al., 2013), pancreatite (D'ONOFRIO et al., 2006), e alterações neurológicas como vasculite cerebral (LOMPO et al., 2012) e meningoencefalites (HELSEN; VANDECASTEELE; VANOPDENBOSCH, 2011; NOH, et al., 2012).

A LMO pode ocasionar desde perda da acuidade visual, como pode levar à cegueira. Estudos recentes têm relatado a formação de catarata, uveíte, retinopatia (SANCHÉZ et al., 2011; NIMIR; SALIEM; IBRAHIM, 2012; BERSIRLI; ELNER, 2013) e acometimento do disco óptico (KIM; MOON; CHANG, 2013) em virtude da toxocaríase.

Achado de larvas em hipobiose na musculatura de seres humanos, são raramente relatadas (RAYES et al., 2000). Normalmente, a toxocaríase muscular manifesta como piomiosite, acompanhada pelo desenvolvimento de abscessos musculares, a formação de granulomas em torno de larvas, e necrose tecidual (RAYES; LAMBERTUCCI, 1999).

No SNC, o local da invasão das larvas depende de múltiplos fatores, como o número de larvas ingeridas e fatores genéticos do hospedeiro, o que diretamente se relaciona para gravidade da lesão no SNC e inflamação (XINOU et al., 2003). O envolvimento do SNC compreende meningite, encefalite (MOREIRA-SILVA et al., 2004), mielite (OSOEGAWA, 2004), vasculite cerebral (DOUSSET; SIBON; MENEGON, 2003).

2.4 Diagnóstico

2.4.1 Cão

O diagnóstico clínico em filhotes de cães observa-se pela proeminência do abdome, perda de apetite, diarréia, pneumonia, presença de parasitas imaturos em vômito, sugerem a infecção por *T. canis*. Já o diagnóstico laboratorial se faz pela constatação e identificação microscópica de ovos em exame de fezes de cão, pelo Método de Flutuação (FORTES, 2004).

2.4.2 Homem

O diagnóstico da toxocaríase humana é realizado com base em manifestações clínicas e exames laboratoriais, principalmente pelo teste de ELISA, para detecção de imunoglobulinas do tipo IgG anti-*Toxocara* spp. (RUBINSKY-ELEFANT et al., 2010).

A técnica possui sensibilidade de 78% e especificidade de 92% (GLICKMAN, et al. 1978). Entretanto, não é possível distinguir se a detecção de IgG em um indivíduo é decorrente de uma infecção recente, uma vez que a persistência de anticorpos pode durar vários anos (GLICKMAN; SCHANTZ; GRIEVE, 1986).

A sorologia para detecção de anticorpos IgG anti-*Toxocara* tem sido uma excelente ferramenta no diagnóstico da toxocaríase, juntamente com os dados clínicos. Antígenos de excreção e secreção de larvas de *Toxocara* têm sido os antígenos de escolha por apresentarem melhor especificidade (DE SAVIGNY; VOLLER; WOODRUFF, 1975) e o ensaio imunoenzimático de ELISA, o mais amplamente utilizado tanto no diagnóstico como em inquéritos soropidemiológicos (ALDERETE et al., 2003; RUBINSKY-ELEFANT et al., 2010).

Nos países em desenvolvimento, onde os indivíduos apresentam co-infecção por diversos agentes, a ocorrência de reatividade cruzada é muito comum e, são necessários absorventes para a remoção de anticorpos inespecíficos (LYNCH, et al., 1988).

2.5. Avidéz de Anticorpos

Werblin et al. (1973) propôs um marcador sorológico capaz de distinguir entre infecções recentes e infecções antigas, ao introduzir o estudo da avidéz de anticorpos IgG específicos. Nas infecções recentes, segundo o autor, uma alta porcentagem desses anticorpos mostra baixa avidéz, isto é, baixa afinidade para antígenos correspondentes. Durante semanas ou meses, esses anticorpos vão apresentando avidéz crescente de modo que nas infecções de mais longa duração, encontra-se um predomínio marcante de anticorpos de grande afinidade.

O teste de avidéz de anticorpos IgG tem sido amplamente utilizado para avaliar o curso de infecção em várias doenças parasitárias de importância em saúde pública, como doença-de-Chagas (MARCIPAR et al., 2001), toxoplasmose (LAPPALAINEN; HEDMAN, 2004; CLEMENTINO; SOUZA; ANDRADE NETO, 2007) e cisticercose (MANHANI et al., 2009).

Estudos experimentais têm sido realizados para avaliação da avidéz de anticorpos contra agentes parasitários de animais, como, por exemplo, fasciolose (ABOU-BASHA, 2000) e neosporose (AGUADO-MARTÍNEZ et al., 2005).

Com base nesses estudos foi possível observar que o desafio pode induzir um alto estímulo antigênico na fase aguda da infecção, como aquele descrito por Bjorkman et al. (2003), em vacas infectadas experimentalmente por *Neospora caninum*.

No caso da toxocaríase, pesquisas sobre a avidéz de anticorpos em modelos animais são escassos, restringindo-se ao estudo em camundongos.

Apesar dos murinos serem considerados como o melhor modelo para a toxocaríase experimental, o acompanhamento da resposta humoral de um mesmo animal em momentos distintos após infecção é relativamente difícil, uma vez que a obtenção do sangue em quantidade suficiente para realização do ELISA, mesmo após eutanásia. Além disso, é possível o acompanhamento da resposta humoral das progênes desses animais.

Dessa forma, o estudo da avidéz de anticorpos anti-*Toxocara* spp. em outros modelos animais que possam ser acompanhados em vários momentos após a infecção experimental e de sua progênie é de grande importância para entendimento da resposta humoral na toxocaríase.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Avaliar a avidéz de anticorpos em coelhos infectados experimentalmente com *Toxocara canis* e de suas progênies

3.2 Objetivos Específicos

- Estudar, pela técnica de ELISA, o índice de reatividade de anticorpos IgG anti-*Toxocara* em coelhas.

- Calcular o índice de avidéz de anticorpos entre os momentos estudados.

- Avaliar o índice de avidéz nas progênies das coelhas infectadas.

REFERÊNCIAS

- ABOU-BASHA, L. M. et al. Specific IgG avidity in acute and chronic human fascioliasis. **Eastern Mediterranean Health Journal**, Alexandria, v. 6, n. 5/6, p. 919–925, set./nov. 2000.
- AGUADO-MARTÍNEZ, A. et al. Use of avidity enzyme-linked immunosorbent assay and avidity Western blot to discriminate between acute and chronic *Neospora caninum* infection in cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 17, n. 5, p. 442–450, set. 2005.
- ALDERETE, J. M. S. et al. Prevalence of *Toxocara* infection in schoolchildren from the Butantã region, São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, n. 5, p. 593–597, jul. 2003.
- ALTCHEH, J. et al. Toxocariasis: aspectos clínicos y de laboratorio en 54 pacientes. **Anales de Pediatría**, Barcelona, v. 58, n. 5, p.425-431, mai. 2003.
- ALVARADO-ESQUIVEL, C. Toxocariasis in waste pickers: a case control seroprevalence study. **PloS One**, San Francisco, v. 8, n.1, e. 54897, jan. 2013.
- AMARAL, H. L. DA C. et al. Presence of *Toxocara canis* eggs on the hair of dogs: a risk factor for Visceral Larva Migrans. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 174, n. 1-2, p. 115–118, nov. 2010.
- AREVALO, J. F.; ESPINOZA, J. V; AREVALO, F. A. Ocular toxocariasis. **Journal of Pediatric Ophthalmology and Strabismus**, Thorofare, v. 50, n. 2, p. 76–86, 2013.
- AYDENIZÖZ-OZKAYHAN, M.; YAĞCI, B. B.; ERAT, S. The investigation of *Toxocara canis* eggs in coats of different dog breeds as a potential transmission route in human toxocariasis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 152, n. 1-2, p. 94–100, mar. 2008.
- BARRIGA, O. O. A critical look at the importance prevalence and control of toxocarisis and the possibilities of immunological control. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 82, n. 2-3, p. 15-234, set. 1988.
- BEAVER, P. C. et al. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans; report of three cases. **Pediatrics**, Springfield, v. 9, n. 1, p. 7–19, jan. 1952.
- BERSIRLI, C. G.; ELNER, S. G. Retinal vasculitis in *Toxocara canis* neuroretinitis. **Journal of Ophthalmic Inflammation and Infection**, Berlin, v. 3, n. 1, p. 5e, jan. 2013.
- BJÖRKMAN, C. et al. Application of the *Neospora caninum* IgG avidity ELISA in assessment of chronic reproductive losses after an outbreak of neosporosis in a herd of beef cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 15, n. 1, p. 3–7, jan. 2003.

BOLÍVAR-MEJÍA, A. et al. Cardiovascular manifestations of human toxocarisis. **Archivos de Cardiología de México**, v. 83, n. 2, p. 4-9, abr.-mai. 2013.

BOWMAN, D.D. **Georgi's: parasitology for veterinarians**. 9. ed. Saint Louis: Saunders, 2009. 451 p.

CHIEFFI, P. P.; CASEIRO, M. M. Toxocaríase (Síndrome de larva migrans visceral). In: CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. (Ed.). **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2002. p. 279-283.

CIANFERONI, A. et al. Visceral larva migrans associated with earthworm ingestion: clinical evolution in an adolescent patient. **Pediatrics**, Springfield, v. 117, n. 2, p. e336–339, fev. 2006.

CLEMENTINO, M. M.; SOUZA, M. F.; ANDRADE NETO, V. F. Seroprevalence and *Toxoplasma gondii*-IgG avidity in sheep from Lajes, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 146, n. 3/4, p. 199–203, maio 2007.

DAMIAN, M. M. et al. Frequency of the antibody anti-*Toxocara canis* in a community along the Uatumã river, State of Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 6, p. 661–664, 2007.

DESPOMMIER, D. Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 16, n. 2, p. 265–272, abr. 2003.

DOUSSET, V.; SIBON, I.; MENEGON, P. Case n. 6 : cerebral vasculitis due to *Toxocaracanis* (or *catis*) origin. **Journal de Radiologie**, Paris, v. 84, n. 1, p. 89–91, jan. 2003.

D'ONOFRIO, M. et al. Mass-forming pancreatitis: value of contrast-enhanced ultrasonography. **World Journal of Gastroenterology**, Pequim, v. 12, n. 26, p. 4181-4184, jul. 2006.

FERNANDO, D. et al. *Toxocara* seropositivity in Sri Lankan children with asthma. **Pediatrics International**, Carlton South, v. 51, n. 2, p. 241-245, abr. 2009.

FINSTERER, J.; AUER, H. Neurotoxocarosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 49, n. 5, p. 279–287, set./out., 2007.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 4. ed. São Paulo: Ícone, 2004.

GLICKMAN, L. T. et al. Evaluation of serodiagnostic tests for visceral larva migrans. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 27, n. 3, p. 492-498, mai. 1978.

GLICKMAN, L. T.; SCHANTZ, P. M. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocarisis. **Epidemiologic Reviews**, Baltimore, v. 3, p. 230–250, jan. 1981.

GLICKMAN, L. T.; SCHANTZ, P. M.; GRIEVE, R. B. **Immunodiagnosis of Parasitic Diseases**: helminthic diseases. London: Academic Press, 1986. p. 201-231.

HELSEN, G.; VANDECASTEELE, S. J.; VANOPDENBOSCH, L. J. Toxocarisis presenting as encephalomyelitis. **Case Reports in Medicine**, Nova York, p. 4e, mai. 2011.

HOFFMEISTER, B. et al. Cerebral toxocariasis after consumption of raw duck liver. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 76, n. 3, p. 600-602, mar. 2007.

KANOBANA, K. et al. *Toxocara* seropositivity, atopy and asthma: a study in Cuban schoolchildren. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 18, n. 4, p. 403-406, abr. 2013.

KEEGAN, J. D.; HOLLAND, C. V. Contamination of the hair of owned dogs with the eggs of *Toxocara* spp. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 173, n. 1-2, p. 161-164, out. 2010.

KIM, Y. J.; MOON, C. H.; CHANG, J. H. Toxocariasis of the optic disc. **Journal of Neuroophthalmology**, Nova York, v. 33, n. 2, p. 151-152, jun. 2013.

LAPPALAINEN, M.; HEDMAN, K. Serodiagnosis of toxoplasmosis: the impact of measurement of IgG avidity. **Annali dell'Instituto Superiore di Sanità**, Roma, v. 40, n. 1, p. 81-88, jan. 2004.

LOMPO, L. D. et al. *Toxocara canis* cerebral vasculitis revealed by iterative strokes. **Revue Neurologique**, Paris, v. 168, n. 6-7, p. 533-537, jun. 2012.

LYNCH, N. R. et al. Specificity of *Toxocara* ELISA in tropical populations. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 10, n. 3, p. 323-337, mai. 1988.

MAGNAVAL, J. F. et al. Highlights of human toxocariasis. **Korean Journal of Parasitology**, Seul, v. 39, n. 1, p. 1-11, mar. 2001.

MANHANI, M. N. et al. Specific IgG avidity in active and inactive human neurocysticercosis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, New York, v. 65, n. 2, p. 211-213, out. 2009.

MARCIPAR, I. S. et al. Antibody maturation in *Trypanosoma cruzi*-infected rats. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, Washington, v. 8, n. 4, p. 802-805, jul. 2001.

MORIMATSU, Y. et al. A familial case of visceral larva *migrans* after ingestion of raw chicken livers: appearance of specific antibody in bronchoalveolar lavage fluid of the patients. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 75, n. 2, p. 303-306, ago. 2006.

MOREIRA-SILVA, S. F. et al. Toxocariasis of the central nervous system: with report of two cases. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 2, p. 169–174, mar./abr. 2004.

NAKAMURA, K. et al. Toxocariasis possibly caused by ingesting raw chicken. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 160, n. 4, p. 735–736, out. 1989.

NIEC, R. Toxocarisis del ciclo evolutivo y de la enfermedad. **Revista de Medicina Veterinaria**, Buenos Aires, v. 61, p. 494-498, 1980.

NIMIR, A. R.; SALIEN, A.; IBRAHIM, I. A. A. Ophthalmic parasitosis: a review article. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, Cairo, v. 12, p. 587402e, set. 2012.

NOH, Y. et al. Meningitis by *Toxocara canis* after ingestion of raw ostrich liver. **Journal of Korean Medical Science**, Seoul, v. 27, n. 9, p. 1105-1108, ago. 2012.

OSOEGAWA, M. Diagnosis and treatment of CNS parasite infection with special reference to parasitic myelitis. **Clinical Neurology**, Tokyo, v. 44, n. 11, p. 961–964, nov. 2004.

PARK, S. et al. Toxocariasis masquerading as liver and lung metastatic nodules in parents with gastrointestinal cancer: clinicopathologic study of five cases. **Digestive Diseases and Sciences**, Nova York, v. 57, n. 1, p. 155-160, jan. 2012.

RAYES, A. A.; LAMBERTUCCI, J. R. The association between human toxocariasis and pyogenic abscesses. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 4, p. 425–438, jul./ago., 1999.

RAYES, A. A. et al. Tropical pyomyositis and human toxocariasis: a clinical and experimental study. **American Journal of Medicine**, New York, v. 109, n. 5, p. 422–425, out. 2000.

RODDIE, G. et al. Contamination of dog hair with eggs of *Toxocara canis*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 152, n. 1-2, p. 85-93, mar. 2008.

RUBINSKY-ELEFANT, G. et al. Human toxocariasis: diagnosis, worldwide seroprevalences and clinical expression of the systemic and ocular forms. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, London, v. 104, n. 1, p. 3–23, jan. 2010.

SALEM, G.; SCHANTZ, P. Toxocaral visceral larva migrans after ingestion of raw lamb liver. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 15, n. 4, p. 743-744, out. 1992.

SANCHÉZ, J. E. et al. Detección de lesiones oculares en niños seropositivos para *Toxocara canis*. **Revista Chilena de Infectología**, Santiago, v. 28, n. 5, p. 431-434, out. 2011.

SANTARÉM, V. A.; PEREIRA, V. C.; ALEGRE, B. C. P. Contamination of public parks in Presidente Prudente (São Paulo, Brazil) by *Toxocara* spp. eggs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 21, n. 3, p. 323–325, jul./set., 2012.

SANTARÉM, V. A.; RUBINSKY-ELEFANT, G.; FERREIRA, M. U. Soil-transmitted helminthic zoonoses in humans and associated risk factors. In: PASCUCCI, S. (Ed.), **Soil Contamination**. InTech, Rijeka, p. 43-66, 2011. Disponível em: <http://www.intechopen.com/articles/show/title/soil-transmitted-helminthic-zoonoses-in-humans-and-associated-risk-factors>. Acesso em: 22 de abril 2013.

SCHANTZ, P. M. *Toxocara larva migrans* now. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 41, n. 3, p. 21–34, set. 1989.

SILVA, C. V.; TAKEDA, G. K. F. Pesquisa de ovos de *Toxocara canis* em amostras de fezes de cães coletadas em vias públicas da cidade de São Paulo. **News Lab**, v. 83, p. 130-136, 2007.

STENSVOLD, C. R.; NIELSEN, H. V.; PETERSEN, E. Toxocariasis. **Ugeskrift for Laeger**, Copenhagen, v. 173, n. 3, p. 186–189, jan. 2011.

STÜRCHLER, D.; WEISS, N.; GASSMAN, M. Transmission of toxocariasis. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 162, n. 2, p. 571, ago. 1990.

TAIRA, K. et al. Zoonotic risk of *Toxocara canis* infection through consumption of pig or poultry viscera. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 121, n. 1-2, p. 115-124, maio 2004.

TAYLOR, M. R. H. et al. Clinical features of covert toxocariasis. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, Estocolmo, v. 19, n. 6, p. 693-696, 1987.

TRESKA, V. et al. Liver abscess in human toxocariasis. **Bratislava Medical Journal**, v. 112, n. 1, p. 644-647, 2011.

XINO, E. et al. CT and MR imaging findings in cerebral toxocaral disease. **AJNR. American Journal of Neuroradiology**, Baltimore, v. 24, n. 4, p. 714–718, abr. 2003.

YOSHIKAWA, M. et al. Visceral toxocariasis from regular consumption of raw cow liver. **Internal Medicine**, Tóquio, v. 47, n. 13, p. 1289-1290, jul. 2008.

ZINKHAM, W. H. Visceral larva migrans: a review and reassessment indicating two forms of clinical expression: visceral and ocular. **American Journal of Diseases of Children**, Chicago, v. 132, n. 6, p. 627–633, jun. 1978.

WOODRUFF, A. M. Toxocariasis. **British Medical Journal**, Londres, v. 3, n. 5724, p. 663-669, set. 1970.

WERBLIN, T. P. et al. Studies on the control of antibody synthesis. III Changes in heterogeneity of antibody affinity during the course of the immune response. **Immunology**, Oxford, v. 24, n. 3, p. 477-492, mar. 1973.

5. Artigo Científico*

Avidez de anticorpos (IgG) anti-*Toxocara canis* em coelhas infectadas experimentalmente ***Toxocara canis*-IgG avidity in experimentally infected rabbits**

Lundia Luara Cavalcante Bin¹, William Roldán², Célia Fátima Silva Exposto¹, Cecília Braga Laposy¹, Rosa Maria Barilli Nogueira¹, Guita Rubinsky-Elefant², Vamilton Alvares Santarém^{1}**

¹ Mestrado em Ciência Animal. Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, São Paulo.

² Laboratório de Sorologia e Imunobiologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo- USP - São Paulo - SP.

* Normas da Revista Semina: Agrárias

** Autor para correspondência: Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista, Rodovia Raposo Tavares Km 572, Bairro Limoeiro - Presidente Prudente, 19067-175, Presidente Prudente, SP, Brasil. Tel/Fax: +55 18 3229 2077 E-mail: vamilton@unoeste.br

Resumo

O objetivo do estudo foi o de avaliar a avidéz de anticorpos anti-*Toxocara canis* em coelhas infectadas experimentalmente, antes e após lactação, e de suas progênie. Foram utilizadas 17 coelhas New Zealand nulíparas, distribuídas em dois grupos. No grupo experimental, doze coelhas foram infectadas, oralmente, com 1.000 ovos larvados de *T. canis*. Um segundo grupo, constituído por cinco coelhas serviu como controle. Nos dias 7, 14, 21 e 28 pós-infecção (DPI) e no primeiro dia após o desmame (60 DPI), foram coletadas amostras de soro para análise. O teste de ELISA indireto foi realizado para avaliar a o índice de reatividade (IR) de anticorpos IgG anti-*T. canis* e para cálculo do índice de avidéz (IA). A soroconversão nos animais ocorreu a partir do 14^o DPI. Com exceção de um animal (aos 14 DPI) todos os IA foram classificados como de alta avidéz. Após lactação, (60 DPI), todos os animais foram considerados como ELISA positivo. Em relação aos filhotes todos os animais foram sororreagentes e apresentaram alto IA. Entretanto, tanto o IR quanto o IA das fêmeas foram significativamente maiores que da sua progênie. Os resultados mostram a transmissão vertical de larvas e que a correlação negativa entre os valores da IR das coelhas e de seus filhotes sugere a possibilidade de proteção passiva pela transferência de anticorpos maternos.

Palavras-chave: Toxocaríase; Avidéz de anticorpos; ELISA.

Abstract

This study aimed to evaluate the *Toxocara canis*-IgG avidity in experimentally infected rabbits, before and after lactation, and of their offsprings. Seventeen nulipars white New Zealand female rabbits were distributed in two groups. In experimentally infected group, 12 animals were inoculated by oral route with 1,000 *T. canis* embryonated eggs, whereas five animals were uninfected (control group). Blood samples collections were performed on +7, +14, +21 and +28 days post-infection (dpi) and on the first day following the weaning (60 dpi) in order to obtaining serum for ELISA analysis. ELISA indirect test was run in order to obtain the anti- *T. canis* antibody reactivity index (RI) as well as the avidity index (AI). Seroconversion was observed on 14 dpi, and all the evaluated animals showed a high AI, excepting one animal (on 14 dpi). After the weaning period, all the studied rabbit showed seroconversion. All the studied bunnies were considered positive for ELISA and showed a high AI. Nevertheless, both RI and AI of mothers were significantly higher than their offspring. According to the results, it was possible to confirm the vertical transmission of *T. canis* larvae. In addition, the negative correlation between the RI obtained from the rabbits and the bunnies pointed out the possibility of passive protection due to the maternal transfer of antibodies.

Key words: Toxocariasis; Antibody avidity; ELISA.

1. Introdução

A toxocaríase, apesar de pouco reconhecida como um problema de saúde pública, é apontada como uma importante zoonose em países industrializados (MAGNAVAL et al., 2001; ALTICHEH et al., 2003; SANTARÉM; RUBINSKY-ELEFANT; FERREIRA, 2011). No homem, a principal via de transmissão se dá pela ingestão de ovos embrionados dos nematódeos *Toxocara canis* ou *T. cati*, que parasitam, respectivamente, cães e gatos. A doença é de caráter cosmopolita, está associada a baixos níveis econômicos da população e acomete principalmente crianças (MAGNAVAL et al., 2001).

Ao eclodir no intestino delgado, as larvas atingem a circulação pela via hepática, migrando por diversos órgãos, causando a síndrome de larva *migrans* visceral - LMV (BEAVER et al., 1952), ou olhos, originando a síndrome larva *migrans* ocular - LMO (ZINKHAM, 1978). Nesse processo de migração pelo organismo, as larvas podem causar hemorragia, necrose e inflamação eosinofílica, ou serem encapsuladas em granulomas, sendo destruídas ou permanecendo viáveis por muitos anos (MAGNAVAL et al., 2001).

O diagnóstico da toxocaríase é realizado com base em manifestações clínicas e exames laboratoriais, principalmente pelo teste de ELISA, para detecção de imunoglobulinas do tipo IgG anti-*Toxocara* spp. A técnica possui sensibilidade de 78% e especificidade de 92%. Entretanto, não é possível distinguir se a detecção de IgG em um indivíduo é decorrente de uma infecção recente, ou tardia, uma vez que a persistência de anticorpos pode durar vários anos (GLICKMAN; SCHANTZ; GRIEVE, 1986).

O teste de avidéz de anticorpos IgG tem sido amplamente utilizado para avaliar se a infecção em várias doenças parasitárias de importância em saúde pública, como doença-de-Chagas (MARCIPAR et al., 2001), toxoplasmose (LAPPALAINEN; HEDMAN, 2004; CANDOLFI et al., 2007; CLEMENTINO; SOUZA; ANDRADE NETO, 2007) e cisticercose (MANHANI et al., 2009). Estudos experimentais têm sido realizados para avaliação da avidéz de anticorpos contra agentes parasitários de animais, destacando-se a neosporose (AGUADO-MARTINEZ et al., 2005) e a fasciolose (ABOU-BASHA et al., 2000).

No caso da toxocaríase, estudos sobre a avidéz de anticorpos em modelos animais são escassos, restringindo-se a infecção de camundongos. Apesar dos murinos serem considerado como o melhor modelo para a toxocaríase experimental, é difícil o acompanhamento da resposta humoral de um mesmo animal em momentos distintos após infecção, uma vez que a obtenção do sangue em quantidade suficiente para realização do ELISA, muitas vezes, é apenas possível mediante a eutanásia dos mesmos.

Dessa forma, o estudo da avidéz de anticorpos anti-*Toxocara* spp. em outros modelos animais que possam ser acompanhados em vários momentos após a infecção experimental é de grande importância para entendimento da resposta humoral na toxocaríase experimental.

Com base nessas premissas, o presente estudo teve como objetivo estudar a avidéz de anticorpos anti-*Toxocara canis* em coelhas infectados experimentalmente, antes e após lactação, e de suas progênies.

2. Material e Métodos

2.1 Animais

Foram utilizadas dezesseis coelhas da linhagem Nova Zelândia, com dois meses de idade, obtidos no Coelhário da Unoeste, com confirmação de diagnóstico negativo para nematódeos pela técnica de Wiilis-Molay e Hoffman, em amostras de fezes (HOFFMANN, 1987).

2.2 Grupos Experimentais

No presente estudo, foram formados dois grupos. O primeiro grupo composto por 12 fêmeas infectadas artificialmente com ovos de *T. canis*, enquanto outro grupo contendo seis fêmeas serviu como controle.

Ainda antes do experimento, os animais passaram por um período de adaptação, onde foram manipulados diariamente por 15 minutos para cada caixa, durante uma semana, para facilitar o manejo dos animais durante a fase experimental (HÖRAK; TUMMELEHT; TALVIKET, 2006).

Durante todo o período experimental, os animais receberam ração peletizada comercial para coelhos e água e *ad libitum* e foram mantidos no Coelhário da Unoeste.

2.3 Obtenção de ovos de *Toxocara canis*

Os ovos foram obtidos de fêmeas adultas de *Toxocara canis* liberadas espontaneamente por filhotes de cães infectados naturalmente, no Canil do Hospital Veterinário da Unoeste (Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente/SP). As fêmeas do parasito foram acondicionadas em coletores universais de plástico e encaminhadas ao Laboratório de Medicina Veterinária (Parasitologia Veterinária) do Hospital Veterinário da mesma instituição.

As fêmeas do nematódeo foram, então, dissecadas no terço anterior do útero para obtenção dos ovos (FAN et al., 2003). Estes ovos por sua vez, foram mantidos sob temperatura controlada de 27^oC durante 25 a 30 dias até embrionamento e detecção de larvas no seu interior. Após este período, o material foi lavado em solução fisiológica, por centrifugação a 2.000 r.p.m., por três minutos. Um total de 1000 ovos larvados foram contados em câmara de Neubauer, para a infecção experimental.

2.4 Infecção dos Animais

Antes da infecção experimental, os animais receberam 30mg/kg da associação de tiletamina/zolazepam (Zoletil 5%, Virbac), diluída em solução salina, por via intraperitoneal, para sedação (KANASHIRO, CASSU, 2008).

Para a realização da infecção, adotou-se, com pequenas modificações, o procedimento descrito por Faccioli et al. (1998) e Pecinali et al. (2005). Os animais receberam 3,0 mL de solução fosfato tamponada estéril (PBS) contendo os ovos, por via oral, com auxílio de sonda gástrica. Outros 3,0 mL de PBS foram administrados pela mesma via aos animais para assegurar a passagem dos ovos. O grupo controle recebeu 3,0 mL+3,0 mL de PBS, seguindo o mesmo procedimento anestésico e de administração do inóculo.

Para obter o soro, amostras de sangue foram colhidas de animais experimentalmente infectados e controle (não infectados) através de punção da artéria central de ouvido, de acordo com as diretrizes da Animal Care Institucional e Comitê de Uso da Universidade de Iowa (research.uiowa.edu/animal/?get=rbt_tech). Amostras de sangue foram coletadas nos dias 0 (pré-infecção), 7, 14, 21 e 28 pós-infecção (DPI) e no primeiro dia após o desmame (60 DPI).

2.5 ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*)

O teste de ELISA indireto foi realizado para avaliar a produção anticorpos IgG anti-*T. canis* de acordo com o protocolo descrito por De Savigny et al. (1979) com pequenas modificações (ELEFANT et al., 2006).

Para realizar o teste, microplacas de poliestireno de 96 poços (Corning, Costar, New York, NY) foram revestidas (1,9 µg/mL de antígeno/poço) com antígenos excretórios-secretórios produzidos por larvas de *T. canis* (TES), durante 2 horas, a 37°C, seguido de 18 horas a 4°C. Em seguida, foram lavadas três vezes durante 5 minutos com 0,01 M de tampão fosfato, pH 7,2, contendo 0,05% de Tween-20 (PBS-T). As microplacas foram bloqueadas com 2,5% de leite desnatado (Molico, Nestlé) em tampão PBS-T (200 µL/poço) durante 1 hora a 37 ° C e em seguida lavadas três vezes com PBS-T

As amostras de soro (100 µL/poço) foram diluídas a 1:200 e incubadas durante 40 minutos a 37°C. Após três ciclos de lavagem, as placas foram incubadas com conjugado anti-IgG de coelho produzido em caprino (100 µL/poço; Sigma-Aldrich A0545, EUA) na diluição 1:40.000 em PBS-T, durante 40 minutos a 37° C. Depois de um novo ciclo de lavagem, as placas foram incubadas com solução de cromogênica (100µl/poço; OPD Fast-Sigma, St Louis, EUA), composto de orto-fenilenediamina (0,4 mg/mL) e H₂O₂-uréia peróxido (0,4 mg/mL) em 0,05 M de tampão fosfato-citrato, durante 15 minutos a 37°C. A reação foi parada com H₂SO₄ 2N (50 µL/poço), e a densidade óptica foi medida a 492 nm (Titertek Multiskan MCC/340, Lab-System, Finlândia).

O valor de corte (cut-off) foi calculado pela soma de dois desvios padrão e a média da absorbância de 17 soros controle negativo (6 controles e 11 animais pré-infecção). Os níveis de anticorpos forma expressos como índices de reatividade (IR), calculados como a razão entre o valor de absorbância de cada amostra testada e o valor de cut-off (0,292). As amostras que apresentaram IR acima de 1 foram consideradas positivas.

2.6 Avidéz de anticorpos (IgG)

Para o estudo da avidéz foi utilizado o método da dissociação, utilizando-se a uréia como agente denaturante (HEDMAN et al., 1989). Foram testadas as concentrações de 4, 6, e 8M, tendo sido escolhida a concentração de 8 M. Inicialmente, para avaliar a possibilidade do agente denaturante estar agindo sobre o antígeno adsorvido à fase sólida e interferindo nos resultados, a placa de ELISA sensibilizada e bloqueada foi tratada por 5 minutos com uréia 8M anteriormente a realização do ensaio.

O índice de avidéz (IA) foi calculado pela relação da D.O. da amostra tratada com uréia pela D.O. da amostra sem o tratamento com uréia, multiplicado por 100, conforme a fórmula:

$$IA (\%) = (D.O. \text{ com uréia} / D.O. \text{ sem uréia}) \times 100$$

Os índices de avidéz foram estabelecidos segundo Hedman e Rousseau (1989), sendo que a IA menor que 30% indica predomínio de anticorpos de baixa avidéz; IA com valor entre 30 e 50%, predomínio de anticorpos de média avidéz e IA acima de 50%, predomínio de anticorpos de alta avidéz.

2.7. Análise Estatística

Foram calculados a partir dos dados obtidos, os valores médios de índice de avidéz e índice de reatividade. Os IA e IR dos soros das fêmeas, antes e após a lactação foram comparados pelo teste t pareado. Para determinar se os mesmos índices diferiram entre as mães e as progênes, recorreu-se ao teste t não pareado. A relação existente entre o IA e IR foi avaliada pela análise de regressão linear simples. A adequação do modelo proposto foi testada pela análise de resíduos e estatísticas de ajustamento, como o coeficiente de determinação (R^2). Para todas as comparações, utilizou-se nível de significância de 5%. Todas as análises foram conduzidas com auxílio do software SPSS v. 13.0 for Windows, conforme Field (2009).

2.8 Aspectos Éticos

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, São Paulo (Protocolo 132/09).

3. Resultados

A soroconversão nos animais estudados no presente estudo ocorreu a partir do 14^o dia pós-infecção (DPI) (Figura 1).

Dos 12 animais infectados, cinco (41,7%) foram considerados sororreagentes aos 14 DPI (IR: 1,013-4,278; Média= 2,553), nove animais (75,0%) aos 21 DPI (IR= 1,171-4,472; Média= 2,768) e 91,6% (11/12) aos 28 DPI (IR= 1,383-4,639; Média= 3,361). Após a lactação (60 DPI), todos os

animais apresentaram soroconversão (IR= 4,457-5,315; Média= 4,895). Apenas um dos animais (8,3%) apresentou anticorpos após a lactação.

A média do Índice de Reatividade (IR) a partir do momento em que houve a soroconversão (14 DPI) variou de 2,553 a 3,361 antes da lactação e 4,895 após a lactação (60 DPI). As médias de IR mensuradas antes e após a lactação diferiram significativamente ($p= 0,0019$). Observou-se que o IR aumentou gradativamente durante os momentos estudados, inclusive comparando o momento antes (28 DPI) e pós-lactação (60 DPI) (Figura 1). No animal que soroconverteu após lactação, o IR estava um pouco abaixo dos apresentados pelos outros animais (IR= 4,457).

A classificação do Índice de Avidéz (IA) dos animais está representada na Figura 2. Observou-se que todos os animais que soroconverteram houve alta avidéz, com exceção de um animal, que aos 14 DPI apresentou média avidéz de anticorpos (IA= 46,6%). Os IA variaram de 46,6% a 86,6% (IA Médio= 65,1%) aos 14 DPI, de 51,0 a 92,6% (IA Médio= 67,5%) aos 21 DPI e de 55,4% a 90,9% (IA Médio= 74,1%) aos 28 DPI. Após a lactação o IA variou de 95,7% a 99,9% (IA Médio= 97,4%). As médias de avidéz mensuradas antes e após a lactação diferiram significativamente ($p = 0,0012$). Foi observado que apesar de dois animais apresentarem oscilação nos IA, esses índices continuaram como de alta avidéz.

No presente estudo foi possível avaliar a correlação entre o IR e IA nos dias 21 e 28 DPI e no momento pós-lactação, em virtude do número de animais sororreagentes (Tabela 2). Foi observada uma correlação significativa entre as duas variáveis no período pós-lactação, das fêmeas adultas, cuja reta de regressão ajustada ($y = 73,25+4,89x$; $R^2 = 0,768$) está representada na Figura 3.

Em relação aos filhotes, foi possível coletar a amostra das progênie de seis coelhas. Todos os animais foram sororreagentes (IR: 1,088-2,498; Média=1,910) e apresentaram alto IA (IA: 64,3%-84,8%; Média= 75,6%). Observou-se que tanto o IR ($p=0,0003$) quanto o IA das fêmeas foi significativamente maior que da sua progênie.

4. Discussão

No presente estudo, a soroconversão dos animais infectados ocorreu a partir do 14^o DPI, o que corrobora os resultados descritos por Morales et al. (2002), que observaram soroconversão de coelhos aos 15^o DPI. Os dados de ambos os estudos também coincidiram no que se refere à cinética da resposta humoral, uma vez que o IR apresentou aumento gradativo.

Outros autores observaram variações no início da detecção de IgG em diferentes espécies infectadas experimentalmente por *T. canis*. Em suínos, o período variou do 7^o (SOMMERFELT et al., 2001) ao 14^o DPI (TAIRA; PERMIN; KAPEL, 2003). Lescano et al. (2012) obtiveram resultados a partir do 23^o DPI, em camundongos. Em ovinos os resultados foram observados a partir do 21^o DPI (SANTARÉM et al., 2011).

A avidéz de anticorpos tem sido utilizada para distinção das fases aguda e crônica de diversas enfermidades parasitárias, incluindo cisticercose (MANHANI et al., 2009), esquistossomose

(MOSTAFA; AWAD; SHALABY, 2002), leishmaniose (TEIXEIRA et al. 2010) e toxoplasmose (LAPPALAINEN; HEDMAN, 2004; CLEMENTINO; SOUZA; ANDRADE NETO, 2007; CANDOLFI et al, 2007), e pode ser diferente dependendo do tipo de infecção (FOX et al., 2006). Gray-Andrieu et al. (2009) observaram que na toxoplasmose, a alta avidéz é observada em pessoas com infecção crônica, enquanto aquelas com estágio inicial da doença, a avidéz é baixa. Já em pacientes positivos para neurocisticercose, Manhani et al. (2009) observaram que o índice de avidéz (IgG) foi significativamente maior nas pessoas com infecção ativa.

Em seres humanos, não é possível quantificar o número de estruturas parasitárias responsáveis pela infecção, e talvez por isso, o estímulo antigênico não seja suficiente para induzir uma alta avidéz em casos agudos.

Segundo Dziemian et al. (2008), a avidéz de anticorpos específicos (IgG) aumenta com o tempo depois da estimulação antigênica por *Toxocara* spp. e que a avaliação do grau de avidéz pode ser usada para discriminar toxocaríase aguda e crônica.

A alta avidéz de IgG em casos crônicos e baixa avidéz em infecções agudas apresentadas por humanos com toxocaríase foi observada por Hubner et al. (2001). Dziemian et al. (2008), a partir do histórico clínico e confirmação sorológica pelo ELISA, estimaram a infecção por toxocaríase em crianças, no qual 94,2% das pessoas com infecção há mais de seis meses apresentaram valores elevados de avidéz IgG, enquanto nas infecções recentes, 25,9% apresentaram baixos índices de avidéz.

Esses dados mostram que em infecção experimental, o desafio pode induzir um alto estímulo antigênico na fase aguda. Em vacas infectadas experimentalmente por *Neospora caninum*, a avidéz foi alta durante o curso inicial da infecção, sendo que 15 das 16 vacas apresentaram baixa avidéz aos 42 DPI e nenhum animal atingiu alta avidéz até 63 DPI (BJORKMAN et al., 2005).

Fenoy et al. (2008) observaram, experimentalmente, que um aumento no IA (em torno de 50%) foi detectado 40 a 60 DPI em camundongos BALB/c infectados com uma única dose contendo 6, 12, 50 100, 200 ou 1000 ovos, ou contendo 200 e 1000 ovos em doses múltiplas. Segundo os autores, baixas doses infectantes poderiam induzir a cronicidade da resposta humoral.

Em nosso estudo foi possível acompanhar a avidéz de anticorpos em diferentes momentos, a partir de um modelo experimental em coelhos. No caso de murinos, entretanto, não é possível avaliar a resposta humoral nos mesmos animais em momentos distintos de infecção, uma vez que a eutanásia é necessária para coleta de amostras. Dessa forma, outros experimentos são necessários para avaliar a resposta humoral e a avidéz de anticorpos em coelhos submetidos a diferentes protocolos de infecção.

No nosso estudo, observou-se que a partir da soroconversão aos 14 DPI, com exceção de um animal, todos apresentaram alta avidéz. Apesar da média do IR ter sido crescente entre os momentos, assim como na soroconversão, variando de 65,1 a 74,1% antes da lactação e 97,4% pós-lactação, foi possível perceber que alguns animais apresentaram avidéz transitória entre os momentos. Entretanto, todos foram classificados como alta avidéz.

Foi observado, segundo modelo de regressão linear proposto, que 76,8% ($R^2=0,768$) da variabilidade observada na avidéz pode ser explicada pelo índice de sororeatividade no teste de ELISA. Desta forma, o modelo proposto apresentou bom ajustamento aos dados.

A transmissão vertical de *Toxocara* spp. tem sido verificada em estudos experimentais com murinos, tanto pela via transplacentária (ÁVILA et al., 2009; MOURA et al., 2011), quanto pela via lactogênica (REITEROVÁ; TOMASOVICOVÁ; DUBINSKÝ, 2003; JIN; AKAO; OHTA, 2008; DIAS, 2011). No nosso estudo foi possível avaliar a presença de anticorpos nos filhotes de seis coelhas infectadas. Verificou-se que todos os animais foram sororreagentes e apresentaram alto índice de avidéz. Entretanto, tanto o IR quanto o IA das fêmeas foi significativamente maior que da sua progênie. Esses resultados mostram a transmissão vertical de larvas e que a correlação negativa entre os valores da IR das coelhas e de seus filhotes sugere a possibilidade de proteção passiva pela transferência de anticorpos maternos.

Referência Bibliográficas

- ABOU-BASHA, L.M.; SHEHAB, A.Y.; OSMAN, M.M.; FARAG, H.F. Specific IgG avidity in acute and chronic human fascioliasis. *Eastern Mediterranean Health Journal*, v. 6, p. 919-925, 2000.
- AGUADO-MARTÍNEZ, A.; ÁLVAREZ-GARCÍA, G.; ARNAIZ-SECO, I.; INNES, E.; ORTEGA-MORA, L.M.. Use of avidity enzyme-linked immunosorbent assay and avidity western blot to discriminate between acute and chronic *Neospora caninum* infection in cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 17, p. 442-450, 2005.
- ALTCHEH, J.; NALLAR, M.; CONCA, M.; BIANCARDI, M.; FREILIJ, H. Toxocariasis: aspectos clínicos y de laboratorio en 54 pacientes. *Anais de Pediatria*, v. 58, p.425-431, 2003.
- AVILA, L.; FONSECA, J.S.V.; FURTADO, R.D.; AGUIAR, P.S.; DUTRA, G.F.; TELMO, P.L.; BERNE, M.E.A.; SILVA, P.E.A.; SCAINI, C.J. Registro da transmissão vertical em camundongos Balb/c com toxocarose crônica. *Revista de Ciências da Saúde*, v. 21, n.1, 2009.
- AYDENIZÖZ-OZKAYHAN, M.; YAGCI, B.B.; ERAT, S. The investigations of *Toxocara canis* eggs in coats of different dog breeds as a potential transmission route in human toxocariasis. *Vet Parasitol*, v. 152, p. 94-100, 2008.
- BEAVER, P.C.; SNYDER, C.H.; CARRERA, G.M.; DENT, J.H.; LAFFERTY, J.W. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. Report of three cases. *Pediatrics*, v. 9, p. 7-19, 1952.

BJÖRKMAN, C.; GONDIM, L.F.; NÄSLUND, K.; TREES, A.J.; MCALLISTER, M.M. IgG avidity pattern in cattle after ingestion of *Neospora caninum* oocysts. *Veterinary Parasitology*, v. 128, p. 195-200, 2005.

BJÖRKMAN, C.; ÁLVAREZ-GARCÍA, G.; CONRATHS, F. J.; MATTSSON, J. G.; ORTEGA-MORA, L. M.; SAGER, H.; SCHARES, G. *Neospora caninum* IgG avidity tests: an interlaboratory comparison. *Veterinary Parasitology*, v. 140, p. 273-280. 2006.

CANDOLFI, E. ; PASTOR, R. ; HUBER, R. ; FILISETTI, D. ; VILLARD, O. IgG avidity assay firms up the diagnosis of acute toxoplasmosis on the first serum sample in immunocompetent pregnant women. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 58, p. 83-88, 2007.

CLEMENTINO, M.M. ; SOUZA, M.F. ; ANDRADE NETO, V.F. Seroprevalence and *Toxoplasma gondii*-IgG avidity in sheep from Lajes, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 146, p. 199-203, 2007.

DE SAVIGNY, D.H.; VOLLER, A.; WOODRUFF, A.W. Toxocariasis: serological diagnosis by enzyme immunoassay. *Journal of Clinical Pathology*, v. 32, p. 284-288, 1979.

DIAS, E. C. Infecção transmamária em camundongos Balb/c com toxocarose crônica. Disponível em: <http://www.mpu.furg.br/cd2010/cic/1283.doc>. Acesso: maio de 2011.

DZIEMIAN, E.; ZARNOWSKA, H.; KOLODZIEJ-SOBOCINSKA, M.; MACHNICKA, B. Determination of the relative avidity of the specific IgG antibodies in human toxocariasis. *Parasite Immunology*, v. 30, p. 187-190, 2008.

ELEFANT, G.R.; SHIMIZU, S.H.; SANCHES, M.C.; JACOB, C.M.; FERREIRA, A.W. A serological follow-up of toxocariasis patients after chemotherapy based on the detection of IgG, IgA, and IgE antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, v. 20, p. 164-72. 2006

FACCIOLI, L.H.; MEDEIROS, A.L.; MALHEIRO, A.; PIETRO, R.C.; JANUARIO, U.M.; VARGAFTIG, B.B. Interleukin-5 modulates interleukin-8 secretion in eosinophilic inflammation. *Mediators of Inflammation*, v. 7, p. 41-47, 1998.

FAN, C.K. ; LIN, Y.H. ; DU, W.Y. ; SU, K.E. Infectivity and pathogenicity of 14-month-cultured embryonated eggs of *Toxocara canis* in mice. *Veterinary Parasitology*, v. 113, p. 145-155, 2003.

FENOY, S.; RODERO, M.; PONS, E.; AGUILA, C.; CUÉLLAR, C. Follow-up of antibody avidity in BALB/c mice infected with *Toxocara canis*. *Parasitology*, v. 135, p. 725-733, 2008.

- FIELD, A. P. **Discovering statistics using SPSS**. 3. ed. London: Sage publications. 2009.
- FOX, J.L.; HAZELL, S.L.; TOBLER, L.H.; BUSCH, M.P. Immunoglobulin G avidity in differentiation between early and late antibody responses to West Nile virus. *Clinical and Vaccine Immunology*, v. 13, p. 33-36, 2006.
- GLICKMAN, L.T.; SCHANTZ, P.M.; GRIEVE, R.B. Toxocariasis. In: *Immunodiagnosis of Parasitic Diseases: Helminthic diseases*. Academic Press: London, p. 201-231, 1986.
- GRAY-ANDRIEU, F.; FRICKER-HIDALGO, H.; SICKINGER, E.; ESPERN, A.; BRENIER-PINCHART, M.P.; BRAUN, H.B.; PELLOUX, H. Comparative evaluation of the ARCHITECT Toxo IgG, IgM, and IgG Avidity assays for anti-*Toxoplasma* antibodies detection in pregnant women sera. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*, v. 65, p. 279-287, 2009.
- HEDMAN, K.; ROUSSEAU, S.A. Measurement of avidity of specific IgG for verification of recent primary rubella. *Journal of Medical Virology*, v. 27, p. 288-292, 1989.
- HEDMAN, K.; LAPPALAINEN, M.; SEPPÄIÄ, I.; MÄKELÄ, O. Recent primary *Toxoplasma* infection indicated by a low avidity of specific IgG. *Journal of Infectious Diseases*, v. 159, p. 736-740, 1989
- HOFFMANN, R.P. *Diagnóstico de Parasitismo Veterinário*. Porto Alegre: Sulina, 1987, 155p.
- HÖRAK, P.; TUMMELEHT, L.; TALVIKET, H. Predictors and markers of resistance to neurotropic nematode infection in rodent host. *Parasitology Research*, v. 98, p. 396-402, 2006.
- HÜBNER, J., UHLÍKOVÁ, M., LEISSOVÁ, M. Diagnosis of the early phase of larval toxocariasis using IgG avidity. *Epidemiologie, Mikrobiologie, Immunologie*, v. 50, p. 67-70, 2001.
- JIN, Z.; AKAO, N.; OHTA, N. Prolactin evokes lactational transmission of larvae in mice infected with *Toxocara canis*. *Parasitology International*, v. 57, p. 495-498, 2008.
- KANASHIRO, G.P.; CASSÚ, R.N. Anestesia de animais selvagens e de laboratório. In: ANDRADE, S.F. *Manual de Terapêutica Veterinária*, 3.ed., p.727-745, 2008.
- LAPPALAINEN, M.; HEDMAN, K. Serodiagnosis of toxoplasmosis. The impact of measurement of IgG avidity. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, v. 40, p. 81-88, 2004.

LESCANO, S.Z.; NAKHLE, M.C.; RIBEIRO, M.C.S.A.; CHIEFFI, P.P. IgG antibody responses in mice coninfected with *Toxocara canis* and other helminths or protozoan parasites. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 54, p. 145-152, 2012.

MAGNAVAL, J.F.; GLICKMAN, L.T.; DORCHIES, P.; MORASSIN, B. Highlights of human toxocariasis. *Korean Journal of Parasitology*, v. 39, p. 1-11, 2001.

MANHANI, M.N.; RIBEIRO, V.S.; SILVA, D.A.O.; COSTA-CRUZ, J.M. Specific IgG avidity in active and inactive human neurocysticercosis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 65, p. 211-213, 2009.

MARCIPAR, I.S.; RISSO, M.G.; SILBER, A.M.; REVELLI, S.; MARCIPAR, A.J. Antibody maturation in *Trypanosoma cruzi*-infected rats. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. v. 8, p. 802-805, 2001.

MORALES, O.L.; LÓPEZ, M.C.; NICHOLLS, R.S.; AGUDELO, C. Identification of *Toxocara canis* antigens by western blot in experimentally infected rabbits. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 44, p. 213-216, 2002.

MOSTAFA, N.E.; AWAD, A.; SHALABY, M. Low avidity IgG antibodies in diagnosis of recent human schistosomiasis. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, v. 32, p. 979-985, 2002.

MOURA, J.V.L.; SANTOS, S.V.S.; CASTRO, J.M.; CHIEFFI, P.P. Estudo experimental acerca da transmissão vertical de *Toxocara cati* em *Mus musculus*. *Arquivos de Medicina do Hospital da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo*, v. 56, p. 138-140, 2011.

PECINALI, N.R.; GOMES, R.N.; AMENDOEIRA, F.C.; BASTOS, A.C.; MARTINS, M.J.; PEGADO, C.S.; BASTOS, O.M.; BOZZA, P.T.; CASTRO-FARIA-NETO, H.C. Influence of murine *Toxocara canis* infection on plasma and bronchoalveolar lavage fluid eosinophil numbers and its correlation with cytokine levels. *Veterinary Parasitology*, v. 134, p. 121-130, 2005.

REITEROVÁ, K.; TOMASOVICOVÁ, O.; DUBINSKÝ, P. Influence of maternal infection on offspring immune response in murine larval toxocariasis. *Parasite Immunology*, v. 23, p. 361-368, 2003.

SANTARÉM, V.A.; CHESINE, P.A.F.; LAMERS, B.E.L.; ELEFANT, G.R.; GIUFFRIDA, R. Anti-*Toxocara* spp. antibodies in sheep from southeastern Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 179, p. 283-286, 2011.

SANTARÉM, V.A., RUBINSKY-ELEFANT, G., FERREIRA, M.U. Soil-transmitted helminthic zoonoses in humans and associated risk factors. In: Pascucci, S. (Ed.), *Soil Contamination*. Rijeka, InTech. p. 43-66, 2011. Disponível em: <http://www.intechopen.com/articles/show/title/soil-transmitted-helminthic-zoonoses-in-humans-and-associated-risk-factors>. Acesso: 22 de abril 2013.

SOMMERFELT, I.E.; SANTILLÁN, G.; LOPEZ, C.; RIBICICH, M.; FRANCO, A.J. Immunological and hematological response in experimental *Toxocara canis*- infected pigs. *Veterinary Parasitology*, v. 96, p. 127-134, 2001.

TAIRA, K.; PERMIN, A.; KAPEL, C.M. Establishment and migration pattern of *Toxocara canis* larvae in chickens. *Parasitology Research*, v. 90, p. 521-523, 2003.

TEIXEIRA NETO, R.G.; GIUNCHETTI, R.C.; CARNEIRO, C.M.; VITOR, R.W.; COURA-VITAL, W.; QUARESMA, P.F.; KER, H.G.; DE MELO, L.A.; GONTIJO, C.M.; REIS, A.B. Relationship of Leishmania-specific IgG levels and IgG avidity with parasite density and clinical signs in canine leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*, v. 169, p. 248-257, 2010

ZINKHAM, W.H. A review and reassessment indicating two forms of clinical expression: visceral and ocular. *American Journal of Diseases in Children*, v. 132, p. 627-628, 1978.

Tabela 1 - Índice de reatividade (IR) e índice de avidéz (IA%) de IgG detectadas pelo ELISA, em coelhas infectadas experimentalmente com *Toxocara canis*, em diversos momentos pós-infecção (DPI), antes e pós-lactação. Presidente Prudente, 2013.

Grupo/Dias	Pré-Lactação								Pós-lactação			
	0		7		14		21		28		60	
Infectado	IR	IA	IR	IA	IR	IA	IR	IA	IR	IA	IR	IA
1	0,250	NC	0,127	NC	0,851	NC	2,165	52,5	3,323	63,0	4,712	96,4
2	0,685	NC	0,111	NC	0,244	NC	0,278	NO	1,383	55,4	4,587	96,6
3	0,159	NC	0,123	NC	0,756	NC	1,171	51,2	1,573	NO	4,886	97,5
4	0,485	NC	0,196	NC	0,880	NC	3,592	69,9	4,101	72,5	5,106	97,9
5	0,082	NC	0,142	NC	0,171	NC	0,111	NO	0,282	NO	4,457	96,2
6	0,575	NC	0,858	NC	0,959	NC	1,209	76,6	1,715	78,8	5,095	98,4
7	0,300	NC	0,361	NC	1,013	58,2	2,652	81,3	3,715	73,0	NO	NC
8	0,068	NC	0,089	NC	1,089	46,6	3,396	70,7	3,927	90,9	NO	NC
9	0,098	NC	0,158	NC	4,278	86,6	4,472	92,6	4,494	90,2	4,824	95,7
10	0,045	NC	0,098	NC	0,579	NC	2,190	61,9	3,506	74,1	NO	NC
11	0,498	NC	0,196	NC	2,497	58,2	4,063	51,0	4,592	69,3	5,315	99,9
12	NO	NC	0,367	NC	3,889	75,8	NO	NC	4,639	NC	5,074	98,6
Médias	0,30	-	0,24	-	1,064	65,1	2,264	67,52	3,081	74,13	4,895	97,5
Controle												
1	NO	NC	0,377	NC	0,339	NC	0,286	NC	0,397	NC	0,313	NC
2	0,4760	NC	0,271	NC	0,231	NC	0,240	NC	0,228	NC	0,235	NC
3	0,6062	NC	0,728	NC	0,553	NC	0,271	NC	0,265	NC	0,412	NC
4	0,1541	NC	0,086	NC	0,057	NC	0,062	NC	0,089	NC	0,059	NC
5	0,1575	NC	0,116	NC	0,135	NC	0,045	NC	0,082	NC	0,090	NC
Médias	0,348	-	0,316	-	0,263	-	0,181	-	0,212	-	0,222	-

Tabela 2 - Estimativa de coeficientes de correção de Pearson (r), por ponto e intervalo de confiança de 95% (IC95%), entre o índice de reatividade (IR) e o índice de avidéz (IA; %) de IgG detectadas pelo ELISA, em coelhas infectadas experimentalmente com *Toxocara canis*, em diversos momentos pós-infecção (dpi), e nos períodos pré-lactação e pós-lactação. Presidente Prudente, 2013.

Momentos pós-infecção	r	IC 95%	p
Pré-lactação			
(IR X IA) 21 dias	0.3567	-0.64 -0.91	0.4876
(IR X IA) 28 dias	0.4597	-0.56 - 0.93	0.3590
Pós-lactação			
(IR X IA) 60 dias	0.8765	0.36 - 0.98	0.0096*

* p <0,005

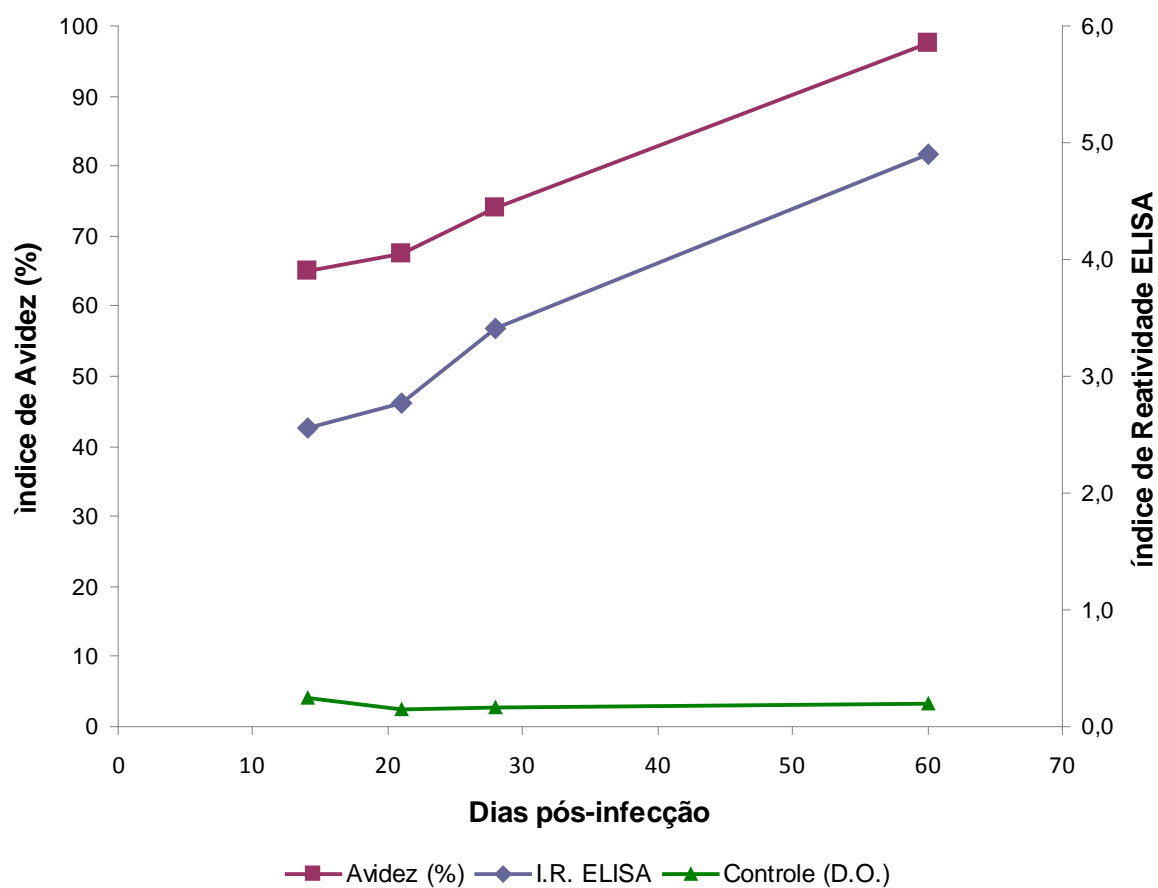


Figura 2 – Índice de Avidéz (IA) (%) e de Reatividade (IR) para anticorpos (IgG) detectados pelo ELISA, em coelhas infectadas experimentalmente com *Toxocara canis*, em diversos momentos pós-infecção (DPI), e nos períodos pré-lactação e pós-lactação (60 DPI).

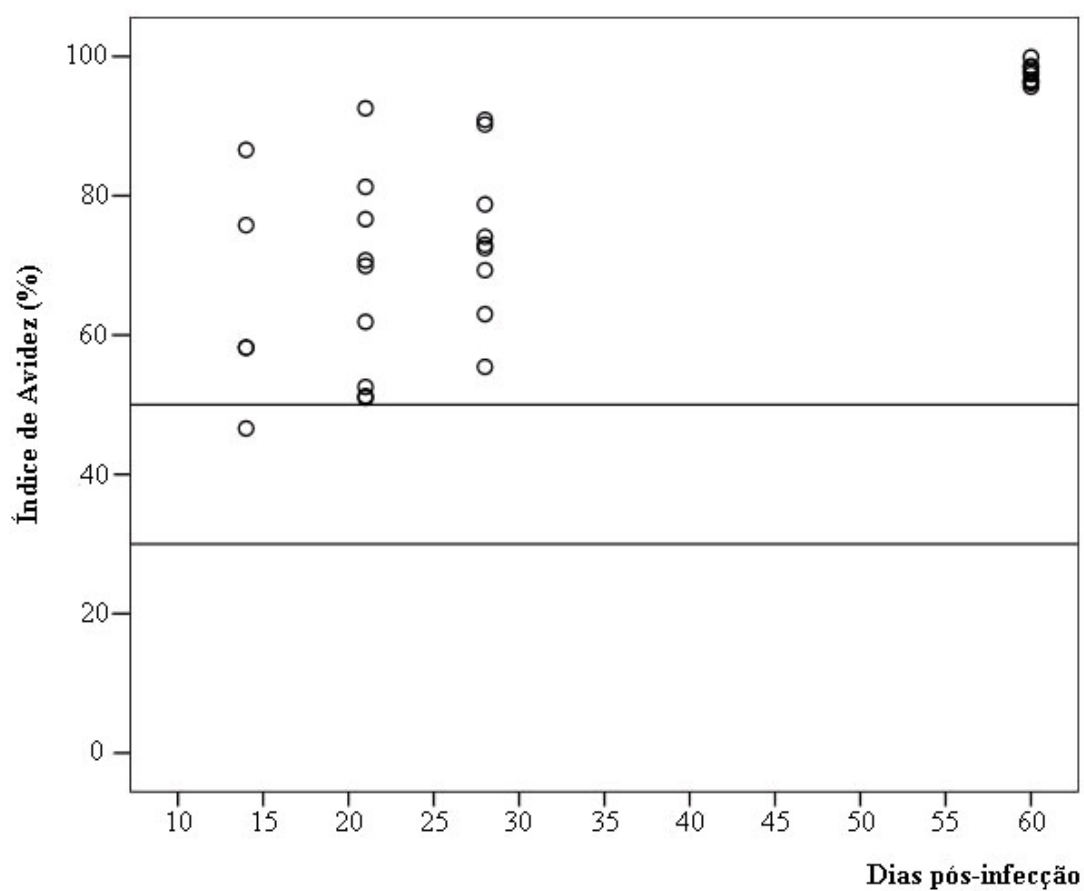


Figura 3. Classificação do Índice de Avidez (%) de IgG anti-*Toxocara canis* em coelhas infectadas experimentalmente, detectados pelo ELISA, em diversos momentos pós-infecção (DPI), e nos períodos pré-lactação e pós-lactação (60 DPI). Classificação do IA: menor que 30: predomínio de baixa avides; maior ou igual a 30 e menor que 50: predomínio de média avides; igual ou maior que 50: predomínio de alta avides.

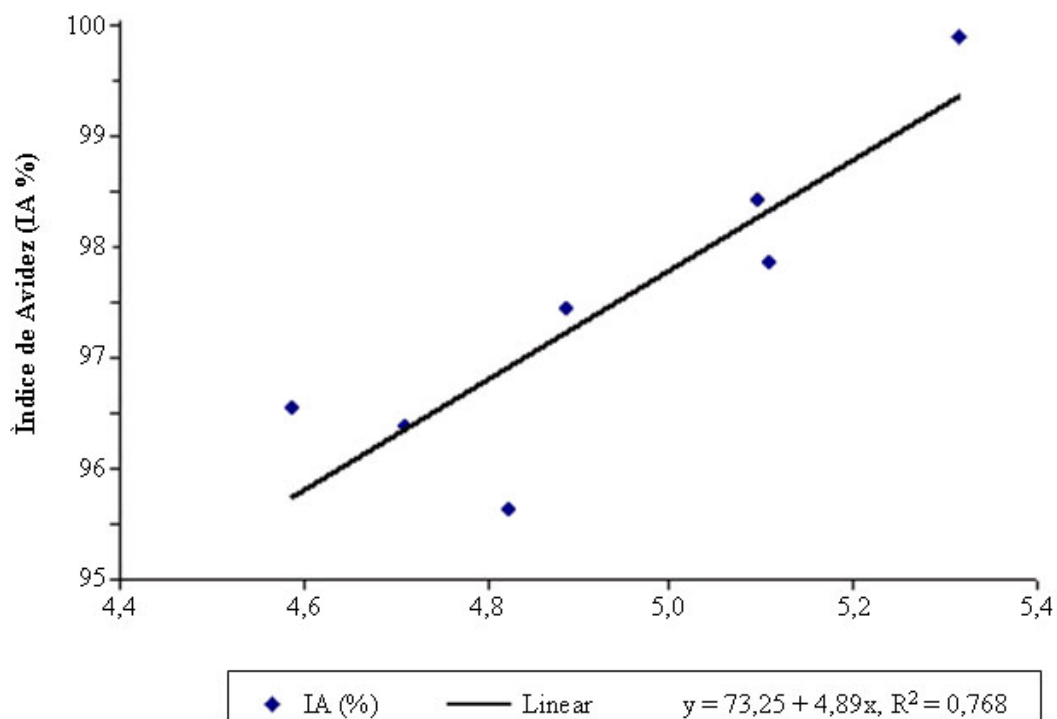


Figura 4. Correlação entre o Índice de Avidéz (IA%) de IgG anti-*Toxocara canis* em coelhas infectadas experimentalmente, detectados pelo ELISA, um dia pós-lactação (60 dias pós-infecção).