

**DETECÇÃO DE LARVAS DE *Toxocara canis* NO LEITE DE  
COELHAS INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE**

**CÉLIA FÁTIMA SILVA EXPOSTO**

**DETECÇÃO DE LARVAS DE *Toxocara canis* NO LEITE DE  
COELHAS INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE**

**CÉLIA FÁTIMA SILVA EXPOSTO**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria e Pós-Graduação da Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título e Mestre em Ciência Animal.

Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Vamilton Alvares Santarém

636.089.59  
E96e

Exposto, Célia Fátima Silva.

Detecção de larvas de *Toxocara canis* no leite de coelhas infectadas experimentalmente. Célia Fátima Silva Exposto. - Presidente Prudente: [s.n.], 2011.  
48f.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) –  
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE:  
Presidente Prudente – SP, 2011.

Bibliografia

1. Toxocaríase. Infecção transmamária. Ciclo.

**CÉLIA FÁTIMA SILVA EXPOSTO**

**DETECÇÃO DE LARVAS DE *Toxocara canis* NO LEITE DE  
COELHAS INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE**

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

Presidente Prudente, 29 de setembro de 2011.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr Vamilton Alvares Santarém  
Curso de Mestrado em Ciência Animal  
Universidade do Oeste Paulista  
Presidente Prudente – SP

---

Prof. Dra Lúcia Helena O'Dwyer  
Instituto de Biociências  
Universidade Estadual Paulista - UNESP  
Botucatu – SP

---

Prof. Dr. Rogério Giuffrida  
Curso de Mestrado em Ciência Animal  
Universidade do Oeste Paulista  
Presidente Prudente - SP

## **DEDICATÓRIA**

*Dedico este trabalho a Deus, por mais uma vitória alcançada e por todas as bênçãos concedidas.*

*A minha mãe, que com carinho e dedicação me ensinou a acreditar em mim e não recuar diante das dificuldades.*

*Ao meu esposo e amigo Elpídio, pelo carinho, paciência, por caminhar ao meu lado e me amparar nas minhas fraquezas.*

## **AGRADECIMENTOS**

*A Deus por iluminar, abençoar e por no meu caminho anjos, responsáveis pelo êxito de mais essa etapa na minha vida.*

*Ao professor, orientador e amigo Dr. Vamilton Alvares Santarém por me aceitar como orientada, pelo carinho, dedicação, por estar presente em todas as etapas do trabalho, pelos ensinamentos e por tornar possível a realização de um sonho.*

*Ao meu pai, José Inácio (in memorian), por ter me acolhido como filha, pelos ensinamentos que auxiliam nas minhas decisões e que contribuem para o meu crescimento.*

*Ao meu mestre Roald Corrêa, dono de uma sabedoria infindável a quem aprendi a amar e respeitar pelos exemplos de humildade e doação*

*À professora Dra. Rosa Maria Barilli Nogueira, membro da banca de qualificação pela atenção e pelas palavras de incentivo.*

*À professora Dra. Cecília Braga Laposy, pelo carinho, dedicação, pelas palavras de conforto que me ajudaram a seguir nos momentos difíceis.*

*Ao professor Paulo, pelo carinho, pela disponibilidade em ouvir, por mostrar os erros e apontar o caminho para a correção dos mesmos.*

*À equipe do Biotério, pela dedicação e cuidados com os animais, pelo carinho dispensado a nós durante todo o trabalho.*

*Aos meus amigos do curso, pela amizade, pelos momentos felizes me proporcionaram, pelas idéias compartilhadas.*

*Às amigas, Sueli e Marcela que me acolheram na sua casa durante todo o curso.*

*Aos meus amigos de trabalho pelo incentivo, pela divisão de tarefas durante minhas ausências do trabalho, por estarem sempre do meu lado.*

*À Secretária Municipal de Saúde de Ourinhos Lúcia Yassuê Tutui Nogueira e a diretora da Vigilância Epidemiológica Lília Sionéia Beccheri, por acreditarem em mim permitindo minhas ausências do trabalho para realizar o curso.*

*A todos que de alguma maneira fizeram parte dessa trajetória.*

*Muito obrigada!*

*“Mesmo que as pessoas mudem e suas vidas se reorganizem, os amigos devem ser amigos para sempre, mesmo que não tenham nada em comum, somente compartilhar as mesmas recordações”.*

*(Vinícius de Moraes)*



## RESUMO

### **Deteção de larvas de *Toxocara canis* em leite de coelhas infectadas experimentalmente**

Com objetivo de estudar a possibilidade de transmissão de larvas pela via transmamária em coelhos, doze coelhas (Nova Zelândia) nulíparas foram infectadas com 1000 ovos larvados de *T. canis*, por via oral. Outras cinco coelhas receberam oralmente solução fisiológica e serviram como controle. Um mês após a inoculação, cada quatro coelhas foram acasaladas individualmente com um coelho. Após o nascimento dos filhotes nos dias 7, 14 e 21, foram coletados por ordenha manual 500µL de leite. Para deteção de anticorpos (IgG), amostras de sangue foram colhidas das matrizes nos momentos pré-infecção (0) e pós infecção (7, 14, 21 e 28) e um dia após o desmame da primeira gestação, pela técnica de ELISA. Para recuperação das larvas, foi adotada a técnica do formol-éter. Observou-se a presença de larvas em cinco das doze (41,7%) coelhas infectadas. O número total de larvas recuperadas foi de 20, variando de 1 a 4 por lactação. A presença das larvas foi observada apenas nos 14<sup>o</sup> (9 larvas; 45%) e 21<sup>o</sup> dias (11 larvas; 55%) de lactação, sem diferença significativa entre as contagens ( $p=0,7386$ ). A presença de larvas de *T. canis* diretamente do leite de coelhas mostra a possibilidade de transmissão lactogênica em hospedeiros paratênicos.

**Palavras-chave:** Toxocaríase; Infecção transmamária; Ciclo.

## ABSTRACT

### Detection of larvae of *Toxocara canis* in milk from experimentally infected rabbits

The aim of this study was to evaluate the possibility of transmammary transmission of *Toxocara canis* larvae in rabbits. Nulipars white New Zealand female rabbits were distributed in two groups. Twelve animals were inoculated by oral route with 1.000 *T. canis* embryonated eggs, whereas five animals were uninfected (control group). One month following infection, the females were mated. Manual sample collections of 500µL milk were performed on +7, +15 and +21 days of lactation. ELISA test was run in order to detect serum antibodies (IgG) from blood samples collected from the nurses on the pre-infection (0) and post-infection (7, 14, 21 and 28) period as well as on the day following the wean. The recovery of larvae in milk was performed by the ether-formalin technique. The material was centrifuged at 2.000 rpm for 10 min (2.000 rpm; 697g) and the sediment was microscopically analyzed (10X). The presence of larvae was observed in milk samples released by 5 out of the 12 (41.7%) infected rabbits. Total number of recovered larvae was 20, ranging from 1 to 4 larvae by lactation period. Larva were observed on days +14 (9 larvae; 45%) and +21day (11 larvae; 55%). No significant difference by comparing the counting ( $p=0.7386$ ). In conclusion, the presence of larvae in milk rabbit samples pointed out the possibility of galactogenic transmission of *T. canis* in paratenic hosts.

**Key words:** Toxocariasis; Transmammary infection; Cycle.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	11
REFERÊNCIAS.....	21
2 ARTIGO CIENTÍFICO: Detecção de larvas de <i>Toxocara canis</i> no leite de coelhas infectadas experimentalmente.....	29
APÊNDICES.....	45

## 1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

A toxocaríase é uma zoonose causada por nematódeos do gênero *Toxocara* spp. Esses parasitas pertencem ao Filo Nematelminthes; Classe Nematoda; Ordem Ascaridata; Família Toxocaridae (FOREYT, 2005). Algumas espécies de *Toxocara* estão relacionadas à toxocaríase humana, sendo *T.canis* e *T. cati* as mais estudadas. *Toxocara canis* tem sido considerado como principal agente etiológico da síndrome da toxocaríase (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981).

O parasito adulto vive no intestino do cão, mede aproximadamente de 4 a 18 cm de comprimento e as fêmeas são capazes de produzir diariamente 200.000 ovos, que são eliminados nas fezes dos animais (SCHANTZ, 1989). Os ovos de *T. canis* são muito resistentes, podem permanecer viáveis por tempo prolongado no solo em situações adversas como: fatores climáticos e a ação de agentes químicos. (BARRIGA, 1988).

A transmissão do nematódeo para o cão ocorre pela ingestão de ovos embrionados presentes no meio ambiente, da cadela para os filhotes pelas vias transmamária e transplacentária, ou, ainda, pela ingestão de hospedeiros paratênicos, como roedores e aves (NIEC, 1980).

Após a ingestão do ovo embrionado pelo cão, as larvas são liberadas no estomago e intestino, penetram na mucosa intestinal, invadem a corrente sanguínea ou linfática chegando ao fígado em 24 horas, através da circulação as larvas migram para o coração e pulmões. Algumas larvas passam dos bronquíolos para a traquéia e laringe e depois de deglutidas completam no intestino delgado seu desenvolvimento, tornando-se verme adulto e passando a eliminar ovos após 4 a 5 semanas (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981).

Os ovos eliminados nas fezes não são embrionados, passam a ser infectantes cerca de duas a cinco semanas desde que em temperaturas e umidade ambientais adequadas (SCHANTZ, 1989).

Na infecção transplacentária, a migração larvária ocorre após o quadragésimo segundo dia de gestação. Depois de passar pela placenta, as larvas, permanecem no fígado do filhote até o nascimento, quando atinge os pulmões, migram para a traquéia e sofrem maturação no intestino, aparecendo nas fezes na quarta semana de vida (SOULSBY, 1991). O estímulo para essa migração tem sido atribuído às alterações hormonais durante a gestação da cadela (FOREYT, 2005).

Do ponto de vista ambiental e epidemiológico, a transmissão transplacentária é muito importante, devido aos filhotes nascerem com alto grau de parasitismo e pelo contato que existe entre esses animais e crianças (WOODRUF, 1970).

Por via lactogênica, as larvas podem ser transmitidas da cadela para os filhotes desde a ingestão do colostro até 45 dias de lactação, com pico máximo na segunda semana (BARRIGA, 1988).

Em animais adultos, a ocorrência da doença é baixa, uma vez que as larvas que migram para os tecidos permanecem em hipobiose (ACHA; SZYFRES, 1986). No entanto, em casos em que há comprometimento na resposta imune desses animais, o ciclo hepato-traqueal se completa e as larvas chegam à sua forma adulta no intestino, produzindo grande quantidade de ovos (BARRIGA, 1991). Os ovos eliminados nas fezes não são embrionados, passam a ser infectantes cerca de duas a cinco semanas desde que em temperaturas e umidade ambientais adequadas (SCHANTZ, 1989).

O ciclo biológico de *T. cati* é semelhante ao ciclo de *T. canis*, porém nos gatos não ocorre a transmissão transplacentária (SCHANTZ; GLICKMAN, 1983).

A doença ocorre no cão sob forma aguda em animais com até quatro semanas de idade, os sinais clínicos envolvem diarreia, flatulência, distensão abdominal, desidratação e retardo no desenvolvimento (NIEC, 1980; FOREYT, 2005).

Além de ocasionar a doença em cães, *T. canis* é responsável por uma das mais prevalentes zoonoses em países desenvolvidos e em desenvolvimento (MAGNAVAL et al., 2001). A doença tem distribuição mundial, mas é pouco reconhecida como problema de saúde pública (ALTCHEH et al., 2003). Atualmente a toxocaríase consta na lista das enfermidades negligenciadas pelas autoridades sanitárias (HOLTEZ; WILKINS, 2009).

A principal via de transmissão da toxocaríase ao homem se dá pela ingestão acidental de ovos larvados presentes no solo de ambientes contaminados, como praças e parques públicos (SCHANTZ, 1989). No Brasil, a contaminação de áreas de lazer públicas varia de 17,4%, em Lavras, MG (ALVES et al., 2004) a 91,7%, em Santa Maria, RS (CORRÊA et al., 1995).

Estudos revelam que as crianças são as mais suscetíveis devido à atração por cães, principalmente filhotes, hábitos geofágicos e oncofágicos (ALONSO et al., 2000; ALDERETE et al., 2003; COELHO, 2004).

A infecção humana pode ser ainda pela ingestão de carne crua ou mal cozida de hospedeiros paratênicos como coelho (STÜRCHLER et al., 1990), ovino (SALEM; SCHANTZ, 1992; ALDAWEK et al., 2002; SANTARÉM et al., 2011), suíno (FAN et al., 2004a), frango (MORAMATSU et al. 2006) e bovino (ESPAÑA et al., 1993; YOSHIKAWA et al., 2008a, b; PARK et al., 2011; YOSHIKAWA et al., 2011). Kwon et al. (2006) concluíram que em adultos com o hábito de ingerir carne crua, a prevalência é 7,8% maior do que aqueles que não apresentam o hábito. No Japão, Enko et al. (2009) descreveram um caso de miocardite eosinofílica fulminante causada pela reação de hipersensibilidade em uma pessoa do sexo masculino de 19 anos, que tinha o hábito ingerir carne crua. Na Espanha, España et al.(1993), relataram um caso de urticária e eosinofilia decorrente de toxocaríase ocasionada pela ingestão de fígado cru.

A manifestação clínica da toxocaríase humana depende de vários fatores: quantidade da carga parasitária, padrão de migração e distribuição das larvas nos tecidos e resposta imune do hospedeiro (JACOB et al., 1987; SCHANTZ, 1989).

Raves e Lambertucci (1999), após estudo experimental em modelo murino, relatam que a presença de larvas de *T. canis* nos órgãos induz a formação de granuloma que favorecem a aderência e a multiplicação de bactérias, as alterações imunológicas induzidas pelas larvas levam a um estado de imunodeficiência, permitindo a disseminação das bactérias e a instalação das mesmas em vários órgãos.

Quando o tamanho das larvas excede o diâmetro dos capilares sanguíneos, ocorre uma migração errática através da parede do endotélio e dos tecidos do hospedeiro, desencadeando uma reação inflamatória aguda, com presença de eosinófilos, neutrófilos e alguns monócitos (LAMBERTUCCI et al., 1996). Na fase migratória das larvas, há liberação de produtos metabolicamente ativos e antigênicos. Os antígenos de excreção e secreção (TES) se localizam na epicutícula das larvas agindo como receptores importantes para anticorpos (CAMPOS JUNIOR et al., 2003).

A toxocaríase humana, de acordo com a migração das larvas, pode ocorrer de três formas: Síndrome da larva migrans visceral (LMV), Síndrome da larva migrans ocular (LMO) e a forma oculta.

A síndrome da LMV pode acometer vários órgãos podendo ocasionar problemas neurológicos (VIDAL et al., 2003; BÄCHLI et al., 2004; MOREIRA-SILVA et al., 2004; HELBOK et al., 2007; MAIGA et al., 2007; NICOLETTI et al., 2007) e respiratórios (INOUE et al., 2002; ALDERETE et al., 2003; TONELLI, 2005; FIGUEREDO et al., 2005; FERREIRA et al., 2007; BEDE et al., 2008). Existem ainda relatos de hepatopatias, abscessos piogênicos do fígado (RAYES et al. 2001; ALTCHER et al., 2003), dermatopatias como pruridos, urticárias e eczemas (ISMAIL e KHALAFALLAH, 2005; GAVIGNET et al., 2008), efusão pleural (ASHWATH et al., 2004), pericárdica (MATSUKI et al., 2007) e pancreatite (D'ONOFRIO et al., 2006).

A LMO é caracterizada por lesões oculares relacionadas com a presença intra-ocular das larvas. A doença normalmente é unilateral, são descritos casos de endoftalmite (MORI, et al., 2007), estrabismo e uveíte (AZAR, et al., 2004) em crianças. A larva atinge o olho via sistema circulatório e pode levar alguns casos à cegueira (ZINKHAN, 1978).

Stangogiannis et al. (2007) demonstraram que em ratos infectados experimentalmente, ocorrem importantes alterações histológicas nas estruturas celulares do olho causadas pela infecção por *T. canis*. A retina é a estrutura mais acometida com congestão dos vasos, hemorragias, principalmente no espaço a nível sub-retiniano.

O termo toxocaríase oculta (“Covert Toxocaríase”) foi proposto para classificar pacientes que não se enquadravam na forma visceral e ocular. Bass e Mehta (1983) utilizaram esse termo após estudos com crianças assintomáticos com sorologia positiva para *T. canis*. Taylor et al. (1987) relataram formas clínicas com sintomas inespecíficos. Magnaval et al. (2001) descreveram uma forma atípica da toxocaríase, observada com maior frequência no sexo feminino, com o quadro de astenia crônica, sintomas cutâneos, dor no hipocôndrio direito, eosinofilia moderada e altos níveis de anticorpos anti-*Toxocara*.

Schantz e Glickman (1983) relataram que as alterações laboratoriais mais comuns são: eosinofilia e leucocitose. A eosinofilia é específica, mas a ausência da eosinofilia não exclui o diagnóstico. Manifestações atípicas podem se apresentar com números normais de eosinófilos.

A dosagem sérica de imunoglobulinas revela a elevação especialmente de IgG, IgM e IgE. Devido à presença de antígenos semelhantes entre a larva e as hemácias, ocorre aumento do nível sérico de isohemaglutinina anti-A e Anti-B (ABE-JACOB et al., 1984)

O exame parasitológico é sempre negativo, pois o nematódeo não completa o ciclo biológico no homem. Métodos imunodiagnóstico para a detecção de anticorpos específicos no soro, nos fluídos oculares e no líquido são utilizados (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981).

Testes de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay- Ensaio Imunoenzimático de Imunoabsorção), Western Blotting e teste imuno-histoquímico têm sido os mais empregados para detecção de anticorpos, para auxiliar no diagnóstico da toxocaríase humana (RUBINSKY-ELEFANT et al., 2001).

No Brasil, vários estudos demonstram que a densidade populacional de cães em áreas urbanas representa importante associação com a infecção humana e a diferença de prevalência da doença em populações de níveis econômicos diferentes aponta como fator de risco, as condições sanitárias e o baixo nível cultural (LYNCH et al., 1988; COELHO et al, 2001; ANARUMA- FILHO et al., 2002; CAPUANO & ROCHA, 2005; MURADIAN et al, 2005; SANTARÉM et al, 2010; CASSENOTE, et al, 2011).

O inquérito sorológico para a toxocaríase humana tem apontado taxas variadas de prevalência. Estudos demonstram sua ocorrência em todos os continentes (Quadro 1).

Na tentativa de entendimento da toxocaríase em humanos, modelos experimentais têm sido adotados para compreender o comportamento migratório das larvas, alterações patológicas ocasionadas pelo agente na resposta imune do hospedeiro, ação de anti-helmintos e antiinflamatórios utilizados no tratamento da doença, (Quadro 2). Bárdon et al. (1994) afirmam que o modelo murino é o mais adequado para estudo da infecção humana.



**QUADRO 1-** Soroprevalência da toxocaríase humana em diferentes continentes

Continente/País	Localidade	Número d Amostras	Frequência (%)	Referência
<b>África</b>				
	Diversos países	387 <sup>C</sup>	92,8	Magnaival et al. (1994)
<b>Américas</b>				
U.S. A	Várias regiões	20395 <sup>A</sup>	13,9	Won et al. (2008)
Argentina	La Plata	156 <sup>aC</sup>	46,9	Radman et al. (2000)
	Resistencia	206 <sup>C</sup>	37,9	Alonso et al. (2000)
Brasil	Pres. Prudente	252 <sup>C</sup>	11,1	Santarém et al. (2011)
	Granada	403 <sup>AC</sup>	26,8	Rubinsky-Elefant et al. (2008)
	Teodoro Sampaio	79 <sup>AC</sup>	21,5	Prestes-Carneiro et al. (2008)
	Assis Brasil e Acrelândia	606 <sup>C</sup>	21,5	Ferreira et al. (2007)
	São Paulo	338 <sup>C</sup>	26,9	Muradian et al. (2005)
	São Paulo	208 <sup>C</sup>	54,8	Figueiredo et al. (2005)
	Sorocaba	180 <sup>C</sup>	38,3	Coelho et al. (2004)
	São Paulo	399 <sup>C</sup>	38,8	Alderete et al. (2003)
	Campinas	138 <sup>AC</sup>	27,7	Anaruma et al. (2002)
	Peru	Lima	303 <sup>AC</sup>	20,5
<b>Ásia</b>				
Irã	Sari	121 <sup>C</sup>	25,0	Sharif et al. (2010)
Tailândia	Distritos Leste	329 <sup>C</sup>	76,6	Fan et al. (2004b)
<b>Europa</b>				
Espanha	Santiago de Compostela	463 <sup>A</sup>	28,6	Gonçaléz-Quintela et al. (2006)

Estudos realizados com a população adulta<sup>A</sup> e Criança<sup>C</sup>

**QUADRO 2** - Infecção experimental com ovos de *Toxocara canis* utilizando modelo murino

Estudo	Número de ovos	Referências
Migração	500	Lescano et al. (2004)
	1000	Abo-Sherada; Herbert. (1984)
		Samanta & Ansari. (1990)
		Bárdon et al. (1994)
		Xin e Jin. (1998)
		Cho et al. (2007)
2000	Abo-Sherada; Herbert (1984)	
3000	Burren, (1972)	
Alterações patológicas e Resposta imune	05	Kayes, (1997)
	100	Kuroda et al. (2001)
	200	Rogério et al. (2003)
		Camparoto et al.(2008)
	500	Hokibara et al.(1998)
	1000	Buijs et al. (1994)
		Reiterová et al. (2003)
		Pinelli (2005)
		Pecinali et al. (2005)
		Hörak et al. (2006)
Camparoto et al. (2008)		
4000	Cuéllar et al. (2000)	
Farmacologia	300	Lescano et al. (2004)
	1000	Fok e Kassai et al. (1997)
		Lescano et al. (2005)
	1500	Minvielle et al. (1999)
Patologia	1000	Stangogiannis et al. (2007)
		Ollero et al. (2007)

Nos estudos sobre migração das larvas de *T. canis*, os órgãos avaliados foram o fígado e musculatura esquelética (BARDON et al., 2004; LESCANO et al., 2004; CHO et al., 2007), sistema nervoso central (BURREN, 1972; ABO-SHERADA; HERBERT, 1984; BARDON et al., 1994; LESCANO et al., 2004; REITEROVÁ et al., 2003; TELMO, 2006; DIAS et al., 2010), pulmão (ABO-SHERADA; HERBERT, 1984; BARDON et al., 1994; CHO et al., 2007) e intestino (ABO-SHERADA; HERBERT, 1984) em murinos.

Até o momento, as formas de transmissão de *T. canis* ao ser humano são conhecidas pela ingestão acidental de solo contendo ovos larvados, de carne crua ou mal cozida de hospedeiros paratênicos (STÜRCHLER et al., 1990; SALEM; SCHANTZ, 1992; ESPAÑA et al., 1993; ALDAWEK et al., 2002; FAN et al., 2004a; MORAMATSU et al., 2006; YOSHIKAWA et al., 2008a,b; PARK et al., 2011; YOSHIKAWA et al., 2011; SANTARÉM et al., 2011)..

Em Córdoba, Argentina, Maffrand et al. (2006) relataram um caso de toxocaríase em um recém nascido prematuro (oito meses de gestação) com lesão ocular ocasionada por *Toxocara* spp., mostrando a possibilidade de infecção transplacentária em seres humanos.

Na literatura consultada, não foram observadas referências sobre a transmissão de larvas via galactogênica em humanos. Alguns estudos experimentais têm sido realizados, com recuperação das larvas mediante processo de digestão dos tecidos dos animais após sacrifício dos mesmos.

Burke e Robson (1985) realizaram a infecção experimental em 10 cadelas da raça Beagle. Os animais foram divididos em dois grupos. O grupo 1 foi infectado por via subcutânea, dois meses antes do acasalamento, com 6000 ovos de *T. canis*. O grupo 2 foi utilizado como controle. Após o nascimento, os filhotes nascidos dos animais do grupo 1 passaram a ser amamentados pelas cadelas do grupo 2 e vice-versa. Os autores observaram uma recuperação de 2,3% das larvas (680/6000), sendo que 98,5% (670/680) foram transmitidas via transplacentária e 1,5% (10/680) foram transmitidas pelo leite.

Reiterová et al. (2003) estudaram a transmissão transmamária de larvas de *T. canis* em 66 fêmeas de camundongos. Foram formados 4 grupos. As fêmeas do grupo um (G1) e do grupo dois (G2) receberam, por via oral, 1000 ovos larvados de *T. canis*. O grupo 1 foi infectado no dia do acasalamento (infecção precoce), enquanto o grupo 2 no 14<sup>o</sup> dia de gestação (infecção tardia). Dois grupos

foram utilizados como controle. A lactação dos camundongos foi realizada de tal forma que os camundongos gerados por fêmeas não infectadas fossem amamentados por fêmeas infectadas (G1 e G2). As larvas foram recuperadas do cérebro e tecido muscular por digestão ácida, nos dias 0, 1, 3, 5,7, 10, 14 e 21 após o nascimento dos animais. Os autores observaram a primeira ocorrência de larvas no 5º dia após o nascimento (média de 6,6 e 6,0 larvas nos animais amamentados pelas fêmeas do G1 e G2, respectivamente), com aumento progressivo (14,9 e 17,6 larvas, nos animais que receberam leite dos animais do G1 e G2, respectivamente), não havendo diferença entre o número de larvas da prole infectada precoce ou tardiamente.

Telmo, (2006) realizou a infecção experimental em dois camundongos fêmea Balb/c com 1200 ovos embrionados de *T. canis* por via intragástrica, após o parto dos animais. Os filhotes foram desmamados após 21 dias e com 50 dias foram sacrificados. O autor confirmou a transmissão transmamária, uma vez que 73,9% dos animais estavam infectados, larvas vivas do parasito foram encontradas em todas as ninhadas.

Jin et al. (2008) infectaram dois camundongos com 300 ovos de *T. canis* logo após o parto. A prole foi dividida em dois grupos e sacrificada em períodos distintos, 7 e 14 dias após o nascimento. No primeiro grupo, encontraram 7 larvas e no outro 101 larvas. Complementando o estudo, os autores realizaram a infecção em 6 camundongos com o mesmo número de ovos utilizados no primeiro experimento. Foram administrados 5mg de Prolactina, 14 dias consecutivos, antes do parto e após o parto. Nos exames realizados foram encontradas larvas de *T.canis* na glândula mamária dos animais. Os autores admitem que estes resultados apontam a prolactina como um dos fatores de promoção para a transmissão de larvas de *T. canis* em camundongos durante a gestação.

Dias et al. (2010) relataram a infecção transmamária em camundongos infectados experimentalmente por ovos de *T. canis* por via intragástrica. Foram formados 4 grupos. As fêmeas do grupo um (G1), recebeu 2500 ovos, o grupo dois (G2) 1200. Os grupos três e quatro (G3 e G4) foram utilizados como controle. Foi observada a infecção em camundongos gerados por fêmeas do grupo controle (G3 e G4) e amamentados por fêmeas infectadas (G1 e G2). Dos 21 animais gerados pelo grupo G3, 85,7% estavam positivos, e dos 33 animais gerados pelo grupo G4 15,2%

estavam positivos. Segundo os autores esses resultados confirmam a transmissão transmamária.

Em coelhos não foi encontrado nenhum trabalho que avaliasse a possibilidade de infecção transmamária por *T. canis*. Nesses animais, a infecção experimental tem sido realizada para avaliação hematológica (LUKES, 1985), da migração ocular (DZBENSKI et al., 2001) e da identificação de antígenos (MORALES et al., 2002).

Nos trabalhos consultados não foram encontradas referências à recuperação das larvas diretamente no leite, todas foram através da digestão dos tecidos, após o sacrifício dos animais. Dessa forma, justifica-se o estudo sobre a detecção de larvas de *toxocara canis* em coelhas infectadas experimentalmente, diretamente no leite, uma vez que o comportamento dessas larvas pode ser utilizado para o entendimento da migração do parasito em seres humanos.

## REFERÊNCIAS

- ABE-JACOB, C.M. et al. Larva migrans visceral por *toxocara canis*. Estudo das características clínicas e laboratoriais de 7 casos humanos. **Revista Associação Médica Brasileira**, v. 30, p. 187-191, 1984.
- ABO-SHERADA, M.N.; HERBERT, I.V. The migration of larval *Toxocara canis* in mice II. Pos-intestinal migration in primary infections. **Veterinary Parasitology**, v.17, p.75-83, 1984.
- ACHA P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles al hombre y a los animales**, 2. Ed. Organización Mundial de La Salud: Washington, 1986.
- ALDAWEK, A.M. et al. Larval toxocariasis in sheep: The immunohistochemical characterization of lesions insome effected organs. **Veterinary Parasitology**, v. 105, p. 207-214, 2002.
- ALDERETE, J.M.S. et al. Prevalence of *Toxocara* infection in schoolchildren from Butantã region, São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 593-597, 2003.
- ALONSO, J.M. et al. *Toxocara* seroprevalence in children from a subtropical city in Argentina. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.42, p. 235-237, 2000.
- ALTCHEH, J. et al. Toxocariasis: Aspectos clínicos y de laboratorio em 54 pacientes. **Anais de Pediatria**, v. 58, p. 425-431, 2003.
- ALVES, E.G.L. et al. Prevalência de ovos de *Toxocara* sp e ovos de *Ancylostoma* sp. em amostras de solo de praças públicas e áreas de recreação infantil de Lavras, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, sup. 1, p. 252-252, 2004.
- ANARUMA- FILHO, F. et al. Human toxocariasis: a seroepidemiological survey in the municipality of Campinas (SP), Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.44, p. 303-307, 2002.
- ASHWATH, M.L.; ROBINSON, D.R.; KATNER, H.P. A presumptive case of toxocariasis associated with eosinophilic pleural effusion: Case report and literature review. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 71, p. 764, 2004.
- AZAR, D.M. et al. Pediatric uveitis: Sidney clinic experience. **Clinical Experimental Ophthalmology**, v. 32, p. 468-471, 2004.
- BÄCHLI, H.; MINET, J.C.; GRATZL, O. Cerebral toxocariasis: a possible cause of epileptic seizure in children. **Childrens Nervous System**, v. 20, p. 468-472, 2004.
- BASS, J.L.; MEHTA, K.A. Clinically unapparent *Toxocara* infection in children. **New England Journal of Medicine**, v. 308, p. 723-724, 1983.

BARDÓN, R. et al. Larval distribution of *Toxocara canis* in BALB/c mice at nine weeks and one year post- inoculation. **Journal of Helminthology**, v. 68, p. 357-360, 1994.

BARRIGA, O.O. A Critical look at the importance, prevalence and control of toxocariasis and the possibilities of immunological control. **Veterinary Parasitology**, v. 82, p. 195-234, 1988

BARRIGA, O.O. Rational control of canis toxocariasis by the veterinary practioner. **Journal of the American Veterinary Medical Associatin**, v.198, p. 216- 221, 1991.

BEDE, O. et al. Toxocariasis associated with chronic cough childhood: a longitudinal study in Hungary. **Journal of Helminthology**, v. 82, p. 357- 363, 2008.

BUIJS, J. et al. *Toxocara* Soroprevalence in 5- year. Relation with allergic- asthma. **American Journal Epidemiology**, v. 140, p. 839- 847, 1994.

BURKE, T.M.; ROBERSON, E.L. Prenatal and lactational transmission of *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*: experimental infection of the bitch before pregnancy. **International Journal for Parasitology**, v. 15, p. 71-75, 1985.

BURREN, C.H. The distribution of *Toxocara canis* larvae in the central nervous system of rodents. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 66, p. 937-946, 1972.

CAMPAROTO, M.L. et al. Initial stage of development and migratory behavior of *toxocara canis* larvae in Balb/c mouse experimental model. **Genetic Molecular Research**, v. 7, p. 444-450, 2008.

CAMPOS JUNIOR, D. et al. Frequência de soropositividade para antígenos de *Toxocara canis* em crianças de classes sociais diferentes. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 36, p. 509-513, 2003.

CAPUANO, D.M; ROCHA, G.M. Environmental contamination by *toxocara* sp. Eggs in Ribeirão \preto, São Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 47, p. 223-226, 2005.

CASSENOTE, A.J.F. et al. Contaminação do solo por ovos de geo-helminthos com potencial zoonótico na municipalidade de Fernandópolis, Estado de São Paulo entre 2007 e 2008. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 371-374, 2011.

CHO, S. et al. Migration behaviour and pathogenesis of five ascarid nematode species in Mongolian gerbil *Meriones unguiculatus*. **Journal of Helminthology**, v. 81, p. 43-47, 2007.

COELHO, L.M.P.S. et al. *Toxocara* spp. eggs in public squares of Sorocaba, São Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v43, p. 189-191, 2001

COELHO, L.M.P.S. Human toxocariasis seroepidemiological survey in schoolchildren, Sorocaba, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 553- 557, 2004.

CORRÊA, G.L.B. et al. Contaminação do solo por ovos, larvas de helmintos e oocistos de protozoários, em praças públicas de Santa Maria e sua importância em saúde pública. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 4, p. 137, 1995.

CUÉLLAR, C. et al. Isotype specific immune responses in murine experimental Toxocariasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 66, p. 549-553, 2000.

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.

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

DZBENSKI, T.H.; HATUZ, W.; BITKOWSKA, E. Experimental Toxocariasis in rabbits: immunological markers ocular infections. **Wiadomości Parazitologiczne**, v. 47, p. 591-596, 2001.

ENKO, K. et al. Fulminant eosinophilic myocarditis associated with visceral migrans caused by *Toxocara canis* infection. **Circulation Journal**, v. 73, p. 1344- 1348, 2009.

ESPAÑA, A. et al. Secondary urticaria due to toxocariasis: possibly caused by ingesting raw cattle meat? **Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology**, v. 3, p. 51-52, 1993.

ESPINOZA, A.Y. et al. Seroprevalence of human toxocaroses in Andean communities from the northeast of Lima, Peru. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, p. 31-36, 2010.

FAN, C.K. et al. Enhanced expression of transforming growth factor- b1 in inflammatory cells and secretory granules in Paneth cells in the small intestine of mice infected with *Toxocara canis*. **Parasitology Research**, v. 94, p. 397-404, 2004a.

FAN, C.K. et al. Seroepidemiology of *Toxocara canis* infection among mountain aboriginal schoolchildren living in contaminated districts in eastern Taiwan. **Tropical Medicine and International Health**, v. 9, 1312-1318, 2004b.

FERREIRA, M.U. et al. Bottle feeding and exposure to *Toxocara* risk factors for wheezing illness among under-five Amazonian children: a population- based cross-sectional study. **Journal of Tropical Pediatrics**, v. 53, p. 119-124, 2007.

FIGUEREDO, S.D.P. et al. Clinical-epidemiological study of toxocariasis in pediatric population. **Jornal de Pediatria**, v. 81, p. 126-132, 2005.



FOK, E.; KASSAI, T. *Toxocara canis* infection in the paratenic host: a study on the chemosusceptibility of the somatic larvae in mice. **Veterinary Parasitology**, v. 74, p. 243- 259, 1997.

FOREYT, W.J. Parasitas de cães. In FOREYT, W. J. **Parasitologia Veterinária**. São Paulo: Roca; 2005.

GAVIGNET, B. et al. Cutaneous manifestations of human toxocariasis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 10, p. 1016, 2008.

GLICKMAN, L.T.; SCHANTZ, P. M. Epidemiology and Pathogenesis of zoonotic toxocariasis. Review. **Epidemiology Reviews**, v. 3, p. 230-250, 1981.

GONZALES-QUINTELA, A. et al. *Toxocara* infection seroprevalence and its relationship with atopic features in a general adult population. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 139, p. 317-324, 2006.

HELBOK, R. et al. A rare case of *Toxocara canis* cerebral vasculitis. **European Journal of Neurology**, v. 14, p. 49, 2007.

HOKIBARA, S. et al. Effects of monoclonal antibodies molecules on eosinophilic myocarditis in *Toxocara canis* C B A/J. mice. **Clinical Experimental Immunology**, v. 114, p. 236-244, 1998.

HÕRAK, P. et al. Predictors and markers of resistance to neurotropic nematode infection in rodent host. **Parasitology Research**, v. 98, p. 396-402, 2006

HOLTEZ, P.J.; WILKINS, P.P. Toxocariasis: America's most common neglected infection of poverty and a helminthiasis of global importance? **Neglected Tropical Diseases**, v.3, p. 400. 2009.

INOUE, K. et al. Chronic eosinophilia pneumonia due to visceral larva migrans. **Internal Medicine**, v. 1, p. 478-482, 2002.

ISMAIL, M.A., KHALAFALLAH, O. *Toxocara canis* and chronic urticaria in Egyptian patients. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**. V. 35, p. 833-840, 2005.

JACOB, C.M.A. et al. Síndrome da larva migrans visceral por *Toxocara canis*. **Pediatria (São Paulo)**, v. 9, p. 9-12, 1987.

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.

KAYES, S.G. Human toxocariasis and the visceral larva migrans syndrome correlative immunopathology. **Chemical Immunology**, v.66, p.99-124, 1997.

KURODA, E. et al. Suppression of macrophage interleukin-2 and tumor necrosis factor-alpha production in mice infected with *Toxocara canis*. **Parasite Immunology**, v. 23, p. 305-311, 2001.

KWON, N.H. et al. The prevalence and diagnostic value of toxocariasis in Unknown eosinophilic. **Annals of Hematology**, v. 85, p. 233-238, 2006.

LAMBERTUCCI, J.R. Hipergamaglobulinemia e doenças parasitárias e infecção estafilocócica. **Revista do Instituto de Medicina tropical de São Paulo**, v. 29, p. 107-210, 1996.

LESCANO, S.Z. et al. Larval recovery of *Toxocara canis* in organs and tissues of experimentally infected *Rattus norvegicus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 627-628, 2004.

LESCANO, S.Z. et al. Anti- helmínticos na toxocaríase experimental: efeito na recuperação de larva de *Toxocara canis* e na resposta imune. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41, p. 21-24, 2005.

LYNCH, N.R. et al. Specificity of *Toxocara* Elisa in tropical populations. **Parasite Immunology**, v. 10, p. 323-337, 1988.

LUKES, S. Change in white blood picture experimental larval ascariasis, toxocariasis and toxocariasis. **Folia Parasitologica**, v. 32, p. 237-245, 1985.

MAFFRAND, R. et al. Toxocariasis ocular congénita en un recién nacido premature. **Anales de Pediatría (Barcelona)**, v. 64, p. 595-604, 2006.

MAGNAVAL, J.F.; GLICKMAN, L.T.; DORCHIES, P. La toxocarose une zoonose helminthique majeure. **Revue de Medecine Veterinaire**, v. 145, p. 611-627, 1994.

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

MAIGA, Y. et al. Presentation of cerebral toxocariasis with mental confusion in an adult: case report and review of the literature. **Bulletin of the Society of Pathological Exotic**, v. 100, p. 101-104, 2007.

MATSUKI, Y. et al. Toxocariasis presenting with multiple effusions in the pericardial space, thoracic cavity, and Morrison's pouch. **Internal Medicine**, v. 46, p. 913-914, 2007.

MINVIELLE, M.C. et al. Anthelmintic efficacy of tinidazole against the progression of *Toxocara canis* larvae to the brain in mice. **Parasitology Research**, v.85, p. 830-832, 1999.

MORALES, O.L. et al. Identification of *Toxocara canis* by Western Blot in experimentally infected rabbits. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 44, p. 213-216, 2002.

MORAMATSU, Y. et al. Case reports: a familial case of Visceral Larva Migrants after ingestion of raw chicken livers: appearance of specific antibody in bronchoalveolar lavage fluid of the patients. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, p. 303-306, 2006.

MOREIRA-SILVA, S.F. et al. Toxocariasis of the central nervous system: with report two cases. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 37, p. 169-174, 2004.

MORI, K.; OHTA, K.; MURATA, T. Vasoproliferative tumors of the retina secondary to ocular toxocariasis. **Canadian Journal of Ophthalmology**, v. 42, p. 758-759, 2007.

MURADIAN, V. et al. Epidemiological aspects of visceral larva migrans in children living at São Remo community, São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 134, p. 93- 97, 2005.

NICOLETTI, A. et al. Epilepsy and toxocariasis: a case control study in Burundi. **Epilepsia**, v. 48, p. 894-899, 2007.

NIEC, R. Toxocariasis animal y humana: reseña del ciclo evolutivo y de La enfermedad. **Revista de Medicina Veterinária (Buenos Aires)**, v. 61, p. 494-498, 1980.

OLLERO, M.D. et al. Experimental toxocariasis in Balb/c mice: effect of the inoculation dose on Brain and eye involvement. **Acta Tropica**, v.105, p. 124-130, 2007.

PARK, S. et al. Toxocariasis masquerading as liver and lung metastatic nodules in patents with gastrointestinal cancer: Clinicopathologic study of five cases. **Digestive Diseases and Science**. 2011. DOI: 10.1007/s10620-011-1833-5.

PECINALI, N.R.et al. Influence of Murine *Toxocara canis* infection on plasma and bronchoalveolar lavage fluid eosinophil numbers and correlation with cytokine levels. **Veterinary Parasitology**, v. 134, p. 121-130, 2005.

PINELLI, E. Persistent airway hyper-responsiveness and inflammation in *Toxocara canis* infected BALB-c mice. **Clinical Experimental Allergy**, v. 35, p. 826-832, 2005.

PRESTES-CARNEIRO, L.E. et al. Seroepidemiology of toxocariasis in a rural settlement São Paulo state, Brazil. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 102, p. 347-356, 2008.

RADMAN, N.E. et al. Human toxocariasis its seroprevalence in the city of La Plata. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p. 281-285, 2000.

RAYES, A.A.; LAMBERTUCCI, J.R. Visceral larva migrans e pyogenic liver abscess. **American Journal of Gastroenterology**, v. 94, p.1116, 1999.

RAYES, A.A. et al. Human toxocariasis and pyogenic liver abscess: a possible association. **American Journal of Gastroenterology**, v. 96, p. 563-566, 2001.

REITEROVÁ, K. et al. Influence of maternal infection on offspring immune response in murine larval toxocariasis. **Parasite Immunology**, v. 23, p. 393-400, 2003.

ROGERIO, A.P. et al. *Lafoensia pacari* extract inhibits IL- 5 production in toxocariasis. **Parasite immunology**, v. 25, p. 393-400, 2003.

RUBINSKY- ELEFANT, G. et al. Toxocaríase. In Ferreira, A.W.; Ávila, S.L.M. (ed.). **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto- imunes**. 2.ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2001, p. 323-332.

RUBINSKY- ELEFANT, G. et al. Human toxocariasis in rural Brazilian Amazonia: seroprevalence, risk factors, and spatial distribution. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, p. 93-98, 2008.

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

SAMANTA, S.; ANSARI, M.Z. Embryonation of ova of *Toxocara canis* (Werner, 1982) and migration of the larvae in mice. **Indian Journal of Animal Science**, v. 60, p. 1391-1395, 1990.

SANTARÉM, V.A. et al. Contaminação por ovos de *Toxocara* spp. em praças públicas das regiões central e periurbana de Mirante do Paranapanema, São Paulo, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v.17, p.47-53, 2010.

SANTARÉM, V.A. et al. Protective and risk factors for toxocariasis in children from two different social classes of Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 53, p. 67-72, 2011.

SCHANTZ, P.M.; GLICKMAN, L.T. Ascaridos de perros y gatos: um problema de salud pública y de medicina veterinária. **Boletín Sanitario Panamericano**, v. 94, p. 571, 1983.

SCHANTZ, P. *Toxocara* Larva Migrans now. **American Journal of tropical Medicine and Hygiene**, v. 41, p. 21-34, 1989.

SHARIF, M. et al. A survey of gastrointestinal helminthes in stray cats in northern Iran. **Comparative Clinical Pathology**, v. 19, p. 257-261, 2010.

SOULSBY, L. Parasitis zoonoses: New perspectives and emerging problems. **Health and Hygiene**, v. 12, p. 66-77, 1991.

STANGOGIANNIS, D.E. et al. Infección experimental en ratones con larva migrans ocular. **Archives de la Societat Espanola di Oftalmología**, v. 82 (2), 2007.

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

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

TELMO, P.L. **Investigação da fase inicial da infecção por *Toxocara canis* e da infecção transmamária em camundongos, modelos experimentais da toxocarose humana.** 2006. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Ciências da Saúde, UFRS, Porto Alegre, 2006.

TONELLI, E. Toxocariasis and asthma: a relevant association. **Journal de Pediatria**, v. 81, p. 95-96, 2005.

VIDAL, J.E.; SZTCJNBOK, J.; SEGURO, A.C. Eosinophilic meningoencephalitis due *Toxocara canis*: case report and review of the literature. **Journal of Tropical Medicine**, v. 69, p. 341-343, 2003.

WON, K.Y. et al. National seroprevalence and risk factors for zoonotic *Toxocara* spp. infection. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, p. 552-557, 2008.

WOODRUFF, AW. Toxocariasis. **British Medical Journal**, v. 3, p. 663-669, 1970.

XI, W.G.; JIN, L.Z. A novel method for the recovery of *Toxocara canis* in mice. **Journal of Helminthology**, v. 72, p. 183-184, 1998.

YOSHIKAWA, M. et al. A familial case of visceral toxocariasis due to consumption of raw bovine liver. **Parasitology International**, v. 57, p. 525-529, 2008a.

YOSHIKAWA, M. et al. Visceral toxocariasis from regular consumption of raw cow liver. **International Medicine**, v. 47, p. 1289-1290, 2008b.

YOSHIKAWA, M. et al. Lessons from eight cases of adult pulmonary toxocariasis - abridged republication. **Respirology**, v. 16, p. 1014-1015, 2011.

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

### 3 ARTIGO CIENTÍFICO\*

#### **Detecção de larvas de *Toxocara canis* no leite de coelhas infectadas experimentalmente**

#### **Detection of larvae of *Toxocara canis* in milk from experimentally infected rabbits**

**Célia Fátima Silva Exposto<sup>1</sup>, Lundia Luara Cavalcante Bin<sup>1</sup>,  
Cecília Braga Laposy, Rosa Maria Barilli Nogueira<sup>1</sup>,  
Guita Rubinsky-Elefant<sup>2</sup>, Vamilton A. Santarém<sup>1\*\*</sup>**

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

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

#### **RESUMO**

---

\* Normas da Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária (<http://www.cbpv.com.br/rbpv/index.php>)

\*\* Autor para correspondência: Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista, Rodovia Raposo Tavares Km 572, Bairro Limoeiro - Presidente Prudente, 1967-175, Presidente Prudente, SP, Brasil. Tel/Fax: +55 18 3229 2077 E-mail: [vamilton@unoeste.br](mailto:vamilton@unoeste.br)

Com objetivo de estudar a possibilidade de transmissão de larvas pela via transmamária em coelhos, doze coelhas (Nova Zelândia) nulíparas foram infectadas com 1000 ovos larvados de *T. canis*, por via oral. Outras cinco coelhas receberam oralmente solução fisiológica e serviram como controle. Um mês após a inoculação, cada quatro coelhas foram acasaladas individualmente com um coelho. Após o nascimento dos filhotes nos dias 7, 14 e 21, foram coletados por ordenha manual 500µL de leite. Para detecção de anticorpos (IgG), amostras de sangue foram colhidas das matrizes nos momentos pré-infecção (0) e pós infecção (7, 14, 21 e 28) e um dia após o desmame da primeira gestação, pela técnica de ELISA. Para recuperação das larvas, foi adotada a técnica do formol-éter. Observou-se a presença de larvas em cinco das doze (41,7%) coelhas infectadas. O número total de larvas recuperadas foi de 20, variando de 1 a 4 por lactação. A presença das larvas foi observada apenas nos 14<sup>o</sup> (9 larvas; 45%) e 21<sup>o</sup> dias (11 larvas; 55%) de lactação, sem diferença significativa entre as contagens ( $p=0,7386$ ). A presença de larvas de *T. canis* diretamente do leite de coelhas mostra a possibilidade de transmissão lactogênica em hospedeiros paratênicos.

**Palavras-chave:** Toxocaríase; Infecção transmamária; Ciclo.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the possibility of transmammary transmission of *Toxocara canis* larvae in rabbits. Nulipars white New Zealand female rabbits were distributed in two groups. Twelve animals were inoculated by oral route with 1.000 *T. canis* embryonated eggs, whereas five animals were uninfected (control group). One month following infection, the females were mated. Manual sample collections of 500 $\mu$ L milk were performed on +7, +15 and +21 days of lactation. ELISA test was run in order to detect serum antibodies (IgG) from blood samples collected from the nurses on the pre-infection (0) and post-infection (7, 14, 21 and 28) period as well as on the day following the wean. The recovery of larvae in milk was performed by the ether-formalin technique. The material was centrifuged at 2.000 rpm for 10 min (2.000 rpm; 697g) and the sediment was microscopically analyzed (10X). The presence of larvae was observed in milk samples released by 5 out of the 12 (41.7%) infected rabbits. Total number of recovered larvae was 20, ranging from 1 to 4 larvae by lactation period. Larva were observed on days +14 (9 larvae; 45%) and +21day (11 larvae; 55%). No significant difference by comparing the counting ( $p=0.7386$ ). In conclusion, the presence of larvae in milk rabbit samples pointed out the possibility of galactogenic transmission of *T. canis* in paratenic hosts.

**Key words:** Toxocariasis; Transmammary infection; Cycle.



## Introdução

A toxocaríase é uma doença de distribuição mundial causada por nematódeos do gênero *Toxocara*, especialmente *Toxocara canis*, cujo hospedeiro definitivo é o cão (MAGNAVAL et al., 2001). No cão, a transmissão se dá principalmente pela via transplacentária, podendo ocorrer ainda pela ingestão de ovos embrionados presentes no solo ou de hospedeiros paratênicos e também pela via transmamária (NIEC, 1980).

No homem, que é um hospedeiro acidental, as larvas de *T. canis* podem migrar por diversos órgãos e ocasionar problemas neurológicos (VIDAL et al., 2003; MOREIRA-SILVA et al., 2004; HELBOK et al., 2007; MAIGA et al., 2007; NICOLETTI et al., 2007), respiratórios (INOUE et al., 2002; ALDERETE et al., 2003; FERREIRA et al., 2007; BEDE et al., 2008), dermatológicos (ISMAIL, KHALAFALLAH, 2005; GAVIGNET et al., 2008) e hepáticos (RAYES et al., 2001; ALTCHER et al., 2003). Além disso, a larva pode ocasionar lesões oculares que podem levar ao estrabismo, perda de acuidade visual ou cegueira (ZINKHAM, 1978).

O ser humano se infecta mais frequentemente pela ingestão acidental de solo contendo ovos larvados, e também pelo consumo de carne crua ou mal cozida de hospedeiros paratênicos, como bovinos (ESPAÑA et al., 1993; YOSHIKAWA et al. 2008 a,b; YOSHIKAWA et al., 2011; PARK et al., 2011), suíno (FAN et al., 2004), ovinos (SALEM; SCHANTZ, 1992; ALDAWEK et al., 2002; SANTAREM et al., 2011) e aves (MARAMATSU et al., 2006). Em Córdoba, Argentina, foi relatado um caso de transmissão transplacentária em uma criança prematura com problemas oftalmológicos (MAFFRAND et al., 2006).

O estudo experimental da transmissão de *T. canis* em hospedeiros paratênicos é importante, uma vez que o comportamento das larvas nesses hospedeiros pode ser utilizado para o entendimento de sua migração em seres humanos.

A transmissão galactogênica de *T. canis* tem sido avaliada apenas em modelos murinos (REITEROVÁ et al., 2003; TELMO, 2006; JIN et al., 2008; DIAS et al., 2010). Nos experimentos com esses animais, as larvas foram recuperadas após digestão de tecidos dos filhotes, o que requer o sacrifício dos mesmos e análise pontual das amostras.

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo estudar a possibilidade de transmissão de *T. canis* pela via transmamária em modelo experimental com coelhos, pela detecção de larvas diretamente de amostras de leite, de lactações sucessivas.

## **Material e Métodos**

### **1. Avaliação da detecção de larvas de *Toxocara canis* no leite**

#### **1.1 Animais**

Utilizou-se dezessete coelhas, nulíparas e quatro machos da linhagem Nova Zelândia, com dois meses de idade, obtidos no Biotério da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), com confirmação de diagnóstico negativo para nematódeos pela técnica de Willis-Molay e Hoffman, em amostras de fezes, foram utilizados nesse estudo (HOFFMANN, 1987).

Durante todo o período experimental, os animais receberam ração peletizada comercial para coelhos e água e *ad libitum* e foram mantidos na Instituição de Origem (UNOESTE).

#### **1.2 Grupos Experimentais**

Foram formados dois grupos de estudo. O primeiro foi composto por 12 fêmeas infectadas artificialmente com ovos de *T. canis*, enquanto outro grupo contendo cinco fêmeas serviu como controle, livres de infecção.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais por 14 dias. Antes do experimento, o pesquisador manipulou os animais diariamente, por 15 minutos, durante uma semana, para facilitar o manejo dos animais durante a fase experimental (HÖRAK et al., 2006).

#### **1.3 Obtenção de ovos de *Toxocara canis***

Fêmeas adultas de *T. canis* foram obtidas de filhotes de cães infectados naturalmente, do Hospital Veterinário da Unoeste.

Para obtenção dos ovos do parasito, adotou-se com algumas modificações, o procedimento descrito por Pecinali et al. (2005). As fêmeas adultas (L<sub>5</sub>) do nematódeo foram lavadas com solução fisiológica e histerectomizadas, com ajuda de estereomicroscopio.

Os ovos recuperados foram colocados em solução de formalina 2% e mantidos à temperatura ambiente, por 28 dias, para embrionamento e desenvolvimento larval. Após este período, o material foi lavado em solução fisiológica, por centrifugação a 2.000 r.p.m., por

três minutos. Mil ovos larvados foram contados em câmara de Neubauer, para a infecção experimental.

#### **1.4 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 intramuscular, para sedação (KANASHIRO, CASSU, 2008).

Para a realização da infecção, adotou-se, com pequenas modificações, os procedimentos descrito por Faccioli (1998) e Pecinali et al. (2005). Os animais receberam 3,0 mL de solução estéril (PBS) contendo os ovos, por via oral, com auxílio de sonda oro gástrica. Outros 3,0 mL de PBS foram administrados pela mesma via aos animais para lavagem da sonda e assegurar a passagem dos ovos. O grupo controle recebeu 6,0 mL de solução estéril (PBS), seguindo o mesmo procedimento anestésico e de administração do inóculo do grupo infectado.

#### **1.5 Cruzamentos**

Um mês após a infecção, quando as fêmeas estavam com quatro meses de idade e atingiram sua maturidade sexual, cada coelha foi alocada em gaiola individual e um macho foi colocado para copular, por monta natural, por um período de três dias consecutivos, em um período do dia, seguindo o manejo adotado pelo Biotério Central da UNOESTE.

Os demais acasalamentos (segundo e terceiro) foram realizados após um intervalo de uma semana do desmame dos filhotes, ocorrido aproximadamente aos 21 dias, em cada gestação.

Depois do período de acasalamento, tanto as fêmeas quanto os machos foram mantidos em gaiolas individualizadas. Para manutenção dos casais, nos três acasalamentos subsequentes, os machos foram colocados juntamente com as suas respectivas fêmeas, respeitando as mesmas condições do primeiro cruzamento.

#### **1.6 Avaliação do leite**

Após nascimento dos filhotes (dia 0), amostras de leite foram coletadas uma única vez nos dias 7, 14 e 21 nas três lactações subsequentes.

A obtenção do leite foi realizada por ordenha manual dos tetos de cada fêmea. No dia da colheita, as fêmeas lactantes foram separadas dos filhotes por seis horas, para que fosse possível a colheita de material suficiente para análise.

Para recuperação das larvas foi empregada a técnica centrifugo-sedimentação pela formalina-éter descrita por Ritchie, 1948, modificada (HOFFMAN, 1987).

Do material ordenhado, 500µL foram transferidos para um tubo de Eppendorf. Para retirada do excesso de gordura das amostras, foram adicionados 200µL de solução de formol tamponado a 7,5%. Após homogeneização, o material foi deixado por 20 minutos em repouso, e logo após foram acrescentados 200µL de éter sulfúrico, com agitação por três minutos. O material foi então transferido para tubo cônico de centrífuga e centrifugado durante 10 minutos a 2.000 r.p.m. (697g) (Centrífuga Excelsa Baby II 206 BL – FANEM). Após centrifugação, foi retirada cuidadosamente a camada de gordura do sobrenadante com ajuda de um swab plástico. O sedimento foi analisado sob microscopia (10X), entre lâmina e lamínula (22X22 mm), com a avaliação de três alíquotas de 20,0 µL para cada amostra.

### **1.7 Detecção de Anticorpos para detecção de IgG por ELISA (Ensaio de imunoadsorção enzimática)**

Com a finalidade de avaliar a produção de anticorpos (Imunoglobulina G-IgG) e o sucesso na infecção dos animais, amostras de sangue foram colhidas das matrizes que foram infectadas experimentalmente, nos momentos pré-infecção (Dia 0), pós-infecção (7, 14, 21 e 28) e um dia após o desmame da primeira lactação. As amostras foram colhidas por punção da veia auricular média, após anestesia, que seguiu o mesmo protocolo usado na infecção. Após a colheita as amostras foram centrifugadas para obtenção do soro, que foi armazenado a -30°C até o momento de seu processamento.

A detecção de anticorpos IgG anti-*Toxocara* spp. pela técnica de ELISA foi realizada no Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo, USP.

O ELISA foi realizado com base no estudo de De Savigny et al. (1979), com modificações (RUBINSKY-ELEFANT et al., 2006). Primeiramente, procedeu-se a sensibilização das placas de poliestireno (Corning-Incorporated Costar, MA, USA) com antígeno excretório-secretório de *T. canis* (antígeno de excreção e secreção de larvas de *Toxocara canis* mantidas “in vitro”) (TES) (DE SAVIGNY, 1979; RUBINSKY-ELEFANT et al., 2006).

As placas foram sensibilizadas com 1,9 µg/mL de antígeno por poço, em solução salina tamponada (PBS) a 0,01M, pH 7,2. As placas permaneceram duas horas em estufa a 37°C, e por 18 horas a 4°C. Após três ciclos de lavagens, cinco minutos cada, com PBS contendo Tween 20 a 0,05% (PBS-T), foi realizado o bloqueio com leite desnatado em pó (Molico, Nestlé, Araçatuba, São Paulo, Brasil) a 2,5% em PBS-T (200µL/poço). As placas permaneceram em estufa a 37°C por uma hora e então foram lavadas três vezes durante 5 minutos com PBS-T.

A fim de eliminar possíveis reações cruzadas entre antígenos de *Toxocara* e outros ascarídeos, amostras dos soros foram pré-incubadas com extrato de verme adulto de *Ascaris lumbricoides* (EAL) a 25mg/mL em PBS-T por 30 minutos a 37°C. (RUBINSKY-ELEFANT et al., 2006).

Em cada poço das placas, foram adicionadas as amostras de soro das coelhas (100 µL/poço) diluídas a 1/200 e incubados por 40 minutos a 37°C. Após 3 ciclos de lavagens com PBS-T, adicionou-se anticorpo anti-IgG de coelho produzido em caprino e marcado com peroxidase (Sigma-Aldrich A0545, USA) (100 µL/poço) na diluição de 1/40000 em PBS-T, e incubação por 40 minutos a 37°C.

Após novo ciclo de lavagens, foi adicionada solução cromógena (100 µL/poço) constituída por ortofenilenodiamina, 0,4 mg/mL, peróxido de hidrogênio uréia em tampão fosfato-citrato 0,05M (OPD Fast- Sigma, St Louis, MO). A placa foi incubada por 15 minutos a 37°C, e a reação interrompida por adição de ácido sulfúrico 2,0N (50µL/poço). A leitura das densidades ópticas (DO) foi realizada em comprimento de onda de 492 nm no leitor de ELISA Titertek Multiskan MCC/340, Lab-System, Finland.

O cálculo do limiar de reatividade (*cut-off*) foi baseado na média das densidades ópticas de 17 amostras de soro de coelho (6 animais controle e 11 coelhos pré-infecção) e adicionado de dois desvios-padrão, resultando em 0,292.

Os resultados foram expressos em índice de reatividade ( $IR = DO \text{ amostra} / DO \text{ cut off}$ ) e aquelas que apresentaram IR igual ou superior a 1,0 foram consideradas reagentes. Como controle da reação, em todas as placas foi acrescido soros-padrão reagente e não reagente.

## 1.8 Análise Estatística

O tratamento estatístico dos dados foi realizado com o emprego do Software Graphpad Instat 5.0. Para comparação das contagens de larvas em diferentes lactações utilizou-se a

análise de variância com contrastes pelo método de Tukey, enquanto que o teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparar as médias das contagens em momentos distintos em uma mesma lactação. Foram considerados como significativos, os valores de  $p < 0,05$  (TRIOLA, 1999).

### **Aspectos Éticos**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição da UNOESTE. Protocolo 132/09.

### **Resultados**

Das doze coelhas infectadas, cinco (41,7%) eliminaram larvas de *T. canis* pelo leite. O número total de larvas recuperadas foi de 20, representando 0,17% do total de ovos utilizados para a infecção dos animais, variando de 1 a 4 larvas por lactação e de no máximo duas larvas por amostra (Tabela 1).

A presença das larvas foi observada apenas no 14<sup>o</sup> (9 larvas; 45%) e 21<sup>o</sup> dias (11 larvas; 55%) de lactação, sem diferença significativa entre as contagens ( $p=0,7386$ ).

A recuperação de larvas no leite foi observada apenas nos dias 14 e 21 de lactação. Entretanto, não houve diferença significativa entre a média no número de larvas obtidas nas diferentes lactações ( $p=0,5882$ ).

Observou-se que na primeira lactação, apenas em um animal foram recuperadas larvas no leite, sendo duas larvas no dia 14 e duas no dia 21. Na segunda, foram observadas larvas nas amostras de quatro animais, nos dias 14 e 21, com recuperação máxima de duas larvas por amostra em duas fêmeas. Na terceira lactação, três animais liberaram larvas no leite, com recuperação máxima de 3 larvas por animal. Um dos animais liberou apenas uma larva no dia 21.

Onze fêmeas infectadas foram sororeagentes ao teste de ELISA no dia 28 pós-infecção (IR: 1,383-4,639). Entretanto, no momento pós-desmame, todas as 12 coelhas apresentaram anticorpos anti-*Toxocara* spp (IR: 4,557-5,315)

## Discussão

O presente estudo comprova a possibilidade de transmissão lactogênica, devido a eliminação no leite de *T. canis* em coelhas. Em estudos anteriores, a transmissão de *T. canis* pelo leite havia sido avaliada em murinos (REITEROVÁ et al., 2003; TELMO, 2006; JIN et al., 2008; DIAS et al., 2010) e no cão (BURKE; ROBERSON, 1985)

Segundo Burke e Roberson (1985), a transmissão de larvas de *T. canis* dos cães para os filhotes ocorre quase que exclusivamente pela via transplacentária e apenas um pequeno número de larvas é passado via leite. Ao infectaram cadelas com 6000 ovos larvados de *T. canis*, 2 a 4 semanas antes do cruzamento, os autores observaram que apenas 2,3% das larvas (680/6000) foram recuperadas, sendo que quase a totalidade 98,5% (670/680) foi transmitida via placenta. Apenas 1,5% (10/680) das larvas detectadas nos filhotes foi associado à transmissão pelo leite. Contraditoriamente, Tomašovicová et al. (1993) observaram que a transferência de larvas de *T. canis* em camundongos experimentalmente infectados se dá principalmente pelo leite e que a migração intrauterina de larvas é esporádica.

Esses dados sugerem que o comportamento de *T. canis* no hospedeiro definitivo pode ser diferente do que ocorre em hospedeiros paratênicos, inclusive no homem.

De acordo com Bardón et al. (1994), o modelo murino é o mais adequado para estudo da infecção humana por *T. canis*. Nos experimentos com esses animais, a recuperação das larvas tem sido realizada após digestão de tecidos dos filhotes, o que requer o sacrifício dos mesmos e análise pontual das amostras.

No nosso estudo, as larvas foram observadas diretamente no leite das coelhas, o que permitiu a avaliação, em um mesmo animal, da transmissão em vários momentos de uma mesma lactação e em lactações diferentes.

Apesar de 41,7% das coelhas avaliadas nesse estudo terem liberado larvas, o número total foi baixo, com no máximo duas larvas por amostra. Em cães, a Burke e Roberson (1985), ao infectar fêmeas com 6000 ovos larvados de *T. canis*, 2 a 4 semanas antes do cruzamento, apenas 10 das 680 (1,5%) das larvas recuperadas nos filhotes por digestão de tecidos foram associado à transmissão pelo leite.

Diversas variáveis podem influenciar no estudo da migração das larvas com relação à metodologia. No nosso estudo, a infecção se deu um mês antes do cruzamento dos animais, com a dose de 1000 ovos para infecção dos animais, que tem sido a mais comumente utilizada em murinos para avaliação da migração de *T. canis* (ABO-SHEHADA et al., 1984;

SAMANTA, ANSARI, 1990; BARDÓN et al., 1994; XI, JIN, 1998; REITEROVÁ et al., 2003; CHO et al., 2007).

Dias et al. (2010) observaram que a dose infectante foi diretamente proporcional à ocorrência da transmissão pela via mamária em camundongos amamentados até os 21 dias de idade, por fêmeas infectadas dois meses antes do acasalamento. A presença de larvas foi verificada, aos 60 dias de nascimento, em 15,2% e 85,7% dos filhotes cujas mães-de-leite foram infectadas com 1200 e 2500 ovos, respectivamente.

No estudo de Jin et al. (2008), a infecção de duas fêmeas de camundongos Balb/c foi realizada no período pós-puerperal (12 horas) com 300 ovos de *T. canis* por via oral. A recuperação das larvas nos filhotes em decorrência da transmissão pelo leite foi de 18% (54/300).

Esses dois estudos mostram que, independentemente do número de ovos utilizados para infecção dos animais e do momento em que as fêmeas são infectadas, antes ou após acasalamento, existe a possibilidade de transmissão de larvas pelo leite aos filhotes. Esse último dado é confirmado por Reiterová et al. (2003), ao observarem que não houve diferença significativa no número de larvas transmitidas pelo leite de fêmeas infectadas na fase inicial ou final da gestação.

No presente estudo, houve passagem de larvas pelo leite na segunda e terceira semanas, sem diferenças significativas entre a contagem das mesmas. Esses dados são divergentes daqueles apresentados por Jin et al. (2008), que verificaram larvas nos órgãos de filhotes de camundongos aos 7 e 14 dias de nascimento, sendo o número total de larvas na segunda semana significativamente superior ao da primeira.

Hall (1971) observou que o teor de gordura em coelhos Nova Zelândia se eleva gradativamente durante a lactação. A técnica utilizada no presente estudo foi baseada na quebra das moléculas de gordura pelo formol-éter. Entretanto, as larvas podem ter sido retidas no sobrenadante, o que pode ter causado o baixo número de larvas recuperadas. Dessa forma, outros estudos devem ser realizados para avaliar outras formas de degradação de gordura e possibilitar maior recuperação das larvas.

Ainda nesse estudo, foi possível observar que a transmissão das larvas ocorreu em mais de um período gestacional, o que indica a não necessidade de reinfecção das fêmeas para a transmissão das larvas em diferentes lactações.



Os dados apresentados confirmam a possibilidade de veiculação de larvas de *T. canis* para o leite de coelhos e ampliam a gama de modelos experimentais para compreensão da transmissão do parasito, uma vez que o homem também se comporta como hospedeiro paratênico.

### **Referência Bibliográfica**

- ABO-SHEHADA, M.N.; HERBERT, I.V. The migration of varval *Toxocara canis* in mice II. Post-intestinal migration in primary infections. **Veterinary Parasitology**, v. 17, p. 75-83, 1984.
- ALDAWEK, A.M. et al. Larval toxocariasis in sheep: The immunohistochemical characterization of lesions insome effected organs. **Veterinary Parasitology**, v. 105, p. 207-214, 2002.
- ALDERETE, J.M.S. et al. Prevalence of *Toxocara* infection in schoolchildren from the Butantã region, São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 593-597, 2003.
- ALTCHEH, J. et al. Toxocariasis: aspectos clínicos y de laboratorio en 54 pacientes. **Anais de Pediatria**, v. 58, p. 425-431, 2003.
- BARDÓN, R. et al. Larval distribution of *Toxocara canis* in BALB/c mice at nine weeks and one year post-inoculation. **Journal of Helminthology**, v. 68, p. 357-360, 1994.
- BEDE, O. et al. Toxocariasis associated with chronic cough in childhood: a longitudinal study in Hungary. **Journal of Helminthology**, v. 82, p. 357-363, 2008.
- BURKE, T.M.; ROBERSON, E.L. Prenatal and lactational transmission of *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*: experimental infection of the bitch before pregnancy. **International Journal for Parasitology**, v. 15, p. 71-75, 1985.
- CHO, S. et al. Migration behaviour and pathogenesis of five ascarid nematode species in the Mongolian gerbil *Meriones unguiculatus*. **Journal of Helminthology**, v. 81, p. 43-47, 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. et al. **Infecção transmamária em camundongos Balb/c com toxocarose crônica**. Disponível em: <http://www.mpu.furg.br/cd2010/cic/1283.doc>. Acesso: maio de 2011.

- ESPAÑA, A. et al. Secondary urticaria due to toxocariasis: possibly caused by ingesting raw cattle meat? **Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology**, v. 3, p. 51-52, 1993.
- FACCIOLI, L.H. Interleukin-5 modulates interleukin-8 secretion in eosinophilic inflammation. **Mediators of Inflammation**, v. 7, p. 41-47, 1998.
- FAN, C.K. et al. Enhanced expression of transforming growth factor- $\beta$ 1 in inflammatory cells and secretory granules in Paneth cells in the small intestine of mice infected with *Toxocara canis*. **Parasitology Research**, v. 94, p. 397-404, 2004.
- FERREIRA, M.U. et al. Bottle feeding and exposure to *Toxocara* as risk factors for wheezing illness among under-five Amazonian children: a population-based cross-sectional study. **Journal of Tropical Pediatrics**, v. 53, p. 119-124, 2007.
- GAVIGNET, B. et al. Cutaneous manifestations of human toxocariasis. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 10.1016/j.jaad.2008.06.031
- HALL, A.J. Fatty acid composition of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) milk fat throughout lactation. **International Journal of Biochemistry**. v. 2, p. 414-418, 1971.
- HELBOK, R. et al. A rare case of *Toxocara canis* cerebral vasculitis. **European Journal of Neurology**, v. 14, p. 49, 2007.
- HOFFMANN, R.P. **Diagnóstico de parasitismo veterinário**. Porto Alegre: Sulina, 1987, 155p.
- HŮRAK, P. et al. Predictors and markers of resistance to neurotropic nematode infection in rodent host. **Parasitology Research**, v. 98, p. 396-402, 2006.
- INOUE, K. et al. Chronic eosinophilia pneumonia due to visceral larva migrans. **Internal Medicine**, v. 41, p. 478-482, 2002.
- ISMAIL, M.A., KHALAFALLAH, O. *Toxocara canis* and chronic urticaria in Egyptian patients. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. 35, p. 833-840, 2005.
- JIN, Z. et al. 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. (Ed.) **Manual de terapêutica Veterinária**, 3. ed. Roca: São Paulo, 2008. p. 727-745.
- MAFFRAND, R. et al. Toxocariasis ocular congênita en un recién nacido prematuro. **Anales de Pediatría (Barcelona)**, v. 64, p. 595-604, 2006.

- MAGNAVAL, J. et al. Highlights of human toxocariasis. **Korean Journal of Parasitology**, v. 39, p. 1-11, 2001.
- MAIGA, Y. et al. Presentation of cerebral toxocariasis with mental confusion in an adult: case report and review of the literature. **Bulletin of the Society of Pathological Exotic**, v. 100, p. 101-104, 2007.
- MORAMATSU, Y. et al. Case reports: 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**, v. 75, p. 303-306, 2006.
- MOREIRA-SILVA, S.F. et al. Toxocariasis of the central nervous system: with report of two cases. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 37, p. 169-174, 2004.
- NICOLETTI, A. et al. Epilepsy and toxocariasis: a case control study in Burundi. **Epilepsia**, v. 48, p. 894-899, 2007.
- NIEC, R. Toxocariasis animal y humana: reseña Del ciclo evolutivo y de La enfermedad. **Revista de Medicina Veterinaria (Buenos Aires)**, v. 61, p. 494-498, 1980.
- RAYES, A.A. et al. Human toxocariasis and pyogenic liver abscess: a possible association. **American Journal Gastroenterology**, v. 96, p. 563-566, 2001.
- PARK, S. et al. Toxocariasis masquerading as liver and lung metastatic nodules in patients with gastrointestinal cancer: Clinicopathologic study of five cases. **Digestive Diseases and Science**. 2011. DOI: 10.1007/s10620-011-1833-
- PECINALI, N.R. et al. 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. et al. Influence of maternal infection on offspring immune response in murine larval toxocaroses. **Parasite Immunology**, v. 23, p. 361-368, 2003.
- RITCHIE, L.S. An ether sedimentation technique for routine stool examination. **Bulletin of the United States Army Medical Department**, v.8, p.326, 1948.
- RUBINSKY-ELEFANT, G. et al. 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 and Laboratory Analysis**, v. 20, p. 164-172, 2006.
- SALEM, G.; SCHANTZ, P. Toxocaral visceral larva migrans after ingestion of raw lamb liver. **Clinical Infectious Diseases**, v. 15, p. 743-744, 1992.

- SAMANTHA, S.; ANSARI, M.Z. Embryonation of ova of *Toxocara canis* (Werner, 1782) and migration of the larvae in mice. **Indian Journal of Animal Science**, v. 60, p. 1391-1395, 1990.
- SANTARÉM, V.A. et al. Anti-*Toxocara spp.* Antibodies in sheep from southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 179, p. 283-286, 2011.
- STÜRCHLER, D.; WEISS, N.; GASSMAN, M. Transmission of toxocariasis. **Journal of Infectious Diseases**, v. 162, p. 571, 1990.
- TELMO, P.L. **Investigação da fase inicial da infecção por *Toxocara canis* e da infecção transmamária em camundongos, modelos experimentais da toxocarose humana.** 2006. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Ciências da Saúde, UFRS, Porto Alegre, 2006.
- TOMAŠOVIČOVÁ, O. et al. Intrauterine and lactogenic transfer of *Toxocara canis* larvae in paratenic hosts. **Helminthologia**, v. 30, p. 111-113, 1993.
- TRIOLA, M.F. **Introdução à estatística.** 7.ed. Rio de Janeiro: LTC, 1999. 410p.
- VIDAL J.E.; SZTCJNBOK J.; SEGURO A.C. Eosinophilic meningoencephalitis due to *Toxocara canis*: case report and review of the literature. **Journal of Tropical Medicine**, v. 69, p. 341-343, 2003.
- XI, W.G.; JIN, L.Z. A novel method for the recovery of *Toxocara canis* in mice. **Journal of Helminthology**, v. 72, p. 183-184, 1998.
- YOSHIKAWA, M. et al. A familial case of visceral toxocariasis due to consumption of raw bovine liver. **Parasitology International**, v. 57, p. 525-529, 2008a. YOSHIKAWA, M. et al. Visceral toxocariasis from regular consumption of raw cow liver. **International Medicine**, v.47, p. 1289-1290, 2008b.
- YOSHIKAWA, M. et al. Lessons from eight cases of adult pulmonary toxocariasis - abridged republication. **Respirology**, v. 16, p. 1014-1015, 2011.
- 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 – Número de larvas recuperadas em leite produzido por coelhas infectadas experimentalmente com 1000 ovos embrionados de *Toxocara canis*, em diferentes momentos de lactação, em três períodos de lactação distintos.

Lactação	Dia da Colheita de Leite			Total
	+7	+14	+21	
1	0	2	3	5
2	0	4	6	10
3	0	3	2	5
Total	0	9	11	20

## APÊNDICES

Apêndice 1 – Imagem de larva de *Toxocara canis* recuperada do sedimento da amostra de leite de uma coelha infectada experimentalmente, por via oral, com 1000 ovos do nematódeo, após centrifugação em solução de formol-éter.



Microscopia ótica (objetiva 10X) captura em câmara fotográfica digital Sony DCS-V1 (Aumento 4,0X)

Apêndice 2 - Número de larvas recuperadas em leite de coelhas infectadas experimentalmente com 1000 ovos larvados de *Toxocara canis*, em três momentos de lactação (7, 14 e 21 dias) e em três lactações consecutivas.

Animal/Dia	Lactação 1		
	7	14	21
01	-	-	-
02	-	-	-
03	-	-	-
04	-	-	-
05	-	-	-
06	-	-	-
07	-	2	2
08	-	-	-
09	-	-	-
10	-	-	-
11	-	-	-
12	-	-	-

  

Animal/Dia	Lactação 2		
	7	14	21
01	-	-	-
02	-	-	-
03	-	1	2
04	-	-	-
05	-	-	-
06	-	1	1
07	-	1	2
08	-	-	-
09	-	-	-
10	-	-	-
11	-	1	1
12	-	-	-

  

Animal/Dia	Lactação 3		
	7	14	21
01	-	-	-
02	-	-	-
03	-	2	1
04	-	-	-
05	-	-	-
06	-	1	1
07	-	-	-
08	-	-	1
09	-	-	-
10	-	-	-
11	-	-	-
12	-	-	-

- Sem recuperação de larva na amostra de leite.



Apêndice 3 - Índices de reatividade (IR\*) do teste de ELISA de 12 coelhas infectadas experimentalmente, por via oral, com 1000 ovos larvados de *Toxocara canis*, no momento pré-infecção (dia 0), em diferentes momentos pós-infecção (dias 7, 14, 21 e 28) e um dia após o desmame da primeira lactação (PD), além do grupo controle (cinco coelhas).

Grupos de Animais	Momentos da Colheita de Sangue (Dias)					
	0	7	14	21	28	PD
<b>Infectado</b>						
1	0,250	0,127	0,851	2,165	3,323	4,712
2	0,685	0,111	0,244	0,278	1,383	4,587
3	0,159	0,123	0,756	1,171	1,573	4,886
4	0,485	0,196	0,880	3,592	4,101	5,106
5	0,082	0,142	0,171	0,111	0,282	4,457
6	0,575	0,858	0,959	1,209	1,715	5,095
7	0,300	0,361	1,013	2,652	3,715	NO
8	0,068	0,089	1,089	3,396	3,927	NO
9	0,098	0,158	4,278	4,472	4,494	4,824
10	0,045	0,098	0,579	2,190	3,506	NO
11	0,498	0,196	2,497	4,063	4,592	5,315
12	NO	0,367	3,889	NO	4,639	5,074
<b>Controle</b>						
13	NO	0,377	0,339	0,286	0,397	NO
14	0,4760	0,271	0,231	0,240	0,228	NO
15	0,6062	0,728	0,553	0,271	0,265	NO
16	0,1541	0,086	0,057	0,062	0,089	NO
17	0,1575	0,116	0,135	0,045	0,082	NO

- NO= amostra de sangue não obtida durante a colheita.

\* Índice de reatividade (IR) calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$IR = (\text{Densidade ótica da amostra} / \text{Densidade ótica do cut off})$

IR  $\geq$  1 foram consideradas como amostras reagentes pelo teste de ELISA para detecção de imunoglobulinas G (IgG) anti-*Toxocara canis*.