

INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE TILÁPIA-DO-NILO
(*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) POR *Toxocara canis*

ALÍNI SORIANO PEREIRA

INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE TILÁPIA-DO-NILO

(*Oreochromis niloticus* Linnaeus 1757) POR *Toxocara canis*

ALÍNI SORIANO PEREIRA

Dissertação apresentada à 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

639.3
P436i

Pereira, Alíni Soriano
Infecção experimental de Tilápia-do-Nilo
(*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) por *Toxocara*
canis / Alíni Soriano Pereira. – Presidente Prudente,
2012.

33 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) –
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste: Presidente
Prudente – SP, 2012.

Bibliografia.

Orientador: Vamilton Alvares Santarém.

1. Peixes. 2. Ciclídeos; 3. *Toxocara canis*. 4.
Toxocaríase. I. Título.

ALÍNI SORIANO PEREIRA

INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE TILÁPIA-DO-NILO

(*Oreochromis niloticus* Linnaeus 1757) POR *Toxocara canis*

Dissertação apresentada à 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.
Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Presidente Prudente, 27 de setembro de 2012.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof^a. Dr^a. Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt
Universidade Estadual Paulista – UNESP
Botucatu - SP

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

DEDICATÓRIA

A Deus, porque nada nos é possível se não for de Sua vontade.

Aos meus pais Mara Lúcia Soriano Pereira e Valdice Pereira, que se doaram por inteiro e muitas vezes renunciaram aos seus sonhos, para que, eu pudesse realizar os meus.

A toda minha família, em especial Renan, Ariane, Maria de Lourdes, Juraci, Nestor e Vítor, por contribuírem para meu sucesso e para meu crescimento como pessoa.

Aos meus amigos, Érica, Sandra, Célia, Sueli, Fernanda, Kayla, Erick e Sérgio pelos sorrisos, abraços e momentos felizes que compartilhamos.

Aos colegas do Instituto Adolfo Lutz, Mariza Menezes Romão, Lourdes Aparecida Zampieri D'Andrea e Renata Ortega dos Santos Francisco pelo apoio incondicional.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Vamilton Alvares Santarém pela confiança depositada e pelos preciosos conhecimentos transmitidos.

Aos professores, funcionários e colaboradores da Unoeste pelo respeito, cordialidade e paciência dedicados a mim e pela colaboração para realização deste trabalho em especial Rosemeire de Souza Santos, Nelson Rafael Pires Nunes e Gracielly Vieira Gonçalves.

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”

(Charles Chaplin)

RESUMO

Infecção experimental de Tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus 1757) por *Toxocara canis*

A toxocaríase é uma doença de distribuição mundial, causada pelos nematódeos *Toxocara canis* e *T. cati*, parasitos cujos hospedeiros definitivos são os cães e os gatos, respectivamente. Esses agentes podem também infectar seres humanos, e suas larvas podem migrar pelo organismo, ocasionando a síndrome de larva migrans visceral (toxocaríase visceral) ou ocular (toxocaríase ocular). O consumo de carne crua ou mal cozida de animais, como ruminantes e aves, tem sido considerado como uma das vias de transmissão da doença para o ser humano. A avaliação da migração de larvas de *Toxocara* spp. em peixes é escasso na literatura. Com objetivo de criar um modelo experimental e avaliar a viabilidade da infecção e migração tecidual de *Toxocara canis* em peixes, foram utilizadas 49 tilápias (*Oreochromis niloticus*), com peso aproximado de 100 a 150 g, obtidas de uma central de piscicultura. Dois grupos foram formados para avaliação da infecção. O Grupo I (GI) composto por 35 animais infectados oralmente, por gavagem, com 1000 ovos larvados de *T. canis* diluídos em 1,0 mL de solução salina tamponada (PBS pH 7,0). O segundo grupo (GII) constituído por 14 animais, que receberam, pela mesma via, 1,0 mL de PBS, e serviram como controle. Os peixes foram mantidos em caixas plásticas, com fluxo de água contínuo, e alimentados com ração comercial para peixes duas vezes/dia. Nos dias 1, 2, 5, 10, 15, 30 e 60 pós-infecção, cinco animais do GI e dois do GII foram sacrificados, e amostras de fígado, sistema nervoso central, arcos branquiais, musculatura (filé) e o conteúdo intestinal foram coletados e submetidos ao processo de digestão em ácido clorídrico 0,5% e ao método de Baermann, modificado, para recuperação das larvas. Não foram encontradas larvas de *T. canis* em nenhum dos momentos deste experimento. No conteúdo intestinal, foram encontrados ovos larvados (5 ovos em média), em todas as tilápias infectadas. Os ovos de *T. canis* podem ser dispersados no ambiente aquático pela tilápia.

Palavras-chave: Toxocaríase. Peixes. Ciclídeos. *Toxocara canis*.

ABSTRACT

Experimental study of migration of *Toxocara canis* in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

The toxocariasis is a disease of worldwide distribution, caused by nematodes *Toxocara canis* and *T. cati*, parasites whose definitive hosts are dogs and cats, respectively. These agents can also infect humans, and their larvae can migrate through the body, causing the syndrome of visceral larva migrans (visceral toxocariasis) or ocular (ocular toxocariasis). Consumption of raw or undercooked meat of animals such as ruminants and poultry has been considered as one of the routes of transmission of the disease to humans. Evaluation of the migration of larvae *Toxocara* spp. in fish is scarce in the literature. This study aimed to evaluate the ability of *Toxocara canis* to infect and migrate through the tissues of experimentally infected fish. Forty-nine Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) were evaluated. Two groups were formed for the assessment of infection. Group I consisted of 35 animals infected by oral gavage with 1,000 *T. canis*-embryonated eggs (IG). The second group contained 14 animals that received 1.0 ml PBS by oral gavage and served as a control group (CG). To recover the larvae, 5 animals from IG and two animals from CG were euthanised at 1, 2, 5, 10, 15, 30 and 60 days post-infection. Samples of the liver, brain, gills, muscle and intestinal content were collected and subjected to acid digestion and the modified Baermann method. There were no *T. canis* larvae detected at any time point during this experiment, but embryonated eggs were found in the intestinal contents. Our findings suggest that tilapia could serve as a disseminating vehicle of *Toxocara* spp. in aquatic environments.

Keywords: Toxocariasis. Fishes. Cichlids. *Toxocara canis*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	10
1.1 Toxocaríase.....	10
1.2 Tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	13
REFERÊNCIAS.....	16
2 ARTIGO CIENTÍFICO.....	21
ANEXO.....	33

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Toxocaríase

A toxocaríase é uma zoonose ocasionada pela ingestão acidental de ovos embrionados de nematódeos do gênero *Toxocara*, especialmente *Toxocara canis*, e *T. cati*, cujos hospedeiros definitivos são os cães e gatos, respectivamente (ACHA; SZYFRES, 1986).

Nos seres humanos, que se comportam como hospedeiros acidentais, ao eclodirem, as larvas de *Toxocara* spp. atravessam a parede do intestino delgado e ganham a circulação pela via hepática, migrando por diversos órgãos como fígado, pulmão, coração, cérebro, ocasionando a síndrome de larva *migrans* visceral (LMV) (BEAVER et al., 1952), ou olhos, dando origem à síndrome de larva *migrans* ocular (LMO) (ZINKHAM, 1978). Atualmente, além da toxocaríase ocular e visceral, outras duas formas da doença, toxocaríase oculta ("covert") e neurológica são descritos na literatura (SANTARÉM; RUBINSKY-ELEFANT; FERREIRA, 2011b).

As manifestações clínicas da toxocaríase dependem da carga parasitária, distribuição das larvas nos tecidos, frequência de infecção e a intensidade da resposta inflamatória no hospedeiro. No homem, as manifestações clínicas da doença variam desde casos assintomáticos até, mais raramente, casos de evolução fatal (SCHANTZ, 1989).

As larvas, quando migram pelo organismo, podem ocasionar inflamação eosinofílica, hemorragia, necrose ou serem encapsuladas em granulomas, sendo destruídas ou permanecendo viáveis por muitos anos (MAGNAVAL et al., 2001).

A maior frequência de granulomas está associada à LMO (SCHANTZ, 1989). Muitas vezes a endoftalmite causada pela forma oftálmica pode ser confundida com um tumor maligno conhecido como retinoblastoma (PARK et al., 2000; ESPINOZA et al., 2003; SHIMIZU et al., 2005). Altcheh et al. (2003) observaram que 9,3% de crianças sororeagentes para *T. canis* apresentavam estrabismo. Outros relatos reportam a ocorrência de uveíte também em crianças (AZAR, 2004).

Os sinais de LMV podem estar relacionados a alterações respiratórias, como sibilância ou asma (JACOBS et al., 1994; ALDERETE et al., 2003; TONELLI, 2005; FERREIRA et al., 2007), hepatomegalia (ALTCHEH et al., 2003), urticária (AZUMA et al., 2002; ALTCHEH et al., 2003) e lesões hepáticas com a formação de

abscessos piogênicos (LAMBERTUCCI et al., 2001; RAYES et al., 2001), que podem ser confundidas com linfoma hepático (BACHMEYER et al., 2003).

Outros relatos sobre LVM reportam miocardite (ENKO et al., 2009), pancreatite (D'ONOFRIO et al., 2006) e alterações neurológicas como convulsões (CARVALHO; ROCHA, 2011), vasculite cerebral (HELBOK et al., 2007) e meningoencefalite (FERNANDES; RIBEIRO, 2010) associada à confusão mental (MAIGA et al., 2007). A toxocaríase pode aumentar também os riscos de epilepsia em países tropicais e em países em desenvolvimento (NICOLETTI et al., 2007).

A eosinofilia é um achado comum em casos de toxocaríase. Casos de eosinofilia associada à pleocitose e mielite (DATTOLI, 2011), meningoencefalite (VIDAL; SZTCJNBOK; SEGURO, 2003), pneumonia crônica (INOUE et al., 2002), efusão pleural (ASHWATH; ROBINSON; KATNER, 2004) e pericárdica (MATSUKI et al., 2007) e ascite (CHIRA et al., 2005) têm sido descritos como consequência da toxocaríase.

A prevalência da toxocaríase é maior em países em desenvolvimento no Brasil, por exemplo, esta doença tem sido associada a populações com baixos níveis sócio-econômicos. Em Brasília, a frequência de anticorpos anti-*Toxocara* sp. em crianças de famílias de baixa renda foi de 21,8% (66/302), enquanto na população infantil de classe média ela correspondeu a 3% (9/300) (CAMPOS JUNIOR et al., 2003).

No Estado de São Paulo, a prevalência de anticorpos anti-*Toxocara* variou de 3,6% (CHIEFFI, 1984) a 24,7% (CASEIRO, 1996) em inquéritos soropidemiológicos em crianças e adolescentes de vários municípios. Na cidade de São Paulo, SP, 38,8% das crianças de 14 escolas públicas foram consideradas sororeagentes (ALDERETE, 2003). Em Presidente Prudente, SP, 11,1% das crianças de duas diferentes classes sociais foram sororeagentes. A prevalência foi de 12,7% para a população de baixa renda e 9,5% para a de classe média (SANTARÉM; RUBINSKY-ELEFANT; GIUFFRIDA, 2011c).

Em um assentamento no município de Teodoro Sampaio, região do Pontal do Paranapanema - SP, 20,24% da população apresentaram títulos de IgG anti-*Toxocara* spp. (PRESTES-CARNEIRO et al., 2005).

O solo é a principal via de transmissão de *T. canis*, pois os ovos larvados podem ser acidentalmente ingeridos pelos seres humanos (SANTARÉM, et al. 2011a). Estes ovos contêm larvas de terceiro estágio que eclodem no intestino

delgado, atingem a circulação pela via hepática e migram para os diversos tecidos (DESPOMMIER, 2003).

Praças e parques públicos representam a principal fonte de infecção dos seres humanos, com várias descrições de contaminação em áreas de lazer em cidades do interior de São Paulo, como Botucatu (SANTARÉM; SARTOR; BERGAMO, 1998), Sorocaba (COELHO et al., 2001), Ribeirão Preto (CAPUANO; ROCHA, 2005) e Mirante do Paranapanema (SANTARÉM et al., 2010), onde as frequências corresponderam a 17,5%, 20,5%, 29,7% e 53,3%, respectivamente. Em Presidente Prudente, a contaminação das praças foi de 96% (SANTARÉM; PEREIRA.; ALEGRE, 2012).

Estudos relatam a infecção de seres humanos por larvas de *T. canis* pela ingestão de carne crua ou mal cozida de hospedeiros paratênicos. Os ovos larvados, ao serem ingeridos por esses hospedeiros, liberam as larvas, que invadem os tecidos, permanecendo quiescentes e encapsuladas, não completando seu ciclo (SCHANTZ, 1989).

As infecções humanas por ingestão desses hospedeiros têm sido associadas ao consumo de fígado cru de aves como frango (NAKAGURA et al., 1989; MORIMATSU et al., 2006) e pato (HOFFMEISTER et al., 2007), de coelhos (STÜRCHLER; WEISS; GASSMAN, 1990), de ovinos (SALEM; SCHANTZ, 1992) e de bovinos (YOSHIKAWA et al., 2008). Park et al. (2011) relataram cinco casos de pacientes humanos com câncer gastrintestinal que possuíam metástases hepáticas e pulmonares ao diagnóstico por imagem (radiografia e ultrassom). Ao exame histopatológico, porém, as metástases eram na realidade granulomas eosinofílicos provocados por *Toxocara* spp. Os pacientes apresentaram títulos de anticorpos anti-*T. canis* pelo ELISA e pelo *Westernblotting*. Os pacientes afirmaram que tinham o hábito de consumir fígado bovino cru, porém como um dos fatores de risco para a infecção por *Toxocara* spp. seria o consumo de carne crua de peixes.

A toxocaríase tem sido experimentalmente estudada especialmente em modelos murinos, pois as larvas seguem um ciclo com sinais e sintomas semelhantes aos produzidos em seres humanos (CHIEFFI et al., 2009). Estudos com hospedeiros paratênicos cuja carne é destinada ao consumo humano são escassos. Entretanto, em Presidente Prudente, foi observado que 50,1% dos ovinos apresentavam anticorpos anti-*Toxocara* spp. (SANTARÉM et al., 2011a).

Embora os ascarídeos sejam considerados como parasitos de animais de sangue quente, não há registro de estudos em animais peclotérmicos, como os peixes (PHAN; ERSBØLL; DALSGAARD, 2011).

1.2 Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)

A piscicultura de água doce é a atividade que vem se mostrando mais promissora na produção de pescado, sendo a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757), uma das espécies mais cultivadas mundialmente (JORY; ALCESTE; CABRERA, 2000).

As tilápias pertencem à Ordem Perciformes, família Cichlidae, são oriundas do continente africano e encontradas originariamente nas bacias dos rios Nilo, Níger, Tchade e nos lagos do centro-oeste da África (VERANI, 1980).

Em relação ao sistema digestório da tilápia, o esôfago é curto, de epitélio estratificado apresentando ausência de papilas gustativas e abundância de células secretoras de muco (GARGIULO et al., 1996; CATALDI et al., 1988). O estômago possui três regiões: proximal, média e distal e quatro camadas de epitélio: serosa, muscular, mucosa e submucosa (GARGIULO et al., 1996; CACECI et al., 1998). O intestino das tilápias é longo e espiralado, e, em indivíduos adultos, corresponde de 7 a 13 vezes o tamanho total do corpo, sendo muito maior que o intestino dos outros ciclídeos (BEVERIDGE; BAIRD, 2000).

No que se refere ao processo de digestão das tilápias, o alimento é retido pelos rastros branquiais, localizados nos arcos branquiais. O material pode ser rejeitado ou ingerido dentro da cavidade bucofaringeana, e quando aceito, é quebrado pelos ossos faringeanos que o encaminha ao esôfago (BEVERIDGE; BAIRD, 2000). A amilase, a maltase, a pepsina, a tripsina, as esterases e a fosfatase alcalina são enzimas envolvidas nos processos de digestão e absorção e estão presentes no estômago das tilápias (TENGJAROENKUL et al., 2000). Segundo Kubitz (2011), o pH do estômago da tilápia varia de 1,25 a 1,6.

O potencial aquícola da tilápia-do-Nilo se deve à sua rusticidade, rápido crescimento, hábito alimentar onívoro, arraçoamento fácil e econômico, resistência a baixas concentrações de oxigênio dissolvido, além de apresentar carne de sabor apreciado e com poucas espinhas (KUBITZA, 2011).

Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2005), a tilápia é a espécie que ocupa o terceiro lugar entre os peixes mais utilizados em piscicultura ao redor do mundo, sendo as carpas e os salmões os mais comercializados.

De acordo com Kubitzka (2011) e Beveridge (2004), em diversos países, inclusive no Brasil, a criação de tilápias em tanques-rede de pequeno volume (1,0 a 4,0 m³) representa um sistema importante, pois apresenta vantagens em relação à piscicultura tradicional em virtude do menor investimento inicial, aproveitamento de açudes, rios e grandes reservatórios, controle da produção, facilidade no manejo e despesca e eliminação de problemas associados à reprodução excessiva.

Na região de Presidente Prudente, as tilápias são encontradas em grande número para a pesca esportiva nos pesque-pague. Além disso, a produção e comercialização destes peixes se destacam como um ramo promissor do agronegócio (MARENGONI; SANTOS; 2009).

O consumo de peixe cru em restaurantes de culinária oriental é popular no mundo inteiro. A carne crua de tilápia pode servir como via de transmissão de diversas zoonoses parasitárias, como giardíase, ocasionada pelo protozoário *Giardia duodenalis* (GHONEIM; ABDEL-MOEIN; SAEED, 2012). As trematodioses, provocadas pelos parasitos *Haplorchis pumilio*, *H. taichui*, *H. yokogawai*, *Centrocestus formosanus*, *Stellantchias musfalcatius*, e *Echinochasmus japonicus* (CHI et al., 2008) e por *Heterophyes heterophyes*, *Heterophyes aequalis*, *Pygidiopsis genata*, *Haplorchis yokogawa* (LOBNA; METAWEA; ELSHEIKHA, 2010), além da gnatostomíase, uma infecção gerada pela larva do nematódeo *Gnathostoma spingerum* (ISHIWATA et al., 2003), são outras zoonoses que têm sido atribuídas ao consumo de carne crua de peixes, incluindo as tilápias.

Choi et al. (2008) não observaram associação entre a ingestão de carne crua de peixe com a presença de anticorpos Anti-*Toxocara* spp. em pacientes com histórico de eosinofilia.

Até o momento, entretanto, nenhum estudo foi realizado para avaliar a infecção de peixes por *Toxocara* spp.

Dessa forma, o presente estudo teve o objetivo de criar um modelo experimental para avaliação da viabilidade de infecção e migração de *Toxocara canis* em tilápias, uma vez que a ingestão de carne mal cozida ou crua destes

animais poderia servir como via de transmissão ao ser humano e, conseqüentemente, o desenvolvimento da síndrome toxocaríase.

REFERÊNCIAS

- ACHA, P., SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles al hombre y a los animales**. 2. ed. Washington: Organización Mundial de la Salud, 1986.
- ALDERETE, J. M. et al. Prevalence of *Toxocara* infection in schoolchildren from the Butantã region, São Paulo, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 593-597, 2003.
- ALTCHEH, J. et al. Toxocariasis: Aspectos clínicos y de laboratorio em 54 pacientes. **An. Pediatr.**, v. 58, p. 425-431, 2003.
- ASHWATH, M. L.; ROBINSON, R.,D.; KATNER, H. P. A presumptive case of toxocariasis associated with eosinophilic pleural effusion: case report and literature review. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 71, p. 764, 2004.
- AZAR, D. M. Pediatric uveitis: a Sydney clinic experience. **Clin. Exper. Ophthalmol.**, v. 32, p. 468-471, 2004.
- AZUMA, K. et al. Hepatic involvement of Visceral Larva Migrans: due *Toxocara canis*: a case report-CT and MR findings. **Rad. Med.**, v. 20, p. 89-92, 2002.
- BACHMEYER, C. et al. Visceral larva migrans mimicking lymphoma. **Chest.**, v. 123, p. 1296-1297, 2003.
- BEAVER, P. C. et al. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. **Pediatrics.**, v. 9, p. 7-19, 1952.
- BEVERIDGE, M. C. M. **Cage Aquaculture**. 3.ed. [S.l.]: Blackwell Publishing Company, 2004. 376 p.
- BEVERIDGE, M. C. M.; BAIRD, D. J. Diet, feeding and digestive physiology. In: BEVERIDGE, M. C. M.; MCANDREW, B. J. (Ed.). **Tilapias: biology and exploitation**. Belgium: Kluwer Acad. Pub., p. 59-87, 2000.
- CACECI, T. et al. The stomach of *Oreochromis niloticus* has three regions. **J. Fish Biol.**, v. 50, p. 939-952, 1998.
- CAMPOS JUNIOR, D. et al. Frequência de soropositividade para antígenos de *Toxocara canis* em crianças de classes sociais diferentes. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 36, p. 509-513, 2003.
- CAPUANO, D. M.; ROCHA, G. M. Environmental contamination by *Toxocara* sp eggs in Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 47, p. 223-226, 2005.
- CARVALHO, E. A. A.; ROCHA, R. L. Toxocaríase: larva migrans visceral em crianças e adolescentes. **J. Pediatr. (Rio J.)**, Porto Alegre, v. 87, n. 2, 2011.

CASEIRO, M. M. **Síndrome da larva migrans visceral causada por larvas de *Toxocara canis* (Wrener, 1782 e Stiles, 1905), no município de Santos, 1996.** 121 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo.

CATALDI, et al. Morphological changes in the oesophageal epithelium during adaptations to salinities in *Oreochromis mossambicus*, *O. niloticus* and their hybrid. **J. Fish Biol.**, v. 32, p. 191-196, 1988.

CHOI, T. et al. Prevalence of zoonotic trematodes in fish from a Vietnamese fish-farming community. **J. Parasitol.**, v. 94, n. 2, p. 423-8, 2008.

CHIEFFI, P. P. **Contribuição ao estudo da síndrome da larva migrans visceral por *Toxocara* em cinco municípios do Estado de São Paulo, Brasil. Inquérito epidemiológico, 1984.** Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo.

CHIEFFI, P. P. et al. Human toxocariasis: contribution by Brazilian researchers. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 51, p. 301-308, 2009 .

CHIRA, O. et al. Cruciat eosinophilic ascites in a patient with *Toxocara canis* infection: a case report. **Rom. J. Gastroenterol.**, v. 14, p. 397-400, 2005.

COELHO, L. M. P. S. et al. *Toxocara* spp. eggs in public squares of Sorocaba, São Paulo State, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**. v. 43, p. 189-191, 2001.

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

DATTOLI, V. et al. *Toxocara canis* infection is associated with eosinophilia and total IgE in blood donors from a large Brazilian centre. **Trop. Med. International Hlth**. v. 16, p. 514-517, 2011.

DESPOMMIER, D. Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. **Clin. Microbiol. Rev.** v.16, p.265–272, 2003.

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

ESPINOZA, Y. et al. Toxocariosis humana en pacientes con lesion ocular. **Anal. Facul. Med.**, v. 64, p. 547-251, 2003.

FAO. **The state of world's fisheries and aquaculture.** 2005. Disponível em <<http://www.fao.org/fi/statist/summtab/default.asp>>. Acesso em: 30 jan.iro 2012.

FERNANDES, M. C.; RIBEIRO, M. G. Enteropatógenos de potencial zoonótico como indicadores de contaminação de solo/areia de parques e praças de recreação humana. **Vet. Zootec.**, v. 17, p. 469-479, 2010.

- 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. **J. Trop. Ped.**, v. 53, p. 119-124, 2007.
- GARGIULO, A. M. et al. Morphology and histology of the oesophagus in a warm water tilapiine fishes (teleostei). **J. Appl. Ichthyol.**, v. 12, p. 121-124, 1996.
- GHONEIM, N. H.; ABDEL-MOEIN, K. A.; SAEED, H. Fish as a possible reservoir for zoonotic *Giardia duodenalis* assemblages. **Parasitol. Res.**, v. 110, n. 6, p. 2193-2196, 2012.
- HELBOK, R. et al. A rare case of *Toxocara canis* cerebral vasculitis. **Europ. J. Neurol.**, v. 14, p. 49, 2007.
- HOFFMEISTER, B. et al. Cerebral toxocariasis after consumption of raw duck liver. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 76, p. 600-602, 2007.
- INOUE, K. et al. Chronic eosinophilia pneumonia due to visceral larva migrans. **Intern. Med.**, v. 41, p. 478-482, 2002.
- ISHIWATA, K. et al. Evaluation of the antigenic similarities of adult-worm extracts from three *Gnathostoma* species, using sera from Mexican and Japanese patients with *Gnathostoma* infections. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 97, p. 629-637, 2003.
- JACOBS, C. M. A. et al. Clinical and laboratorial features of visceral toxocariasis in infancy. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 36, p. 19-26, 1994.
- JORY, D. E.; ALCESTE, C.; CABRERA, T. R. Mercado y comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norteamérica. **Pan. Acuícola**, v. 5, p. 50-53, 2000.
- KUBITZA, F. Tilápia: **tecnologia e planejamento na produção comercial**. 2.ed. Jundiaí: Acqua Supre Com. Suprim. Aquicultura, 2011. 316 p.
- LAMBERTUCCI, J. R. et al. Pyogenic abscesses and parasitic diseases. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 43, p. 67-74, 2001.
- LOBNA, S. M.; METAWEA, Y. F.; ELSHEIKHA, H. M. Prevalence of heterophyiosis in Tilapia fish and humans in Northern Egypt. **Parasitol. Res.**, v. 107, p. 1029-34, 2010.
- MAGNAVAL, J. F. et al. Highlights of human toxocariasis. **Korean J. Parasitol.**, 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. **Bull. Soc. Pathol. Exot.**, v. 100, p. 101-104, 2007.
- MARENGONI, N. G.; SANTOS, R. S. Yield and composition of fillets of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) in feefishing farms. **Arch. Zoo.**, v. 55, p. 227-238, 2009.

- MATSUKI, Y. et al. Toxocariasis presenting with multiple effusions in the pericardial space, thoracic cavity, and Morrison's pouch. **Intern. Med.**, v. 46, p. 913-914, 2007.
- MORIMATSU, 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. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 75, p. 303-306, 2006.
- NAGAKURA, K. et al. Toxocariasis possibly caused by ingestion of raw chicken. **J. Infect. Dis.**, v. 160, p. 735-736, 1989.
- NICOLETTI, A. et al. Epilepsy and toxocariasis: a case control study in Burundi. **Epilepsia**, v. 48, p. 894-899, 2007.
- PARK, S. P. et al. Five cases of ocular toxocariasis confirmed by serology. **Korean J. Parasitol.**, v. 38, p. 267-273, 2000.
- PARK, S. et al. Toxocariasis masquerading as liver and lung metastatic nodules in patients with gastrointestinal cancer: Clinicopathologic study of five cases. **Dig. Dis. Sci.**, v. 57, p. 155-160, 2011. DOI: 10.1007/s10620-011-1833-5
- PHAN, V.; ERSBØLL, A. D. O; DALSGAARD, A. Raw-fish-eating behavior and fishborne zoonotic trematode infection in people of northern Vietnam. **Foodborne Pathog. Dis.**, v. 8, p. 255-260, 2011.
- PRESTES-CARNEIRO, L. E. et al. Frequency of anti-*Toxocara canis* in individuals of a peasant's settlement (Teodoro Sampaio, Pontal do Paranapanema, São Paulo, (Brazil). **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 64, p. 255, 2005.
- RAYES, A. A. et al. Human toxocariasis and pyogenic liver abscess: a possible association. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 96, p. 563-566, 2001.
- SALEM, G.; SCHANTZ, P. Toxocaral visceral larva migrans after ingestion of raw lamb liver. **Clin. Infect. Dis.**, v. 15, p. 743-744, 1992.
- SANTARÉM, V. A.; SARTOR, I. F.; BERGAMO, F. M. M. Contaminação, por ovos de *Toxocara* spp., de parques e praças públicas de Botucatu, São Paulo, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. trop.**, v. 31, p. 529-532, 1998.
- 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. **Vet. Zootec.**, v. 17, p. 47-53, 2010.
- SANTARÉM, V. A. et al. Anti-*Toxocara* spp. antibodies in sheep from southeastern Brazil. **Vet. Parasitol.**, v. 30, p. 283-286, 2011a.
- 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, 2011b. Cap. 3, p. 43-66. Disponível em: <http://www.intechopen.com/articles/show/title/soil-transmitted-helminthic-zoonoses-in-humans-and-associated-risk-factors>. Acesso em: 3 maio 2012.

SANTARÉM, V. A.; RUBINSKY-ELEFANT, G.; GIUFFRIDA, R. Protective and risk factors for toxocariasis in children from two different social classes of Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 53, p. 66-72, 2011c.

SANTARÉM, V. A.; PEREIRA V. C.; ALEGRE B. C. P. Contamination of public parks in Presidente Prudente(São Paulo, Brazil) by *Toxocara* spp. eggs. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 21, p. 323-325, 2012.

SCHANTZ, P. *Toxocara* larva migrans now. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 41, p. 21-34, 1989.

SHIMIZU, Y. et al. Premacular membrane peeling without removal of subretinal granuloma in an eye with ocular toxocariasis. **Acta Ophthalmolog. Scandinav.**, p. 395-396, 2005.

STÜRCHLER, D.; WEISS, N.; GASSMAN, M. Transmission of toxocariasis. **J. Infect. Dis.**, v. 162, p. 571, 1990.

TENGJAROENKUL, B. et al. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture**, v. 182, p. 317–327, 2000.

TONELLI, E. Toxocariasis and asthma: a relevant association. **J. Pediat.**, v. 81, p. 95-96, 2005.

VERANI, J. R. **Controle populacional em cultivo intensivo consorciado entre tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* (LINNAEUS, 1757) e o tucunaré comum, *Cichla ocellaris* (SCHNEIDER, 1801): aspectos quantitativos.** 1980. 116 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

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

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

ZINKHAM, W.H. A review and reassessment indicating two forms of clinical expression: visceral and ocular. **Am. J. Dis. Child.**, v. 132, p. 627-628, 1978.

2 ARTIGO CIENTÍFICO*

**Estudo experimental da migração de *Toxocara canis* em Tilápia-do-Nilo
(*Oreochromis niloticus*)**

**Experimental study of migration of *Toxocara canis* in Nile
Tilapia (*Oreochromis niloticus*)**

Alíni Soriano Pereira¹, Vamilton Alvares Santarém^{1**}, Rosemeire de Souza Santos², Nelson Rafael Pires Nunes³.

1. Mestrado em Ciência Animal. Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, São Paulo.
2. Laboratório de Piscicultura. Unoeste.
3. Aluno de Graduação em Medicina Veterinária. Unoeste.

* Normas da Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária ([http:// www.cbpv.com.br/rbpv/index.php](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

RESUMO

Com objetivo de criar um modelo experimental e avaliar a viabilidade da infecção e migração tecidual de *Toxocara canis* em peixes, foram utilizadas 49 tilápias (*Oreochromis niloticus*), com peso aproximado de 100 a 150 g, obtidas de uma central de piscicultura. Dois grupos foram formados para avaliação da infecção. O Grupo I (GI) composto por 35 animais infectados oralmente, por gavagem, com 1000 ovos larvados de *T. canis* diluídos em 1,0 mL de solução salina tamponada (PBS pH 7,0). O segundo grupo (GII) constituído por 14 animais, que receberam, pela mesma via, 1,0 mL de PBS, e serviram como controle. Os peixes foram mantidos em caixas plásticas, com fluxo de água contínuo, e alimentados com ração comercial para peixes duas vezes/dia. Nos dias 1, 2, 5, 10, 15, 30 e 60 pós-infecção, cinco animais do GI e dois do GII foram sacrificados, e amostras de fígado, sistema nervoso central, arcos branquiais, musculatura (filé) e o conteúdo intestinal foram coletados e submetidos ao processo de digestão em ácido clorídrico 0,5% e ao método de Baermann, modificado, para recuperação das larvas. Não foram encontradas larvas de *T. canis* em nenhum dos momentos deste experimento, porém no conteúdo intestinal, foram encontrados ovos larvados.

Palavras-chave: peixe; toxocaríase; transmissão; migração.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the ability of *Toxocara canis* to infect and migrate through the tissues of experimentally infected fish. Forty-nine Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) were evaluated. Two groups were formed for the assessment of infection. Group I consisted of 35 animals infected by oral gavage with 1,000 *T. canis*-embryonated eggs (IG). The second group contained 14 animals that received 1.0 ml PBS by oral gavage and served as a control group (CG). To recover the larvae, 5 animals from IG and two animals from CG were euthanised at 1, 2, 5, 10, 15, 30 and 60 days post-infection. Samples of the liver, brain, gills, muscle and intestinal content were collected and subjected to acid digestion and to the modified Baermann method. There were no *T. canis* larvae detected at any time point during this experiment, but embryonated eggs were found in the intestinal contents. Our findings suggest that tilapia could serve as a disseminating vehicle of *Toxocara* spp. in aquatic environments.

Keywords: fish, toxocariasis, transmission, migration

INTRODUÇÃO

A toxocaríase é uma zoonose ocasionada pela ingestão acidental de ovos embrionados de nematódeos do gênero *Toxocara*, especialmente *Toxocara canis*, cujo hospedeiro definitivo é o cão, e de *T. cati*, que infecta felinos (ACHA; SZYFRES, 1986).

O solo é a principal via de transmissão de *T. canis*, pois os ovos larvados podem ser acidentalmente ingeridos pelos seres humanos, estes contêm larvas de segundo estágio que eclodem no intestino delgado, atingem a circulação pela via hepática e migram para os diversos tecidos (DESPOMMIER, 2003).

Entretanto, estudos apresentam dados que evidenciam a infecção de seres humanos por larvas do nematódeo, pela ingestão de carne crua ou mal cozida de hospedeiros paratênicos, como frango (NAGAKURA et al., 1989; MORIMATSU et al., 2006), pato (HOFFMEISTER et al., 2007), coelhos (STÜRCHLER et al., 1990), ovinos (SALEM; SCHANTZ, 1992) e bovinos (YOSHIKAWA et al., 2008; CHOI et al., 2012).

Nos hospedeiros paratênicos, ao eclodirem, as larvas do parasito atravessam a parede do intestino delgado e ganham a circulação pela via hepática, migrando por diversos órgãos como fígado, pulmão, coração, cérebro, onde permanecem quiescentes e encapsuladas, mas sem completar seu ciclo (SCHANTZ, 1989).

Em seres humanos, a migração das larvas pode ocasionar a síndrome de larva migrans visceral (LMV), ou toxocaríase visceral (BEAVER et al., 1952), e nos olhos, origina a síndrome de larva migrans ocular (LMO), ou forma ocular (ZINKHAM, 1978; MAGNAVAL et al., 2001; ALTICHEH et al. 2003; AZAR, 2004).

Embora os ascarídeos sejam considerados como parasitos de animais de sangue quente, não há registro de estudos em animais pecilotérmicos, como os peixes (PHAN et al., 2011).

Recentemente, Park et al. (2011) relataram cinco casos de pacientes com câncer gastrointestinal que possuíam metástases ao diagnóstico por imagem (radiografia e ultrassom). Ao exame histopatológico, porém, as metástases eram granulomas eosinofílicos provocados por *Toxocara* spp. Os pacientes apresentaram títulos de anticorpos anti- *T. canis* pelo ELISA e pelo Westernblotting. Os autores associaram como fator de risco para a infecção, o consumo de fígado cru de diversas espécies de animais, mas também aventou a hipótese de consumo de fígado de peixe cru.

A piscicultura de água doce é a atividade que vem se mostrando mais promissora na produção de pescado, sendo a Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1757) uma das espécies mais cultivadas mundialmente (JORY et al., 2000).

O potencial aquícola da Tilápia-do-Nilo se deve à sua rusticidade, rápido crescimento, hábito alimentar onívoro, arraçoamento fácil e econômico, resistência a baixas concentrações de oxigênio dissolvido, além de apresentar carne de sabor apreciado e com poucas espinhas (KUBITZA, 2011).

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar a infecção por larvas de *T. canis* em tilápias infectadas experimentalmente.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Animais

Utilizou-se 49 tilápias (*Oreochromis niloticus*), pesando entre 100 a 150 gramas, provenientes do setor de Piscicultura da instituição de origem.

Foi estabelecido um período de aclimação de 30 dias nos tanques. Os animais foram alocados em três tanques plásticos de 350 litros mantidos em ambiente controlado com fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuridão e temperatura de $25\pm 5^{\circ}\text{C}$.

Durante todo o período experimental, os animais receberam ração peletizada comercial para peixes, com fluxo de água aberto sob aeração constante.

2. Obtenção de ovos de *Toxocara canis*

Fêmeas adultas de *T. canis* foram obtidas de filhotes de cães infectados naturalmente, mantidos no Canil da instituição de origem.

Para obtenção dos ovos do parasito, foi seguido o procedimento descrito por Pecinali et al. (2005), com algumas modificações. As fêmeas adultas (L₅) do nematódeo foram lavadas com solução fisiológica, para retirada de material fecal, e histerectomizadas, com ajuda de estereomicroscópio, em sua porção uterina. Os ovos foram dispostos em solução de formalina 2%, por 28 dias, em ambiente controlado de temperatura (37° C), estufa com demanda bioquímica de oxigênio-BOD (Quimis®), ambiente para embrionamento e desenvolvimento larval.

Após este período, o material foi lavado em solução fisiológica, por centrifugação a 2.000 r.p.m. durante três minutos.

Alíquotas de 1000 ovos foram contadas em câmara de Neubauer e diluídas em 1,0 mL de solução salina tamponada (PBS pH 7,2), para realização da infecção experimental.

3. Grupos Experimentais

Os peixes foram sorteados aleatoriamente para formação de 2 grupos experimentais:

Grupo I: 35 peixes infectados com 1.000 ovos larvados de *T. canis*. O grupo foi distribuído em dois subgrupos (18 e 17 animais), para adequação da densidade populacional nas caixas plásticas.

Grupo II: 14 tilápias serviram como grupo não infectado (Controle).

4. Infecção dos Animais

Antes da infecção, os animais foram submetidos individualmente à anestesia, em um recipiente de 10 litros de água contendo solução anestésica (40mg de benzocaína; 5 mL álcool etílico 70% por litro d'água) (ROSS; ROSS, 1999) Os animais foram considerados anestesiados quando da redução da atividade natatória.

Para assegurar o sucesso do procedimento de administração do inóculo, foi realizada a administração da solução de azul de metileno 0,001%, a fim de observar a impregnação do conteúdo estomacal pelo corante.

A dose adotada para infecção no estudo foi de 1.000 ovos larvados de *T. canis*, uma vez que é a quantidade mais empregada na infecção de murinos, considerados o modelo experimental para avaliação da migração de larvas do parasito (BARDÓN et al., 1994; CHIEFFI, 1984).

Para avaliação da infectividade dos ovos foi realizado um bioensaio em camundongos com uma alíquota única de 1000 ovos (TAIRA et al., 2003), onde foi observada a presença de larvas no fígado dos animais após 48 horas de infecção.

Para a infecção das tilápias, foi adotado, com pequenas modificações, o procedimento descrito por Pecinali et al. (2005) onde os animais receberam oralmente, com auxílio de agulha de gavagem. Para evitar o regurgitamento do inóculo, as tilápias permaneceram sob jejum prévio de 12 horas. Logo após a infecção, os animais eram alimentados.

O grupo controle recebeu, pela mesma via, 1,0 mL de PBS (7,2), por gavagem.

5. Colheita das Amostras

Após a infecção (dia 0), cinco animais do GI e dois do GII foram eutanasiados em 24, 48 horas e 5, 10, 15, 30 e 60 dias após a infecção.

Para sacrifício dos animais, foi seguido o mesmo protocolo anestésico para infecção, até a ausência de movimentos respiratórios.

Amostras de fígado, SNC, arcos branquiais, musculatura lateral esquerda e o conteúdo intestinal foram obtidas dos animais e colocadas individualmente em frasco estéril e mantidas sob refrigeração até o processamento.

6. Processamento das Amostras

O SNC e fragmentos de fígado, arcos branquiais, e musculatura lateral (1,0cm²) foram submetidos às técnicas de Baermann, modificada (RUGAI et al., 1954), e ao processo de digestão ácida descrita por Wang e Luo (1998).

Na técnica de Baermann, as amostras permaneceram em sistema de overnight em temperatura ambiente. No processo de digestão, os tecidos permaneceram sob agitação por 12 horas em estufa incubadora a 37° C, em solução de ácido clorídrico e pepsina (pepsina, 5g; HCl 37%, 10 mL em 1000mL de água destilada). Após incubação, o material foi centrifugado a 1.500 r.p.m. durante 2 minutos.

Três alíquotas de 25,0 µL do sedimento obtido em ambas as técnicas foram analisadas em microscopia ótica (40X e 10X), entre lâmina e lamínula de 22X22 mm, para pesquisa de larvas de *T. canis*.

Para análise do intestino, foi realizada a raspagem da parede intestinal, cujo conteúdo foi analisado pela técnica de Baermann.

Aspectos Éticos

Os protocolos experimentais contidos no projeto de pesquisa foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da instituição de origem nº 900.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base na falta de dados na literatura consultada, este é o primeiro estudo a respeito toxocaríase em peixes infectados experimentalmente. De acordo com nossos resultados, houve falta de evidência da migração de *T. canis* nos peixes infectados experimentalmente. Entretanto, autores têm avaliado o consumo de carne de peixe cru como um fator de risco para a toxocaríase (PARK et al., 2011).

Adotamos a tilápia do Nilo como o modelo experimental para avaliar uma possível migração de larvas de *T. canis*, uma vez que é uma das espécies mais cultivadas e amplamente consumidas ao redor do mundo. Além disso, atividades de recreação incluindo a pesca desportiva são populares em diversos países. No Brasil, há a criação de peixes em tanques, onde geralmente a tilápia do Nilo é criada para ser capturada em “pesque-pague”, onde após a pesca, o filé de tilápia é imediatamente cortado em filetes para ser servido cru (Sashimi).

A tilápia também tem sido considerada reservatório potencial para doenças zoonóticas, causadas por protozoários comuns aos animais de estimação humanos (cães e gatos) como a giardíase. Recentemente no Egito, foi realizado um estudo para avaliar a presença de *Giardia duodenalis* em peixes, cuja prevalência do genótipo zoonótico A correspondeu a 2,1% em cultura de *Tilapia nilotica* (Ghoneim et al., 2012). Anteriormente, na Austrália, Yang et al. (2010) verificaram a presença de trofozoítos e cistos de *G. duodenalis* no intestino de peixes selvagens de água doce e salgada. As análises filogenéticas indicaram a presença de quatro genótipos zoonóticos, incluindo os grupos A e B.

Em nosso estudo, algumas medidas foram adotadas para reduzir uma possível falha na infecção. Em primeiro lugar, foi realizado um bioensaio em camundongos para avaliar a infectividade dos ovos de *T. canis* (Taira et al., 2003), uma vez que os murinos são considerados como o melhor modelo para estudar o comportamento migratório de *Toxocara* spp. (Bardon et al., 1994). O número médio de larvas recuperadas do fígado de peixes infectados no nosso estudo correspondeu a 95, que foi maior do que as 88 larvas recuperadas por Cardillo et al. (2009) e menor do que as 168 observadas por Dunsmore et al. (1983) a partir do fígado de camundongos infectados oralmente com 1000 ovos embrionados de *T. canis* e *T. cati*, respectivamente, e avaliada 48 h após a infecção.

O número de ovos larvados utilizados para a infecção neste estudo foi de 1000. Esta quantidade de ovos, bem como as técnicas utilizadas para a recuperação de larvas têm sido amplamente utilizadas no estudo experimental sobre toxocaríase em murinos (Abo-Shehada et

al, 1984; Bardon et al, 1994; Xi, Jin, 1998; Reiterová et al, 2003; Cho et al, 2007). Além disso, além disso foi administrada aos peixes uma dose de solução corante de azul de metileno antes da infecção, a fim de verificar o sucesso da deposição oro-gástrica do inóculo. Coincidentemente, este procedimento foi adotado por Tysnes et al. (2012), com a mesma finalidade, em um estudo experimental em peixe-zebra (*Danio rerio*) modelo utilizado para infecção por *G. duodenalis*.

Embora nenhuma larva foi recuperada dos tecidos avaliados, observou-se a presença de ovos no conteúdo intestinal 24 e 48 h após a infecção. No entanto, nenhuma tentativa foi feita a fim de avaliar a presença de ovos na água, nem para a infectividade de ovos recuperados a partir do intestino de peixes.

Levando em consideração que cães e gatos podem viver nas proximidades de fazendas de peixes e suas excretas podem contaminar os lagos (Lima dos Santos e Howgate, 2011), e que a tilápia se comporta como um filtro de alimentos (*feed-filter*), uma vez que elas podem colher eficientemente o material orgânico da água (Popma e Masser, 2012), nossos resultados preliminares sugerem a possibilidade de que a tilápia poderia servir como um vetor de veiculação de *Toxocara* spp. em ambientes aquáticos.

Embora não tenha sido estudado o conteúdo estomacal das tilápias, provavelmente a ação do ácido clorídrico do estômago dos animais não fosse eficiente para que ocorresse o processo de digestão da membrana dos ovos de *T. canis*, fazendo com que estes fossem eliminados integralmente com as fezes. O pH do estômago da tilápia é ácido (pH=1,25 a 2,0), segundo Kubitzka (2011), em cães que é ligeiramente inferior a $1,8 \pm 0,07$ (LUI et al. 1986). Contudo, vários fatores, especialmente o tipo de alimento e o estresse, podem modificar o pH estomacal das tilápias.

Segundo Despommier (2003), alguns invertebrados, como a minhoca, podem transportar ovos embrionados de *T. canis*. De acordo com o presente estudo, o peixe, mesmo não sendo um invertebrado, parece se comportar como um carreador mecânico de ovos.

Embora não haja infecção de tilápias por *T. canis*, de acordo com os dados do presente estudo, experimentos para elucidar o comportamento de larvas de *Toxocara* spp. em outras espécies de peixes serão possíveis com o modelo apresentado.

A utilização de tilápia como modelo experimental proporciona facilidade de manuseio. Além disso, a manutenção de peixes em tanques permite o controle de temperatura da água, a quantidade de alimento consumido, além da observação diária dos animais. O modelo utilizado no presente estudo foi inovador, permitindo sua repetibilidade com baixo custo.

Considerou-se que, apesar das limitações, o modelo utilizado neste estudo preliminar é útil e pode ser melhorado de modo a avaliar o potencial de outras espécies de peixe como reservatório potencial de *Toxocara* spp. e outros parasitas em estudos futuros.

REFERÊNCIAS

- Abo-Shehada MN, Al-Zubaidy BA, Herbert IV. The migration of larval *Toxocara canis* in mice. I. Migration through the intestine in primary infections. *Vet. Parasitol.* 1984; 17:65-73.
- Acha P, Szyfres B. *Zoonosis y enfermedades transmissibles al hombre y a los animales*. 2 ed. Organización Mundial de la Salud: Washington, 1986.
- Altcheh J, Nallar M, Conca M, Biancardi M, Freilij H. Toxocariasis: Aspectos clínicos y de laboratorio em 54 pacientes. *An. Pediatr.* 2003; 58: 425-431.
- Azar DM. Pediatric uveitis: a Sydney clinic experience. *Clin. Experiment. Ophthalmol.* 2004; 32: 468-471.
- Bardón R, Cuéllar C, Guillén JL. Larval distribution of *Toxocara canis* in BALB/c mice at nine weeks and one year post-inoculation. *J. Helminthol.* 1994; 68: 350-360.
- Beaver PC, Snyder CH, Carrera GM, Dent JH, Lafferty JW. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. *Pediatrics.* 1952; 9: 7-19.
- Cardillo N, Rosa A, Ribicich M, López C, Sommerfelt I. Experimental infection with *Toxocara cati* in BALB/c mice, migratory behaviour and pathological changes. *Zoonoses Pub. Hlth.* 2009; 56: 198-205.
- Chieffi PP. *Contribuição ao estudo da síndrome da larva migrans visceral por Toxocara em cinco municípios do Estado de São Paulo, Brasil. Inquérito epidemiológico* [Tese-Doutorado]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 1984.
- Choi D, Lim JH, Choi DC, Lee KS, Paik SW, Kim SH, et al. Transmission of *Toxocara canis* via ingestion of raw cow liver: a cross-sectional study in healthy adults, *Korean J. Parasitol.* 2012; 50: 23-27.
- Despommier D. Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. *Clin. Microbiol. Rev.* 2003; 16: 265–272.
- Dunsmore, J.D.; Thompson, R.C.A.; Bates, I. A. The accumulation of *Toxocara canis* larvae in the brains of mice. *Int. J. Parasitol.* 1983; 13: 517-521.
- Ghoneim NH, Abdel-Moein KA, Saeed H. Fish as a possible reservoir for zoonotic *Giardia duodenalis* assemblages. *Parasitol. Res.* 2012; 110: 2193-2196.

- Hoffmeister B, Glaeser S, Flick H, Pornschlegel S, Suttorp N, Bergmann F. Cerebral toxocariasis after consumption of raw duck liver. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2007; 76: 600-602.
- Jory DE, Alceste C, Cabrera TR. Mercado y comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norteamérica. *Panor. Acuíc.* 2000; 5: 50-53.
- Kubitza F. *Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial*. Jundiaí: Acqua Supre Com. Suprim. Aquicultura. 2ed. 2011. 316 p.
- Lima dos Santos CAM, Howgate P. Fishborne zoonotic parasites and aquaculture: A review . *Aquaculture*. 2011; 318:253–261
- Lui CY, Amidon GL, Berardi RR, Fleisher D, Youngberg C, Dressman JB. Comparison of gastrointestinal pH in dogs and humans: implications on the use of the beagle dog as a model for oral absorption in humans. *J. Pharmac. Sci.* 1986; 75:271-274.
- Magnaval JF, Glickman LT, Dorchie P, Morassin B. Highlights of human toxocariasis. *Korean J. Parasitol.* 2001; 39: 1-11.
- Morimatsu Y, Akao N, Akiyoshi H, Kawazu T, Okabe Y, Aizawa H. 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. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2006; 75: 303-306.
- Nagakura K, Tachibana H, Kaneda Y, Kato Y. Toxocariasis possibly caused by ingestion of raw chicken. *J. Infect. Dis.* 1989; 160: 735-736.
- Park S, Kim YS, Kim YJ, Kyung SY, Park JW, Jeong SH, Lee Sp. Toxocariasis masquerading as liver and lung metastatic nodules in patients with gastrointestinal cancer: Clinicopathologic study of five cases. *Dig. Dis. Sci.* 2011; 57: 155-160.
- Phan V, Ersbøll A, Do D, Dalsgaard A. Raw-fish-eating behavior and fishborne zoonotic trematode infection in people of northern Vietnam. *Foodborne Pathog. Dis.* 2011; 8: 255-260.
- Pecinali NR, Gomes RN, Amendoeira FC, et al. Influence of murine *Toxocara canis* infection on plasma and bronchoalveolar lavage fluid eosinophil numbers and its correlation with cytokine levels. *Vet. Parasitol.* 2005; 134: 121-130.
- Popma T; Masser M. Tilapia life history and biology. In: SRAC Publication n. 283. Disponível em: <https://srac.tamu.edu/index.cfm/event/getFactSheet/whichfactsheet/53>. acesso em 31 de outubro de 2012.
- Reiterová K, Tomasovicová O, Dubinský P. Influence of maternal infection on offspring immune response in murine larval toxocariasis. *Parasite Immunol.* 2003; 25: 361-368.
- Ross LG, Ross B. *Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals*. Oxford: Blackwell Science, 1999.

- Rugai E, Mattos T, Brisola AP. Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes: modificação do método de Baermann. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 1954; 14: 1-8.
- Salem G, Schantz P. Toxocaral visceral larva migrans after ingestion of raw lamb liver. *Clin. Infect. Dis.* 1992; 15: 743-744.
- Schantz P. Toxocara larva migrans now. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 1989; 41: 21-34.
- Stürchler D, Weiss N, Gassman M. Transmission of toxocariasis. *J. Infect. Dis.* 1990; 162: 571.
- Taira K, Permin A, Kapel CMO, Establishment and migration pattern of *Toxocara canis* larvae in chickens. *Parasitol. Res.* 2003; 90: 521-523.
- Tysnes KR, Jørgensen A, Poppe T, Midtlyng PJ, Robertson LJ. Preliminary experiments on use of zebrafish as a laboratory model for *Giardia duodenalis* infection. *Acta Parasitol.* 2012; 57:1-6.
- Xi, WG.; Jin, LZ. A novel method for the recovery of *Toxocara canis* in mice. *J. Helminthol.*, 1998; 72:183-184.
- Yang R, Reid A, Lymbery A, Ryan U. Identification of zoonotic *Giardia* genotypes in fish. *Int. J. Parasitol.* 2010; 40: 779–785.
- Yoshikawa M, Nishiofuku M, Moriya K, Ouji Y, Ishizaka S, Kasahara K, Mikasa K, Hirai T, Mizuno Y, Ogawa S, Nakamura T, Maruyama H, Akao A. A familial case of visceral toxocariasis due to consumption of raw bovine live. *Parasitol. Int.* 2008; 57: 525-529.
- Zinkham WH. A review and reassessment indicating two forms of clinical expression: visceral and ocular. *Am. J. Dis. Child.* 1978; 132: 627-628.

ANEXO

Ovos larvados de *Toxocara canis* recuperados do conteúdo intestinal de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) infectada experimentalmente por *T. canis*.

