
AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE OVICIDA E LARVICIDA DA IVERMECTINA SOBRE

Lagochilascaris minor

Carlos Augusto Lopes Barbosa,¹ Dulcinéa Maria Barbosa Campos,² Miguel Alípio Vieira³ e Jayrson Araújo de Oliveira⁴

RESUMO

Através de ensaios terapêuticos *in vitro* avaliou-se a ação da ivermectina (IVM) sobre ovos de *Lagochilascaris minor*. Foram utilizados ovos recém-eliminados (Experimento I - ação sobre ovos não embrionados) e ovos com 40 dias de cultura (Experimento II - ação sobre ovos embrionados). Em ambos os experimentos, as suspensões de ovos dos grupos teste foram colocadas em solução de IVM na concentração de 200 µg/l de formalina a 1%, por 28 dias, à temperatura ambiente. Para o controle dos experimentos, utilizou-se uma suspensão de ovos do parasito mantida em solução de formalina a 1%. A avaliação da eficácia terapêutica da IVM foi feita através do cálculo do percentual de embriogênese e do teste de infectividade. Observou-se que a IVM, na concentração de 200 µg por litro de formalina a 1% durante 28 dias, não impediu o processo de embriogênese e nem desvitalizou larvas do interior de ovos de *L. minor*.

UNITERMOS: Ivermectina. *Lagochilascaris minor*. Teste *in vitro*.

INTRODUÇÃO

Campos & Freire-Filha (1989), através da dissecação uterina de fêmeas adultas de *Lagochilascaris minor* colhidas de abscessão cervical da paciente A.C.S., obtiveram ovos que foram colocados em solução de formalina a 1% e observados por um período de 30 dias. Estes autores observaram a ocorrência de duas mudas cuticulares no interior dos ovos de *L. minor*. A primeira muda foi vista entre 12 e 14 dias e a segunda por volta de 19 e 21 dias de observação.

1 Professor Assistente do Departamento de Parasitologia

2 Professora Titular do Departamento de Parasitologia

3 Professor Adjunto do Departamento de Parasitologia

4 Técnico de Laboratório do Departamento de Parasitologia

Endereço para correspondência: Dulcinéa Maria Barbosa Campos - Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública - Departamento de Parasitologia - Universidade Federal de Goiás, Rua Delenda Rezende de Melo, s/n, Goiânia-GO, Brasil. e-mail dmcampos@ipe.ufg.br

Recebido para publicação em 20/09/96. Revisto em 11/08/97. Aceito em 28/08/97.

Observações semelhantes, referentes à ocorrência de duas mudas cuticulares no interior do ovo em outras espécies da família Ascardidae, foram registradas anteriormente por Araújo (1972) e Bressan & Evangelista (1983).

As demais fases do ciclo evolutivo experimental de *L. minor* foram relatadas por Campos et al. (1992), Freire-Filha & Campos (1992). Segundo estes autores, camundongos atuam como hospedeiros intermediários e os gatos domésticos como hospedeiros definitivos. Posteriormente, Campos et al. (1993) relataram a semelhança das localizações das lesões, tanto no homem quanto no hospedeiro definitivo experimental, uma vez que em ambas as tumorações, fistuladas ou não, podem ser encontradas nas regiões da orofaringe, pescoço, ouvido, sistema nervoso central, pulmões etc. Outro fenômeno observado por Campos et al. (1992) e Barbosa (1996) refere-se à ocorrência do ciclo auto-infectante em ambos os hospedeiros. Estes autores relataram o encontro de ovos e larvas, em várias fases de desenvolvimento, assim como de vermes adultos tanto em lesões humanas quanto em tecidos de gatos infectados experimentalmente.

Sem dúvida, a ocorrência do ciclo auto-infectante dificulta a terapêutica da lagochilascariase uma vez que as drogas disponíveis teriam que ser eficazes sobre todas as fases do ciclo evolutivo do parasito. Na lagochilascariase humana são frequentes os relatos de infecções crônicas com encontro de várias fases do ciclo evolutivo do parasito nas lesões (Pawan 1926, 1927; Oostburg & Varma, 1968; Artigas et al., 1968; Oostburg 1971; Borgo et al., 1978; Leão et al., 1978; Corrêa et al., 1978; Campos et al., 1983; Moraes et al., 1983; Fraiha et al., 1983; Botero & Little 1984; Rocha et al., 1984; Costa et al., 1986; Souza et al., 1986; Telles Filho et al., 1987).

Há numerosos registros que reportam insucesso no tratamento da lagochilascariase após o uso de derivados benzimidazólicos (Draper, 1963; Oostburg et al., 1968; Borgo et al., 1978; Leão et al., 1978; Moraes et al., 1983; Bacarat et al., 1984; Rocha et al., 1984; Orihuela et al., 1987; Campos et al., 1991; Oostburg et al., 1992).

Resultados satisfatórios com o uso da ivermectina em várias nematodioses têm sido relatadas.

Há relatos de eficácia superior a 95%, na dosagem de 50 µg/kg, sobre *Haemonchus contortus*, *Ostertagia ostertagi*, *O. circumcincta*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Dictyocaulus viviparus* e *D. filaria* (Bogan & Mc Kellar 1988). Eficácia semelhante foi também observada na dosagem de 200 µg/Kg, em ovelhas infectadas experimentalmente por *H. contortus*, *O. ostertagi*, *T. columbriformes*, *Cooperia curticei* e *Oesophagostomum columbianum* (Egerton et al., 1980). A eficácia desta droga foi demonstrada no tratamento de infecções por vermes pulmonares em ovinos, eqüinos e suínos (Campbell, 1985) e em cães infectados com *Filarioides osleri*, utilizando-a na dosagem de 400 µg/kg (Clayton, 1983). Resultados satisfatórios foram observados, quando a droga foi utilizada em diferentes dosagens, em gatos infectados com helmintos,

como *Ancylostoma* sp. - 10 a 100 µg/Kg, *Toxocara cati* - 200µg/kg e *Aelurostrongylus abstrusus* - 400 µg/Kg (Kirkpatrick & Megella 1987). Mak et al. (1987) relataram eficácia de 99% em macacos (*Presbytis cristata*) inoculados com larvas infectantes de *Brugia malayi* mensalmente, durante três meses, e tratados simultaneamente com IVM oral na dosagem de 200-300 µg/kg. A IVM mostrou-se altamente ativa contra *Strongyloides westeri* e outros nematódeos intestinais de cavalos. Em ratos, foi demonstrada sua eficácia na remoção da *Syphacia muris* do trato intestinal (Battles et al., 1987). Em camundongos, devido à excelente atividade anti-helmíntica contra larvas e vermes adultos de *Strongyloides ratti* e larvas de *S. stercoralis*, foi considerado promissor no tratamento da estrogiloidíase humana (Grove, 1983). A IVM *in vitro*, nas concentrações de 50 a 250 µg, induziu a um processo de desvitalização da larva de *L. minor* no interior do ovo (Campos et al., 1988) e mostrou-se eficaz na imobilização de larvas de 3º e 4º estágio de *Pseudoterranova decepiens*, expostas à droga nas concentrações de 1 a 500 µg/l em meio de cultura (Manley & Embil 1989).

Estes dados motivaram a realização deste trabalho. Pelo exposto, observou-se que sobre helmintos a IVM tem sido empregada em concentrações que variam entre 50 e 400 µg/kg. Optou-se pela concentração de 200 µg/l, em suspensão de ovos de *L. minor*, por analogia a resultados satisfatórios sobre outros ascarídeos, utilizando-se a droga na dosagem de 200 µg/kg.

MATERIAL E MÉTODOS

Camundongos

Foram utilizados 40 camundongos isogênicos da linhagem C57BL/6, de ambos os sexos, pesando cada um aproximadamente 20 g, com idade entre 60 e 90 dias, obtidos no biotério do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/Universidade Federal de Goiás.

Cultura de ovos

Os ovos do parasito foram obtidos através da sedimentação de fezes de gatos infectados experimentalmente. A suspensão de ovos foi mantida à temperatura ambiente, em solução de formalina a 1% (formol 40V diluído 1/100), em cálices de sedimentação, sendo feita a oxigenação diária por agitação manual. O período médio de manutenção da suspensão de ovos em cultivo foi de 40 dias, tempo necessário para a formação e o desenvolvimento das larvas infectantes (ovos com larva de terceiro estágio no interior).

Percentual de embriogênese

Decorrido o período de 40 dias da suspensão de ovos do parasito em solução de formalina a 1% em temperatura ambiente, foi calculado o percentual de embriogênese (porcentagem de ovos embrionados), através da contagem de ovos larvados e não larvados, com auxílio de microscópio óptico, empregando-se uma regra de três simples.

Avaliação da viabilidade das larvas no interior dos ovos

Após a determinação do percentual de embriogênese dos ovos, verificou-se a viabilidade das larvas de *L. minor* através de dois procedimentos:

1. Motilidade - Com auxílio de microscópio óptico, avaliou-se a motilidade das larvas obtidas por ruptura dos ovos através de compressão entre lâmina e lamínula.
2. Infectividade - Este teste consistiu na inoculação de hospedeiros susceptíveis (camundongos C57BL/6), por via oral, com 1.000 ovos do parasito/animal. Estes animais foram necropsiados e submetidos à pesquisa de larvas 60 dias após o inóculo. Para avaliar o teste de infectividade utilizou-se o índice de infecção, ou seja, a porcentagem de larvas recuperadas em relação ao número de ovos inoculados, através da seguinte fórmula:

$$I.I. = \frac{L \times 100}{N}$$

I.I. = Índice de infecção

L = Nº de larvas recuperadas

N = Nº de ovos inoculados

Droga

Foi utilizada a ivermectina, um derivado da avermectina B1 22, 23 dihidro, uma lactona macrocíclica produzida pelo actinomiceto *Streptomyces avermectilis*, com nome comercial de Ivomec®. Para os estudos *in vitro* a droga (1% P/V) foi diluída em solução de formalina a 1% (formol 40V diluído 1/100).

EXPERIMENTO I. Ação *in vitro* da IVM sobre ovos não embrionados

Para verificar a ação da droga sobre ovos não embrionados (Figura 1) foi preparada uma suspensão de 20.000 ovos recém-eliminados do parasito (fezes de gatos infectados), a qual foi colocada em contato com solução de ivermectina, diluída em solução de formalina a 1% na concentração de 200 µg/l, durante 28 dias, em placas de Petri à temperatura ambiente, fazendo-se a oxigenação diária por agitação (grupo teste). Após este período, a suspensão de ovos foi lavada por três vezes em água destilada, retornando-a ao cultivo em solução de formalina a 1% até o 40º dia. Decorrido este período, foi calculado o percentual de embriogênese e realizado o teste de motilidade, utilizando-se cerca de 50% dos ovos da referida suspensão. O restante do material foi utilizado no teste da infectividade das larvas. Para a realização do teste, foram utilizados 20 camundongos da linhagem C57BL/6 (grupo I) que foram divididos, igualmente, em dois subgrupos: I-A e I-B. Cada animal do subgrupo I-A foi inoculado com 1.000 ovos do parasito, provenientes do restante da suspensão de ovos que entrara em contato com a droga. Procedimento semelhante foi empregado para os animais do subgrupo I-B, porém o inóculo foi constituído por ovos de *L. minor*, mantidos em solução de formalina a 1% (grupo controle).

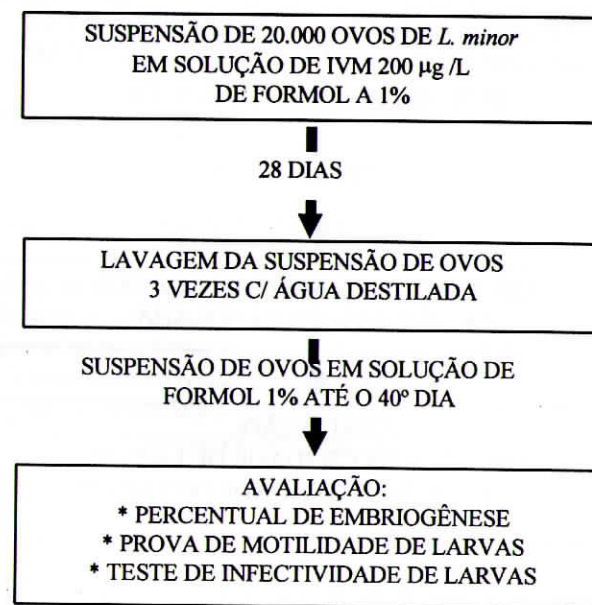


Figura 1. Esquema do ensaio terapêutico da IVM sobre ovos não embrionados.

EXPERIMENTO II. Ação *in vitro* da IVM sobre ovos embrionados

Para verificar a ação da droga sobre ovos embrionados (Figura 2), foi preparada uma suspensão de 20.000 ovos do parasito, mantidos em cultura por 40 dias em solução de formalina a 1%. Após centrifugação (1500 r.p.m.), a suspensão de ovos contendo larvas de terceiro estágio foi colocada em contato com uma solução de IVM na concentração de 200 µg/l de formalina a 1%, durante 28 dias, em placas de Petri à temperatura ambiente, sendo mantida a oxigenação diária por agitação.

Decorrido este período, lavou-se a suspensão de ovos por três vezes com água destilada, procedeu-se à avaliação da eficácia da droga, através dos critérios já citados, isto é, o da determinação da viabilidade das larvas no interior dos ovos (motilidade e infectividade das larvas). Para o teste de infectividade foram utilizados 20 camundongos (Grupo II) que foram divididos, igualmente, em dois subgrupos: subgrupo II-A e II-B. Os animais do subgrupo II-A foram inoculados com ovos embrionados (1.000 ovos do parasito/animal), mantidos em contato com a droga, e os do subgrupo II-B com ovos mantidos em solução de formalina a 1% (grupo controle).

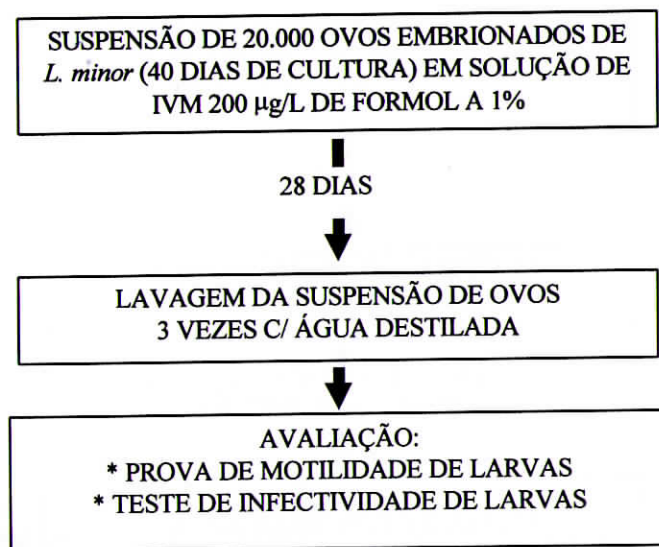


Figura 2. Ensaio terapêutico da IVM sobre ovos embrionados

RESULTADOS

Resultados preliminares sobre o percentual de embriogênese de ovos provenientes de oviposição espontânea (fezes de gatos infectados experimentalmente) e de dissecação uterina de fêmeas adultas de *Lagochilascaris minor* demonstraram que os ovos obtidos de fezes apresentaram um percentual de embriogênese superior a 90%, quando mantidos em solução de formalina a 1% por 40 dias. Os ovos obtidos por dissecação uterina apresentaram um percentual de embriogênese inferior a 30%. Por esse motivo, optamos pela utilização de ovos provenientes de fezes de gatos infectados para a realização dos experimentos.

EXPERIMENTO I. Ação *in vitro* da IVM sobre ovos não embrionados

Observou-se um percentual de embriogênese superior a 90% em ovos recém-eliminados (Figura 3), tanto submetidos à ação da droga (grupo teste) como aqueles mantidos em solução de formalina a 1% (grupo controle).

Todas as larvas de ambos os grupos, eclodidas por compressão entre lâmina e lamínula, apresentaram motilidade "serpenteante", característica de larvas viáveis de nematódeos quando observadas por microscópio óptico (Figura 3).

O teste de infectividade demonstrou índices de infecção de 10,4% para os animais inoculados com ovos do grupo teste e 11,1% com os do grupo controle.

EXPERIMENTO II. Ação da IVM sobre ovos embrionados

Observou-se que houve motilidade em 100% das larvas, tanto da suspensão de ovos submetida à ação da IVM (grupo teste) quanto daquela mantida em solução de formalina a 1% (grupo controle).

O teste de infectividade revelou índices de infecção de 11,7%, para os camundongos inoculados com ovos submetidos à ação da droga (subgrupo II-A) e 9,3 para os animais do grupo controle (subgrupo II-B).



Figura 3. Aspecto do ovo de *Lagochilascaris minor* em processo de embriogênese, larvado e larva eclodida por compressão entre lâmina e lamínula. Aumento de 10×40.

DISCUSSÃO

A presença de diferentes estádios evolutivos no local das lesões (Pawan 1926, 1927; Oostburg & Varma, 1968; Artigas et al., 1968; Oostburg, 1971; Borgo et al., 1978; Leão et al., 1978; Corrêa et al., 1978; Campos et al., 1983; Moraes et al., 1983; Fraiha et al., 1983; Botero & Little, 1984; Rocha et al., 1984; Costa et al., 1986; Souza et al., 1986; Telles Filho et al., 1987 e Campos et al., 1989) confirma a reprodução do parasito nos tecidos humanos (auto-infecção), justificando a longa persistência do parasito e caracterizando a evolução crônica da lagochilascariase. Na lagochilascariase experimental também tem sido observada a presença de todas as fases evolutivas do parasito no local do abscesso (Campos et al., 1992). Este fenômeno induz à cronicidade da doença e dificulta a terapêutica, uma vez que a droga utilizada teria que atuar simultaneamente sobre ovos, larvas e vermes adultos. A reprodução experimental do ciclo evolutivo de *Lagochilascaris minor*, feita de rotina em nossos laboratórios, inicialmente obtida por Campos et al. (1989), permite-nos verificar a eficácia terapêutica de medicamentos sobre cada fase evolutiva do parasito.

Apesar da introdução de vários fármacos anti-helmínticos no mercado, ainda não há um medicamento específico ideal, capaz de conferir a cura definitiva do processo parasitário desta helmintíase. Várias drogas já foram utilizadas no tratamento da lagochilascariase humana, tais como

dietilcarbamazina, tiabendazol, mebendazol, levamisol, cambendazol e albendazol. Algumas associações de drogas foram experimentadas, como, por exemplo, cambendazol com levamisol (Leão et al., 1985). Não houve sucesso na maioria dos esquemas terapêuticos empregados. Apesar do uso de drogas em concentrações elevadas, dos esquemas terapêuticos prolongados e da prática de ressecção de tecidos envolvidos na infecção, grande número de casos de recidivas têm sido registrados (Draper, 1963; Oostburg & Varma, 1968; Borgo et al., 1978; Leão et al., 1978; Moraes et al., 1983; Bacarat et al., 1984; Rocha et al., 1984; Orihuela et al., 1987; Campos et al., 1991; Oostburg, 1992).

Trabalhos a respeito da farmacodinâmica da ivermectina demonstraram que, após a administração na dosagem de 200 µg/kg por via subcutânea em caprinos e ovinos, as concentrações plasmáticas da droga foram crescentes a partir da 2ª hora ($4,8 \pm 1,2$ ng/ml), atingindo um pico máximo de $32,2 \pm 3,2$ ng/ml na 36ª hora, decrescendo a partir daí e sendo detectada somente até o 21º dia, na concentração de $0,8 \pm 0,4$ ng/ml (Bogan & Mc Kellar, 1988). Em um estudo sobre a farmacodinâmica da droga em voluntários humanos, ficou demonstrado um pico de concentração plasmática de 52 ng/ml três horas após a administração e a aparente vida média foi de 22 horas. Outros estudos demonstraram que a droga foi detectada no fígado e no tecido adiposo 28 dias após a administração (Mandell & Ananeu, 1988).

A eficácia da ivermectina foi demonstrada sobre vários helmintos, sobretudo nematódeos, em diversas fases evolutivas e em diferentes hospedeiros (Campbell, 1982). Em humanos, a droga foi considerada eficaz no tratamento de algumas helmintíases intestinais, como strongiloidíase, ascariíase, enterobiose e tricuriase (Naquira et al., 1989). Graças a seu excelente potencial microfilaricida, a IVM foi considerada a droga de escolha no tratamento da oncocercose e filariose. A partir de março de 1992, mais de 7 milhões de comprimidos (Mectizan®) foram distribuídos para aproximadamente 5 milhões de pessoas em pelo menos 30 países da África e América do Sul para o controle destas endemias (Guerrero, 1993).

No presente estudo, observou-se que a ivermectina, na concentração de 200 µg por litro de formalina a 1%, durante 28 dias, não impediu a embriogênese nem desvitalizou larvas no interior dos ovos de *L. minor*. Esses resultados diferem dos obtidos por Campos et al. (1988), que observaram a destruição da larva no interior do ovo. É provável que a diluição da droga em solução de formalina a 1% possa reduzir a superfície de contato entre a mesma e a casca do ovo. Apesar dos resultados obtidos, este trabalho estimulou-nos avaliar a ação desta droga sobre as demais fases do ciclo evolutivo experimental do parasito.

SUMMARY

In vitro evaluation of the ovicide and larvicide activity of ivermectin over *Lagochilascaris minor*

The action of ivermectin (IVM) over *Lagochilascaris minor* eggs was evaluated. Recently eliminated eggs (experiment 1 - action over non embrionated eggs) and 40 day culture eggs (experiment 2 - action over embrionated eggs) were used. In both experiments, the egg suspensions were placed in a IVM 200 µg/l in formaldehyde 1% solution for 28 days, at room temperature. An egg suspension kept in a 1% formaldehyde solution was used as the control group. The evaluation of the IVM therapeutic efficacy was carried out through the embryogenesis percentage and the infectivity test. We have observed that the IVM 200 µg/l in formaldehyde 1% solution was ineffective against early stages *Lagochilascaris minor* eggs.

KEYWORDS: Ivermectin. *Lagochilascaris minor*. Therapeutic trials.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. Artigas, P.T., Araujo, P., Romiti, N. & Ruivo, M. Sobre um caso de parasitismo humano por *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 2: 78-83, 1968.
02. Araújo, P. Observações pertinentes às primeiras ecdises de larvas de *Ascaris lumbricoides*, *A. suum* e *Toxocara canis*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 14: 83-90, 1972.
03. Bacarat, D.A., Freire, E.L., Aquino, J.L. Oto-mastoidite crônica por *Lagochilascaris minor* com comprometimento da região temporo-parieto-occipital. *Rev. UFMT*, 2: 9-14, 1984.
04. Barbosa, C.A.L., Avaliação da eficácia do ivermectin sobre fases do ciclo evolutivo experimental de *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. Goiânia, 1996. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) - Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública - Universidade Federal de Goiás.
05. Battles, A.H., Adams, S.W., Courtn.R.T. EY, C.H., Miladinich, C. Efficacy of ivermectin against natural infection of *Syphacia muris* in rats. *Lab. Anim. Sci.*, 6:791-792, 1987.
06. Bogan, J.A., MC Keller, Q.A. The pharmacodynamics of ivermectin in sheep and cattle. *J. Vet. Pharmacol Therap.*, 11:260-267, 1988.
07. Borgo, A.V., Andrade, A.L.S., Pedrosa, R.B., Barbosa, W., Komma, M.D. Infecção por *Lagochilascaris minor* - apresentação de caso. In: *Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, e Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia*, João Pessoa, 1978. tema livre n.391.
08. Botero, D., Little, M.D. Two cases of human *Lagochilascaris* infection in Colombia. *Am. J. Trop. Hyg.*, 33:381-386, 1984.
09. Bressan, M.C.V., Evangelista, M.G.B.F. Observações sobre a segunda muda de larvas de *Parascaris equorum*, *Toxocara cati* e *Toxascaris leonina*. In: *VI Congresso da Federación Latino-americana de Parasitólogos*. São Paulo-Brasil. 1983, p. 97.
10. Campbell W.C. Efficacy of the avermectins against filarial parasites: a short review. *Vet Res Commun.*, 5:251-262, 1982.
11. Campbell, W.C. Ivermectin: an update. *Parasit. today*, 1: 10-16, 1985.
12. Campos, D.M.B., Komma, M.D., Santos, M.A.Q., Pitaluga, W.M.N.V. *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909: casos diagnosticados no Departamento de Parasitologia (Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da UFG). In: *Congresso da Federación Latino-americana da Parasitólogos, e Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia*, 8, São Paulo, 1983. tema livre n.100.
13. Campos D.M.B., Carneiro J.R., Souza, L.C.S. Ação "in vitro" do Ivermectin sobre ovos de *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 30:305-309, 1988.
14. Campos D.M.B., Freire Filha, L.G. Considerações sobre a evolução do *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. II-Suceptibilidade de diferentes linhagens de camundongos e hamster a ovos embrionados do parasito. In: *Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 25., 1989. p. 220.
15. Campos, D.M.B., Maia, M.A., Freire Filha, L.G. Vieira, M.A., Carvalho, S.M.D. Infecção por *Lagochilascaris minor*. Registro de um novo caso e ilações de natureza epidemiológica. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 33:41, 1991.
16. Campos, D.M.B., Freire-Filha, L.G., Vieira, M.A., Paço, J.M., Maia, M.A. Experimental life cycle of *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*. 34: 277-287, 1992.
17. Campos, D.M.B., Paço, J.M., Maia, M.A., Farah, A.R.S. *Lagochilascariase* experimental, avaliação clínica e histopatológica. In: *Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 29., 1993. Resumos. p.346.
18. Clayton, H.M. The management and treatment of respiratory nematode infections in small animals. *Vet annu.* 23:254-259, 1983.
19. Corrêa, M.O.A., Hyakutake, S., brande, A.J., Monteiro, C.G. Novo caso de parasitismo humano por *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. *Rev. Inst. Adolf Lutz*. 38:59-65, 1978.
20. Costa, H.M.A., Silva, A.V.M., Costa, P.R., Assis, S.B. *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, (Nematoda Ascaridae) de origem humana. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*. 28:126-130, 1986.
21. Draper, J.W. Infection with *Lagochilascaris minor*. *Brit. Med. J.*, .5335:931-932, 1963.
22. Egerton, J.R., Birbaum, J., Blair, L.S., Chabala, J.C., Conroy, J., Fisher, M.H., Mrozik, H., Ostfild, D.A., Wilkins, C.A., Campbell, W.C. 22,23-dihydroavermectin B1, a new broad-spectrum antiparasitic agent. *Brit. vet. J.* 136: 88, 1980.
23. Fraiha, H., Rocha, M.P., Araújo, D.J., Barros, V.L.R.S. Patologia amazônica exótica. II: Infecção humana por *Lagochilascaris minor* Leiper, 1906 (Nematoda, Ascarididae). Registro de três novos casos, e formulação de nova hipótese para o mecanismo de infecção. In: *congresso da sociedade brasileira de parasitologia e VI Congresso da Federación Latino-americana de Parasitólogos*, 8., 1983. Resumos. p.146.
24. Freire Filha, L.G., Campos, D.M.B. Considerações sobre o desenvolvimento de *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909 em camundongos isogênicos da linhagem C57BL/6. *Rev. Pat. Trop.*, 21: 219-233, 1992.
25. Grove, D.I. The effects of 22, 23-dihidro avermectin b1 on *Strongyloides ratti* and *S. stercoralis* infection in mice. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 77:705-710, 1983.
26. Guerrero, J. Use of ivermectin in humans. *Technical Bulletin/World Health Organization*. 89-93, 1993.
27. Kirkpatrick, C.E., Megella C. Use of ivermectin in treatment of *Aglurostrongylus abstrusus* and *Toxocara cati* infections in a cat. *JAMA*. 190:1309-1310, 1987.
28. Leão, R.N.Q., Leão Filho, J., Dias, L.B., Calheiros, L.B. Infecção humana pelo *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. Registro de uma caso observado no Estado do Pará (Brasil). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*. 20:300-306, 1978.
29. Leão, R.N.Q., Fraiha, S.C., Tonini, K.C., Silva, J.A.P.R. Perspectivas de emprego do cambendazol na lagoquilascariase. In: *Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 21, 1985. n. 73.
30. Mak, J.W., Lam, P.L.W., Noorain, A., Suresh, K. Chemophilic studies with ivermectin against subperiodic *Brugia malayi* infection in the leaf monkey, *Presbytis cristata*. *J. helmitol.* 61:311-314, 1987.
31. Manley, K.M., Embil, J.A. In vitro effect of ivermectin on *Pseudoterranova decepiens* survival. *J. Helmitol.* 63: 72-74, 1989.
32. Mandell, W.F., Ananeu, H.C. Parasitic infections: therapeutic considerations. *Medical clinics of north America*. 72: 669-689, 1988.

33. Moraes, M.A.P., Arnaud, M.V.C., Lima, P.E. Novos casos de infecção humana por *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, encontrados no Estado do Pará, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 25:139-146, 1983.
34. Naquira, C., Jimenez, G., Guerra, J.G., Bernal, R., Nalin, D.R., Neu, D., Aziz, M. Ivermectin for human strongyloidiasis and other intestinal helminths. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 40: 304-309, 1989.
35. Oostburg, B.F.J. Thiabendazole therapy of *Lagochilascaris minor* infection in Surinam, report of a case. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 20:580-583, 1971.
36. Oostburg, B.F.J., Varma, A.A.O. *Lagochilascaris minor* infection in Surinam, report of a case. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 17:548-550, 1968.
37. Oostburg, B.F.J. The sixth case of *Lagochilascaris minor* in Surinam. *Trop. Geogr. Med.* 154-159, 1992.
38. Orihuela, R., Botto, C., Delgado, O., Ortiz, A., Soares, J.A., Arguello, C. *Lagochilascaris humana* en Venezuela: Descripción de um caso fatal. *Rev. Soc. Bras. Med. trop.*, 20: 217-221, 1987.
39. Pawan, J.L. A case of infection with *Lagochilascaris minor*, Leiper. 1909 *Ann. Trop. Med. Parasit.*, n.20, :201-202, 1926.
40. Pawan, J.L. Another case of infection with *Lagochilascaris minor*, Leiper 1909. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 21: 45-46, 1927.
41. Rocha, M.P.C., Fraiha Neto, H., Barreto Net, A.C.P. Infecção de ouvido médio e mastóide por *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909 (Nematoda, Ascarididae). Relato de um caso do Sul do estado do Pará, Amazônia, Brasil. *Hiléia Médica*, 2:3-14, 1984.
42. Souza, L.C.S., Pinto, R.N.L., Pacheco, R.R.G., Pereira, L.I.A., Campos, D.M.B. *Lagochilascaris minor*, relato de dois casos. In: *Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 22., *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 19 (supl.): 68, 1986.
43. Telles Filho, F.Q., Ciola, M.P.P., Ioshii, S.O., Serafini, S.Z., Hofmeister, R., Carneiro, M. Infecção por *Lagochilascaris minor* (Leiper, 1909): relato de um caso. In: *Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 23 Cong. da Soc. Bras. de Infectologia, Curitiba, Brasil. *Rev. Sociedade. Bras. Med. Trop.*, 20 (supl.): 85, 1987