

**Hugo Leonardo da Cunha Amaral**

**Presença de ovos de *Toxocara* sp. em pêlos de cães: um fator de risco para aquisição da *Larva Migrans* Visceral e *Larva Migrans* Ocular**

Trabalho acadêmico apresentado ao Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Elisabeth Aires Berne

Pelotas, 2008

**Banca examinadora:**

Profa. Dra. Maria Elisabeth Aires Berne

Me. Tiago Gallina Corrêa

Me. Nilton Azevedo da Cunha Filho

Me. Tatiana Cheuiche Pesenti

## Presença de ovos de *Toxocara* sp. em pêlos de cães: um fator de risco para aquisição da *Larva Migrans* Visceral e *Larva Migrans* Ocular

Hugo Leonardo da Cunha Amaral<sup>1</sup>, Gabriela Lopes Rassier<sup>1</sup>, Michele Soares Pepe<sup>1</sup>, Márcia de Oliveira Nobre<sup>2</sup>, Marcos Marreiro Villela<sup>1</sup>, Maria Elisabeth Aires Berne<sup>1</sup>

Instituto de Biologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Universitário, s/nº, 96010-900, Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil. <sup>1</sup> Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, RS, Brasil. <sup>2</sup> Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, RS, Brasil.

### Resumo

*Toxocara canis* é um ascarídeo de distribuição mundial, tendo os canídeos como hospedeiros definitivos e, no homem, este parasito pode causar a Síndrome da *Larva Migrans* Visceral (LMV) e *Larva Migrans* Ocular (LMO). Em recentes trabalhos tem sido mostrado que ovos de *T. canis* podem ficar aderidos aos pêlos dos cães. Foram coletadas amostras de pêlos de 94 cães de diferentes faixas etárias, sendo 30 animais domiciliados e 64 errantes. Desse total, 20 (21,28%) amostras de pêlos continham ovos de *T. canis*, sendo 17 (85,0%) de filhotes e três (15,0%) de adultos. Foi contabilizado um total de 822 ovos, e embora tenha havido grande diferença no número de ovos viáveis encontrados em cães de pêlos curtos, quando comparados a cães de pêlos longos, a idade foi ainda o único fator que influenciou na intensidade de ovos observados, sendo os filhotes responsáveis por 99,27% do total de ovos. Estudo como este mostra que cães errantes, principalmente filhotes, são hospedeiros em potencial para esse parasito e que não somente solos contaminados servem como ambiente para o seu desenvolvimento.

Palavras-chave: Saúde Pública – Zoonoses – Toxocarose

## **Sumário**

1. Projeto de Pesquisa	5
1.1. Caracterização do Problema	6
1.2. Objetivos e Metas	7
1.3. Metodologia e Estratégia de ação	8
1.4. Repercussões e/ou impactos dos resultados	10
1.5. Cronograma	10
1.6. Orçamento	11
1.7. Outros Projetos e Financiamentos	11
1.8. Referências Bibliográficas	12
2. Artigo	
2.1. Resumo	14
2.2. Introdução	15
2.3. Material e Métodos	16
2.4. Resultados e Discussão	18
2.5. Conclusão	23
2.6. Referências	24



## PROJETO DE PESQUISA



**Presença de ovos de *Toxocara* sp. em pêlos de cães: um fator de risco para aquisição da *Larva Migrans* Visceral e *Larva Migrans* Ocular**

Equipe:

Orientadora: Profa. Dra. Maria Elisabeth Aires Berne

Acadêmico: Hugo Leonardo da Cunha Amaral

Colaboradores:

Prof. Dr. Marcos Marreiro Villela

Me. Michele Soares Pepe

Mestranda: Gabriela Lopes Rassier

Pelotas, outubro de 2008.

## 1.1. Caracterização do Problema

*Toxocara canis* (Werner, 1782) é um nematóide parasita de cães domésticos e selvagens. Este parasito pertence à ordem Ascaridida Skrjabin & Schulz, 1940, superfamília Ascaroidea Railliet & Henry, 1915, e a família Anisakidae Skrjabin & Karokhim, 1945. A infecção de cães por *T. canis* pode ocorrer através da ingestão de ovos em seu estágio L<sub>3</sub>, transplacentária, transcolostral ou pelo consumo de hospedeiros paratênicos (ratos), devido ao hábito predatório apresentado pelos canídeos (Soulsby, 1982; Abo-Shehada, 1989; Roberts & Janovy, 1996; Overgaauw, 1997).

No solo, em condições favoráveis de umidade, temperatura e oxigenação, os ovos sofrem desenvolvimento embrionário e, em torno de 28 dias, a larva atinge o estágio infectante (L<sub>3</sub>), dentro do ovo (Neves 2002). Estes ovos têm sua casca externa digerida no estômago e no intestino delgado liberam a larva, que penetra na mucosa e atinge vários tecidos somáticos via circulação sangüínea. Em sua forma adulta, vive no intestino delgado de seu hospedeiro produzindo uma grande quantidade de ovos (Rey, 2008).

Cães jovens e errantes são os principais responsáveis pela contaminação de ovos de *T. canis* no ambiente, visto, em muitas vezes, não receberem tratamentos com antihelmínticos, e cada animal pode albergar várias fêmeas com capacidade de produzir, em média, mais de 200 mil ovos/ fêmea/ dia (Schantz & Glickman, 1983; Lima, 1991; Rey, 1991).

O crescente número de animais de estimação nas grandes cidades, associado à diminuição do espaço físico, tem favorecido o contato mais estreito dos cães domésticos com as pessoas (Scaini, 2001). A epidemiologia de *T. canis* em humanos tem sido revisada por muitos autores (Barriga, 1988; Glickman, 1993; Overgaauw, 1997; Lloyd, 1998), e sendo responsável por muitos casos de *Larva Migrans Visceral* (LMV) e *Larva Migrans Ocular* (LMO) (MacPherson, 2005). A infecção em humanos, principalmente crianças, resulta da ingestão de ovos embrionados presentes em solos contaminados (Barriga, 1988; Kazacos, 1991; Glickman, 1993; Overgaauw, 1997; Lloyd, 1998).

A LMV caracteriza-se pela migração de larvas de nematóides em tecidos de hospedeiros erráticos e LMO caracteriza-se pela presença da larva na coróide, retina e vítreo, podendo ocasionar a perda da visão em casos severos. Crianças com dois anos de idade são as mais acometidas por essa síndrome e freqüentemente há associação com a presença de cães (Neves 2002). O quadro clínico da LMV varia desde inespecífico ou assintomático até com sintomatologia importante, sendo que as manifestações pulmonares são as mais freqüentes (Abe-Jacob et al., 1994).

No Brasil, a população de cães jovens encontra-se altamente parasitada por *T. canis* e a contaminação de ovos deste parasito no solo indicam condições favoráveis à transmissão desta zoonose. No Rio Grande do Sul, onde também a infecção de cães jovens por *T. canis* é alta, os estudos sobre avaliações da contaminação ambiental foram realizadas e mostram que ovos deste parasito estiveram presentes nas áreas estudadas (Corrêa, 1995; Tavares, 1999; Carbonera et al., 2000).

Outra forma de infecção em humanos pode ocorrer através do contato direto com o pêlo de cães com ovos de *T. canis*, como observado por Wolfe & Wright (2003), onde na análise de pêlos de 60 cães 15 foram positivos.

Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo determinar a presença de ovos de *T. canis* aderidos aos pêlos da região perianal de cães errantes e domiciliados, bem como estimar a viabilidade desses ovos e relacionar sua presença com características, como idade do animal e comprimento do pêlo.

## **1.2. Objetivos e Metas**

### **Objetivo geral**

- ✍ Investigar a contaminação por ovos de *T. canis* nos pêlos da região perianal de cães errantes e domiciliados.

## Objetivos específicos

- ✍ Isolar, identificar e quantificar ovos de *T. canis* no pêlo da região perianal de cães.
- ✍ Caracterizar morfológicamente a viabilidade dos ovos.
- ✍ Relacionar a presença de ovos com a origem, idade e comprimento dos pêlos dos animais.
- ✍ Avaliar a viabilidade dos ovos de *T. canis* através de infecção experimental de camundongos Balb/c.

## Metas

- ✍ Conhecer o nível de contaminação do pêlo dos cães visando esclarecer os profissionais da área da saúde, bem como a população sobre a possibilidade desta forma de infecção e propor mais uma medida a ser agregada ao controle da LMV e LMO.

## 1.3. Metodologia e Estratégia de ação

### Origem das amostras de pêlos

Amostras de pêlos da região perianal de cães serão coletadas no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Pelotas e em clínicas de estética canina (Pet shop) no município de Pelotas. Os cães serão classificados quanto ao sexo e também quanto à idade. Animais com até seis meses serão classificados como filhotes, de seis meses a um ano como juvenis e acima de um ano como adultos. Característica do pêlo, como o tamanho, será também analisada e classificada em curto ou longo. Pêlos de cães com até 1,5 cm de comprimento serão classificados como curtos e acima disso classificados como longos. As amostras serão coletadas na região perianal com auxílio de uma tesoura, após acondicionadas em sacos plásticos identificados e conservadas a temperatura de 5°C até o momento da análise, que no máximo ocorrerá em duas semanas. Sempre quando possível,

amostras de fezes dos cães serão coletadas e imediatamente analisadas segundo o método de Gordon & Whitlock (1939).

### **Técnica para coleta dos ovos de *T. canis***

Para a extração dos ovos de *T. canis* do pêlo, será utilizado o método de Wolfe & Wright (2003), porém com algumas modificações:

1. Amostras de pêlos com peso entre 0,03 a 1,0 g serão mergulhadas em 40 ml de água destilada com duas gotas de Tween 20 e posteriormente colocadas em agitador por 10 min a 200 rpm.
2. O material em suspensão será passado em tamis (tipo coador). As amostras de pêlos serão cuidadosamente lavadas sobre o tamis com água corrente.
3. Os passos um e dois serão repetidos.
4. Todo o material que passou pelo tamis será colocado em cálice de sedimentação, onde permanecerá por aproximadamente 12 horas em uma temperatura de 5°C.
5. Posteriormente todo o sedimento será coletado com o auxílio de pipetas, Pasteur e centrifugado por 15 min. e a uma velocidade de 2500 rpm.
6. O sobrenadante será descartado e do sedimento será retirado 70 µL, colocado entre lâmina e lamínula e examinada ao microscópio óptico com aumentos de 100x e/ou 400x. As amostras negativas serão analisadas em duplicata.

Os ovos serão classificados em quatro tipos conforme a morfologia apresentada: não viável (parede do ovo danificada); viável (ovo intacto e com conteúdo); embrionando (ovo com duas ou mais divisões celulares) e embrionado (ovo contendo uma larva).

### **Infecção experimental com *T. canis***

Ovos viáveis e larvados de *T. canis* obtidos das amostras de pêlos dos cães serão administrados, via oral, a camundongos Balb/c.

## Detecção da infecção dos camundongos BALB/c por *T. canis*

O exame para averiguar a positividade dos camundongos para *T. canis* será realizado após 60 dias da administração, onde o encéfalo do animal infectado será examinado entre duas lâminas de vidro ao microscópio óptico (aumento de 100x), para detecção de larvas, conforme metodologia utilizada por Scaini (2001).

### 1.4. Repercussões e/ou impactos dos resultados

Populações de cães errantes são freqüentemente observadas em grande parte dos municípios brasileiros e boa parte desses animais apresentam altos níveis de infecção por parasitos intestinais. Muitos desses parasitos são considerados zoonoses, ou seja, são doenças transmissíveis ao homem e, portanto representam um perigo a saúde pública. A LMV e LMO acometem um número considerável de pessoas em todo mundo, principalmente crianças, pois estão freqüentemente em contato com solos, em praças e parques públicos, contaminados com ovos de *T. canis* e também com cães, principalmente filhotes, onde a prevalência desse parasito é maior. A confirmação da presença de ovos de *T. canis* no pêlo dos cães virá contribuir para ampliar os estudos epidemiológicos dessa parasitose na região e assim trazer subsídios para implantação de medidas de controle, bem como elaborar medidas educativas visando o esclarecimento da população.

### 1.5. Cronograma

Ano 2008/2009	2008					2009												
	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	
Atividades/meses																		
Coleta de amostras de pelos	X	X	X		X	X		X	X			X	X					
Infecção experimental			X	X		X	X		X	X			X	X				
Avaliação da infecção experimental					X	X		X	X		X	X			X	X		
Análise dos resultados											X	X	X	X	X	X	X	X
Pesquisa bibliográfica	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Apresentação em Congressos															X	X	X	

## 1.6. Orçamento

<b>Material permanente</b>	<b>Valor R\$ (unidade)</b>	<b>Valor total (R\$)</b>
01 Balança analítica (precisão de 0,01g)	2500,00	2.500,00
01 Microscópio binocular ZEISS com programa de captura de imagem (microfotografias)	15.000,00	15.000,00
01 Destilador de água (10l/h - Inox)*	1700,00	1.700,00
01 Centrífuga bancada Baby/Fanem/ 6 tubos	2.500,00	2.500,00
01 refrigerador cônsul de 420 L biplex	1.500,00	1.500,00
	<b>Sub-total</b>	<b>23.200,00</b>
<b>Material de consumo</b>		
Vidrarias		2.000,00
Tubos, ponteiros, tamises e frascos plásticos		1.300,00
Soluções e reagentes		1.600,00
	<b>Sub-total</b>	<b>4.900,00</b>
<b>Total</b>		<b>28.100,00</b>

Material permanente e de consumo está disponível no laboratório de Parasitologia – Depto. Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia – UFPel.

## 1.7. Outros Projetos e Financiamentos

Helminhos Parasitos de *Rhamdia* spp. Peixes cultivados na Barragem do Chasqueiro, Arroio Grande RS.

Equipe: Maria Elisabeth Aires Berne, Gertrud Muller, Neila Cilene Medeiros de Moraes, Rafael L. Pereira.

FAPERGS/CAPES

Caracterização morfológica de Lymnaeidae do Brasil pelas técnicas de PCR e RFLP.

Equipe: Omar Carvalho, Roberta Caldeira, Gertrud Muller e Maria Elisabeth Aires Berne.  
FIOCRUZ - MG

Suscetibilidade de populações de *Lymnaea columella* a infecção por *Fasciola hepatica*.

Equipe: Hugo Leonardo da Cunha Amaral, Michele Soares Pepe e Maria Elisabeth Aires Berne.

UFPel/RS - CNPq

## 1.8. Referências Bibliográficas

ABE-JACOB, C. M.; PASTORINO, A. C.; PERES, B. A.; MELLO, E. O.; OKAI, Y.; OSELKA, G. W. Clinical e laboratorial features of visceral toxocariasis in infancy. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 36, n. 1, p. 19-26, 1994.

ABO-SHEHADA, M.N. Prevalence of *Toxocara* ova in some schools and public grounds in Northern and Central Jordan. **Annals of tropical medicine and parasitology**. 83, p. 73–75, 1989.

BARRIGA, O. A critical look at the importance, prevalence and control of toxocariasis and the possibility of immunological control. **Veterinary Parasitology**. 29, p. 195–223, 1988.

CARBONERA, N. R.; RUAS, J. L.; TAVARES, A. L. C.; FERRAZ, M. L.; SCHOENARDIE, E. R.; VILLELA, M. M.; MORAIS, N. C.; BERNE, M. E. A. Contaminação da areia por ovos e larvas de helmintos e oocistos de protozoários, dos balneários Santo Antônio e Valverde, da praia do Laranjal, Pelotas, RS. In: Congresso de Iniciação Científica, 9, 2000, Pelotas. **Anais do 9º Congresso de Iniciação Científica**. Pelotas: UFPel, 2000. p.212.

CORRÊA, G. L. B. **Contaminação do solo por ovos, larvas de helmintos em praças públicas de Santa Maria, Brasil e sua importância em saúde pública**. 1995. 71f. (Dissertação de Mestrado)-Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão.

GLICKMAN, L. The epidemiology of human toxocariasis. In: Lewis, J., Maizels, R. (Eds.), *Toxocara* and Toxocariasis, Clinical, Epidemiological and Molecular Perspectives. **Institute of Biology and the British Society for Parasitology**, London, p. 3–10, 1993.

GORDON. H. M.; WHITLOCK, H. V.; A new technique for courting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of Council of Science and Industry Research in Australia**, v.12, p. 50-52, 1939.

KAZACOS, K. Visceral and ocular larva migrans. **Seminars Vet. Med. Surg.** 6, p. 227–235, 1991.

LIMA, W. S. **Larva Migrans**. Parasitologia humana. 8ª Ed., São Paulo: Atheneu, 1991, p. 279-283.

LilMA, W.S.. **Larva migrans**. In: Neves D.P. Parasitologia Humana. 10ª Ed., São Paulo: Atheneu, 2002, p. 243-246.

LLOYD, S. Toxocarosis. In: Palmer, S., Lord Soulsby, Simpson, D. (Eds.), Zoonoses. **Oxford Medical Publications**, Oxford, p. 841–854, 1998.

MACPHERSON, C.N. Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses. **International journal for parasitology**. 35, p. 1319–1331, 2005.

OVERGAAUW, P. Aspects of *Toxocara* epidemiology: Toxocariasis in dogs and cats. **Critical reviews in microbiology**. 23, p. 233–251, 1997.

REY, L. **Parasitologia**. 2<sup>a</sup> Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 410 p.

REY, L. **Parasitologia**, 4<sup>a</sup> Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, 637-641 p.

ROBERTS, L.S., JANOVY JR., J. 1996. **Foundations of Parasitology**, 5<sup>a</sup> ed. Times Mirror Higher Education Group Inc., USA.

SCAINI, C. J. **Anticorpos monoclonais contra o antígeno de excreção e secreção de larvas de *Toxocara canis* e cinética da produção de anticorpos em camundongos BALB/c infectados experimentalmente**. Pelotas, 2001. 72f. Tese (Doutorado) Centro de Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas, 2001.

SCHANTZ, P. M.; GLICKMAN, L. T.; Ascaridos de perros y gatos: un problema de salud publica y de medicina veterinaria. **Boletín de La Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 94, n. 6, p. 571-586, 1983.

SOULSBY, E.J.L. **Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals**, 7<sup>a</sup> ed. Baillie're Tindall, London (reprinted 1986), 1982.

TAVARES, A. L. C. **Contaminação do solo por ovos de helmintos e oocistos de protozoários nas praças de conjuntos habitacionais verticais de Pelotas, RS, Brasil**.1999. 62f. (Dissertação de Mestrado)-Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão.

WOLFE, A., WRIGHT, I.P. Human toxocariasis and direct contact with dogs. **Veterinary Record** 152, p. 419–422, 2003.

## Artigo que será submetido à revista: Memórias do Instituto Oswaldo Cruz

### 2. Presença de ovos de *Toxocara* sp. em pêlos de cães: um fator de risco para aquisição da *Larva Migrans* Visceral e *Larva Migrans* Ocular

Hugo Leonardo da Cunha Amaral<sup>1</sup>, Gabriela Lopes Rassier<sup>1</sup>, Michele Soares Pepe<sup>1</sup>, Márcia de Oliveira Nobre<sup>2</sup>, Marcos Marreiro Villela<sup>1</sup>, Maria Elisabeth Aires Berne<sup>1</sup>

Instituto de Biologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Universitário, s/nº, 96010-900, Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil. <sup>1</sup> Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, RS, Brasil. <sup>2</sup> Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, RS, Brasil.

#### 2.1. RESUMO

*Toxocara canis* é um ascarídeo de distribuição mundial, tendo os canídeos como hospedeiros definitivos e, no homem, este parasito pode causar a Síndrome da *Larva Migrans* Visceral (LMV) e *Larva Migrans* Ocular (LMO). Em recentes trabalhos tem sido mostrado que ovos de *T. canis* podem ficar aderidos aos pêlos dos cães. Foram coletadas amostras de pêlos de 94 cães de diferentes faixas etárias, sendo 30 animais domiciliados e 64 errantes. Desse total, 20 (21,28%) amostras de pêlos continham ovos de *T. canis*, sendo 17 (85,0%) de filhotes e três (15,0%) de adultos. Foi contabilizado um total de 822 ovos, e embora tenha havido grande diferença no número de ovos viáveis encontrados em cães de pêlos curtos, quando comparados a cães de pêlos longos, a idade foi ainda o único fator que influenciou na intensidade de ovos observados, sendo os filhotes responsáveis por 99,27% do total de ovos. Estudo como este mostra que cães errantes, principalmente filhotes, são hospedeiros em potencial para esse parasito e que não somente solos contaminados servem como ambiente para o seu desenvolvimento.

Palavras-chave: Saúde Pública – Zoonoses – Toxocarose

## 2.2. INTRODUÇÃO

*Toxocara canis* (Werner 1782) é um nematóide parasito de cães domésticos e silvestres. Este parasito, pertence à ordem Ascaridida Skrjabin & Schulz 1940, superfamília Ascaroidea Railliet & Henry 1915, e a família Anisakidae Skrjabin & Karokhim 1945. No solo, em condições favoráveis de umidade, temperatura e oxigenação, os ovos sofrem desenvolvimento embrionário e, em torno de 28 dias, a larva atinge o estágio infectante (L<sub>3</sub>), dentro do ovo (Neves 2002). A infecção por *T. canis* em cães pode ser através da ingestão de ovos em seu estágio L<sub>3</sub>, transplacentária, transcolostral ou pelo consumo de hospedeiros paratênicos (ratos), devido ao hábito predatório apresentado pelos canídeos (Soulsby 1982; Abo-Shehada 1989; Roberts & Janovy 1996; Overgaauw 1997). Esses ovos têm sua casca externa digerida no estômago e no intestino delgado onde liberam a larva, que penetra na mucosa e atinge vários tecidos somáticos via circulação sangüínea. Em sua forma adulta, vive no intestino delgado do hospedeiro e produzindo dois milhões de ovos por dia, no seu período mais fértil (entre a sétima e a 28<sup>a</sup> semana) (Rey 2008).

A epidemiologia de *T. canis* em humanos tem sido estudada por muitos autores (Barriga 1988; Glickman 1993; Overgaauw 1997; Lloyd 1998), mostrando a ocorrência de muitos casos de *Larva Migrans Visceral* (LMV) e *Larva Migrans Ocular* (LMO) (MacPherson 2005; Schoenardie 2005). A infecção em humanos, principalmente crianças, resulta da ingestão de ovos embrionados presentes em solos contaminados (Barriga 1988; Kazacos 1991; Glickman 1993; Overgaauw 1997; Lloyd 1998), podendo resultar em síndromes clínicas, como LMV e LMO (Taylor & Holland 2001). A LMV caracteriza-se pela migração de larvas de nematóides em tecidos de hospedeiros erráticos enquanto que LMO caracteriza-se pela presença da larva na coróide, retina e vítreo, podendo ocasionar a perda da visão em casos severos. Crianças com dois anos de idade são as mais acometidas por essa síndrome e freqüentemente há associação com a presença de cães (Neves 2002). O quadro clínico da LMV varia desde inespecífico ou assintomático até com sintomatologia importante, sendo que as manifestações pulmonares são as mais freqüentes (Abe-Jacob et al. 1994).

No Brasil, a população de cães jovens encontra-se altamente parasitada por *T. canis* e a contaminação de ovos deste parasito no solo indicam condições favoráveis à transmissão desta zoonose (Guimarães et al. 2003; Leite et al. 2004). No Rio Grande do Sul, onde também a infecção de cães jovens por *T. canis* é alta, os estudos sobre avaliações da contaminação ambiental foram realizados e mostram que este parasito esteve presente nas áreas estudadas (Corrêa 1995; Tavares 1999).

Outra forma de infecção em humanos pode ocorrer através do contato direto com o pêlo de cães com ovos de *T. canis*, como observado por Wolfe & Wright (2003) em estudo conduzido na Irlanda, onde 25% das amostras de pêlo de cães foram positivas.

Poucos estudos têm sido conduzidos avaliando a contaminação de pêlos, sendo este o primeiro realizado no Brasil. Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a presença de ovos de *T. canis* aderidos aos pêlos da região perianal de cães errantes e domiciliados, bem como estimar a viabilidade desses ovos e relacionar sua presença com características, como idade do animal e comprimento do pêlo.

## **2.3. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.3.1. Coleta de amostras de pêlos**

Entre agosto e outubro de 2008, amostras de pêlos da região perianal de 94 cães foram coletadas no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Pelotas (RS) e em clínicas de estética canina (Pet shop) no município de Pelotas. Os cães foram classificados quanto ao sexo e também quanto à idade. Animais com até seis meses foram classificados como filhotes, de seis meses a um ano como juvenis e acima de um ano como adultos. Características do pêlo, como o tamanho, foram também analisadas e classificadas em curto ou longo. Pêlos de cães com até 1,5 cm de comprimento foram classificados como curtos e acima disso foram considerados longos. As amostras foram coletadas da região perianal dos cães com auxílio de uma tesoura, após as mesmas foram conservadas a temperatura de 5°C até o momento da análise, que ocorreu, no máximo, em duas

semanas. Amostras de fezes de 35 cães foram coletadas e imediatamente analisadas segundo o método de Gordon & Whitlock (1939).

### 2.3.2. Técnica para coleta dos ovos de *T. canis*

Para a extração dos ovos de *T. canis* do pêlo, foi utilizado o método de Wolfe & Wright (2003), porém com algumas alterações:

1. Amostras de pêlos com peso entre 0,03 a 1,0 g foram mergulhadas em 40 ml de água destilada com duas gotas de Tween 20 e posteriormente colocadas em agitador por 10 min. a 200 rpm.
2. O material em suspensão foi passado em tamis (tipo coador). As amostras de pêlos foram lavadas sobre o tamis com água destilada.
3. Os passos um e dois foram repetidos.
4. Todo o material que passou pelo tamis foi colocado em cálice de sedimentação, onde permaneceu por aproximadamente 12 horas em uma temperatura de 5°C.
5. Posteriormente todo o sedimento foi coletado com o auxílio de pipetas de Pasteur, e centrifugado por 15 min. e a uma velocidade de 2500 rpm.
6. O sobrenadante foi descartado e do sedimento foi retirado 70 µL, colocada entre lâmina e lamínula e examinada ao microscópio óptico com aumentos de 100x e/ou 400x.

Os ovos foram classificados em quatro tipos conforme a morfologia apresentada: não viável (parede do ovo danificada); viável (ovo intacto e com conteúdo); embrionando (ovo com duas ou mais divisões celulares) e embrionado (ovo contendo uma larva). Embora os ovos embrionando e embrionados sejam considerados viáveis, neste estudo a classificação seguiu o estágio de desenvolvimento apresentado.

### 2.3.3. Análises estatísticas

As informações coletadas foram digitadas e analisadas em planilha EXCEL além do programa estatístico MINITAB versão XIII. Para analisar a existência de

associações entre as variáveis categóricas (idade dos cães e tamanho dos pêlos), foi utilizado o teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ).

## 2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao todo foram coletadas 94 amostras de pêlos de cães, sendo 60 (63,83%) adultos, 9 (9,57%) juvenis e 25 (26,6%) filhotes. Em 20 amostras (21,28%), foram encontrados ovos de *T. canis* aderidos ao pêlo (Tabela 1). Dentro desse total de positivos, três (15,0%) cães foram classificados como adultos e 17 (85,0%) como filhotes, sendo 13 (65,0%) fêmeas e sete (35,0%) machos e sendo cinco (25,0%) cães de pêlos longos e 15 (75,0%) de pêlos curtos. Quatro (20,0%) das amostras de pêlo (tendo dois cães pêlo longo e dois pêlo curto), que apresentaram ovos de *T. canis* eram provenientes de Pet Shop, sendo três adultos e um filhote, já as outras 16 (80,0%) amostras eram de filhotes de cães errantes (Figura 1).

Cápsulas ovíferas de *Dipylidium caninum* (Lineu 1758) também foram observadas em amostras de pêlos de sete cães errantes, sendo quatro adultos e três filhotes.

Foi contabilizado um total de 822 ovos de *T. canis*, sendo oito (0,97%) em cães adultos e 814 (99,03%) em filhotes. Deste total de ovos, 379 (46,11%) foram classificados como não viáveis, 424 (51,58%) como viáveis e 19 (2,31%) como embrionando (Figura 2 e 3). No presente estudo não foi observado ovos embrionados. A amostra de pêlo, que apresentou maior número de ovos de *T. canis* foi de um filhote ( $n = 180$ ), correspondendo a 21,9% de todos os ovos encontrados.

Das 35 amostras de fezes coletadas, somente em cinco (14,28%) foram encontrados ovos de *T. canis*, sendo três (60,0%) em cães filhotes e dois (40,0%) em juvenis. A amostra de fezes que apresentou o maior número de ovos de *T. canis* foi também a de um filhote ( $n = 46$ ). Dos cinco animais positivos no exame de fezes três apresentavam também ovos no pêlo.

Em 16 amostras foram observados ovos de *Ancylostoma* spp, em 10, ovos de *Trichuris* spp. e em três oocistos de *Isospora* spp.

Tab. 1. Origem, características do hospedeiro, número total e classificação dos ovos de *Toxocara canis* observados em 20 amostras de pêlo de cães positivos.

Idade	Sexo	Tamanho do pêlo	Peso da amostra de pêlo (g)	Ovos não viáveis	Ovos viáveis	Ovos embrionando	Total
A*	F	C	0,29	0	1	0	1
F*	F	C	0,03	1	1	0	2
A*	M	L	0,31	0	4	0	4
A*	F	L	0,02	0	1	0	1
F•	M	L	0,13	0	4	2	6
F•	F	L	0,14	0	0	1	1
F•	F	L	0,05	11	19	0	30
F•	F	C	0,34	6	11	2	19
F•	F	C	0,05	3	0	4	7
F•	M	C	0,11	9	4	9	22
F•	F	C	0,12	1	3	1	5
F•	M	C	0,11	0	3	0	3
F•	F	C	0,04	57	51	0	108
F•	F	C	0,03	78	43	0	121
F•	M	C	0,06	103	77	0	180
F•	M	C	0,05	5	1	0	6
F•	F	C	0,05	35	133	0	168
F•	F	C	0,04	1	5	0	6
F•	M	C	0,16	52	51	0	103
F•	F	C	0,80	17	12	0	29
TOTAL				379	424	19	822

<sup>1</sup> A: Adulto, F: Filhote.

<sup>2</sup> M: Macho, F: Fêmea.

<sup>3</sup> L: Longo, C: Curto.

<sup>4</sup> \*: Cão domiciliado, •: Cão errante.

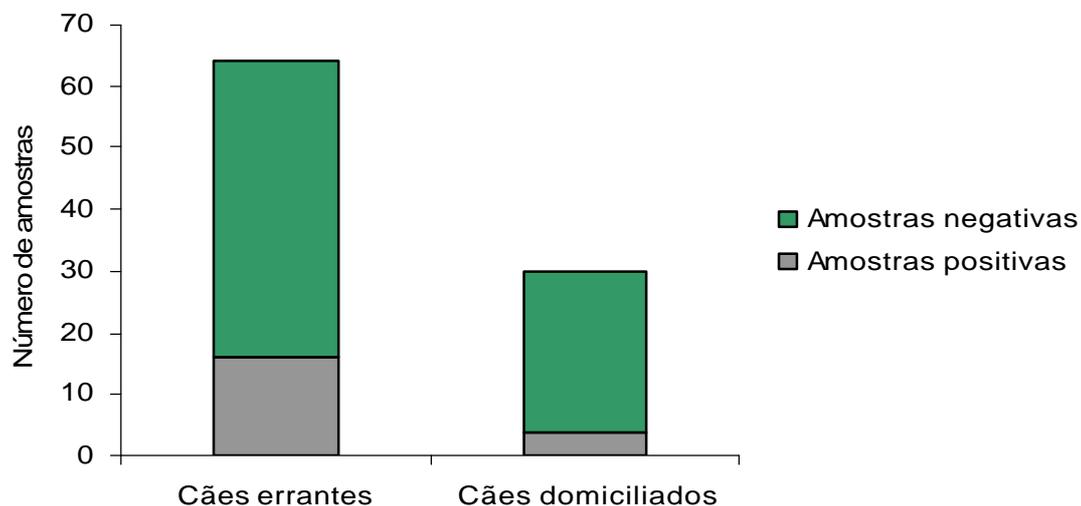


Fig. 1. Número de amostra de pêlos positivas e negativas para *Toxocara canis*, em cães errantes e domiciliados no município de Pelotas, RS, Brasil.

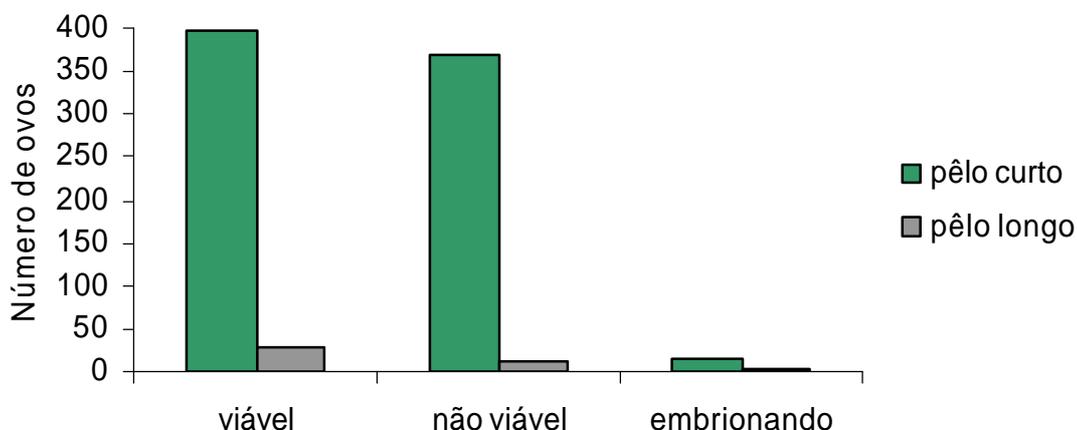


Fig. 2. Total de ovos viáveis, não viáveis e embrionando, observados em 20 cães, no município de Pelotas, RS, Brasil.



Fig. 3. Ovos de *T. canis* presentes em pêlos da região perianal de cães e classificados como não viável (A), viável (B) e embrionando (C).

A ingestão de ovos embrionados de *T. canis* constitui a principal forma de infecção para o homem (Maizels et al. 2006). A presença de ovos de *Toxocara* spp. no solo foi o objetivo de vários estudos em diferentes regiões do mundo (Düwel 1984; Chiejina & Ekwe 1986; Ludlam & Platt 1989; Abe & Yasukaua 1997; Santarém et al. 1998; Mizgajska 2001; Ruiz de Ybáñes et al. 2001; Franzco et al. 2003; Tiyo et al. 2008), com resultados mostrando níveis de contaminação entre 0,55 a 92%.

O primeiro estudo direcionado a pesquisa de ovos no pêlo de cães, realizado por Wolfe & Wright (2003), revelou uma positividade de 25%. Resultados

semelhantes foram observados no presente estudo, onde 21,28% dos animais estavam positivos para ovos de *T. canis*.

Também em recente estudo, Aydenizöz-Özkaihan et al. (2008) observaram a presença de ovos em amostras de pêlos de 21,57% dos cães estudados. Já Roddie et al. (2008) observaram em 67% das amostras, resultado este muito superior ao diagnosticado neste estudo.

O menor número de amostras de pêlos positivos para *T. canis* verificadas neste estudo e no de Wolfe & Wright (2003) e Aydenizöz-Özkaihan et al. (2008), quando comparados com estudos de Roddie et al. (2008), provavelmente seja devido à parte das amostras de pêlos que foram coletadas de cães domiciliados, os quais geralmente recebem cuidados sanitários adequados, principalmente quanto a tratamentos antihelmínticos. Também são animais que geralmente recebem uma alimentação adequada, o que permite melhor resposta imunológica frente aos agentes infecciosos.

Os resultados superiores, observados por Roddie et al. (2008), provavelmente sejam devido às amostras de pêlos obtidas de cães errantes, animais que não receberam tratamentos para controle de parasitos, e também não dispõem de alimentação adequada, quando comparados a cães domiciliados. Também esses animais, por terem maior contato direto com outros cães, com solos ou fezes contaminadas, podem se contaminar com ovos desse nematódeo. Além disso, podem ocorrer reinfecções, pois alguns ovos permanecem viáveis no ambiente por longos períodos (Neves 2002).

A presença de ovos de *T. canis* em solos contaminados representa um fator de alto risco tanto para animais quanto para humanos, que podem vir a desenvolver a LMV e a LMO. Análises experimentais foram realizadas no intuito de contabilizar o número de ovos de *Toxocara* necessários para causar a doença em humanos (Smith & Beaver 1953; Chaudhuri & Saha 1959), porém isso ainda permanece não esclarecido, já que diversos fatores interferem nos resultados.

Dentre as três faixas etárias a que apresentou maior quantidade de ovos de *T. canis* nas amostras de pêlos foi a dos filhotes, totalizando 99,27% de todos os ovos encontrados, sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

Resultados semelhantes foram observados em experimentos realizados por Roddie et al. (2008), que recuperaram 95% de todos os ovos em amostras de pêlos de cães filhotes, enquanto que Aydenizöz-Özkaihan et al. (2008) observou 82% dos ovos em amostras de pêlos de cães com idade inferior a um ano.

Existem diversas razões que explicam essa grande porcentagem de ovos presentes em filhotes, uma vez que estes podem ser infectados via placenta, ingerindo o colostro da fêmea, em contato com fezes contaminadas (Roberts et al. 1996) e/ou com pêlos contaminados com ovos de *T. canis*, tanto da fêmea quanto de outros cães.

Quanto ao tamanho do pêlo, 15 (75,0%) cães tinham pêlos curtos e cinco (25,0%) pêlos longos. Do total de ovos viáveis 396 (93,4%), estavam presentes em cães de pêlos curtos, sendo tal diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Provavelmente, em animais de pêlos curtos, os ovos estão mais próximos à pele, onde as condições de temperatura para o desenvolvimento dos ovos sejam maiores quando comparado a cães de pêlos longos, no entanto a exata razão para essa diferença ainda permanece não esclarecida, sendo necessários estudos para sua elucidação.

Foi observada também uma grande quantidade de ovos não viáveis aderidos ao pêlo ( $n = 379$ ). Acredita-se que a variação de temperatura e umidade, provavelmente, tenham sido os principais responsáveis por sua inviabilidade.

Embora a contaminação de solos com ovos de *T. canis* seja significativa e responsável por grande parte dos casos de LMV e LMO em animais (exceção dos canídeos) e humanos, a ingestão de ovos por contato direto com cães também se mostra como uma alternativa de transmissão para essa zoonose. A presença de cães, principalmente filhotes, em moradias representa um alto risco, sobretudo para crianças, que estão constantemente em contato com esses animais e poderão desenvolver a doença. O uso de antihelmínticos nas últimas semanas de gestação ou durante as primeiras semanas de vida dos cães pode ajudar a prevenir muitos casos de LMV e LMO humana. Medidas como o cercamento de praças e parques públicos para evitar a presença de cães errantes, bem como um

controle de natalidade desses cães também podem ser tomadas podendo diminuir a probabilidade de transmissão dessa doença e de outras zoonoses.

## **2. 5. CONCLUSÃO**

É confirmada a presença de ovos de *Toxocara canis* no pêlo de cães na cidade de Pelotas (RS), sendo os filhotes os que apresentam maiores riscos à população por apresentarem maior positividade de amostras e com maior número de ovos em seus pêlos. Neste trabalho, cães de pêlo curto apresentaram índice maior de ovos viáveis, portanto, esses animais necessitam maiores cuidados de limpeza, como a realização de tosas higiênicas, para eliminação de ovos de *T. canis*.

## 2.6. REFERÊNCIAS

- Abe-Jacob CM, Pastorino AC, Peres BA, Mello EO, Okai Y, Oselka GW 1994. Clinical e laboratorial features of visceral toxocariasis in infancy. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, v. 36, n. 1, 19-26.
- Abe N, Yasukawa A 1997. Prevalence of *Toxocara* spp. eggs in sandpits of parks in Osaka city, Japan, with notes. *J. Vet. Med. Sci.* 59, 79–80.
- Abo-Shehada MN 1989. Prevalence of *Toxocara ova* in some schools and public grounds in Northern and Central Jordan. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 83, 73–75.
- Aydenizöz-Özkayhan M, Yaggci BB, Erat S 2008. The investigation of *Toxocara canis* eggs in coats of different dog breeds as a potential transmission route in human toxocariasis. *Vet. Parasitol.* 152 , 94-100.
- Barriga O 1988. A critical look at the importance, prevalence and control of toxocariasis and the possibility of immunological control. *Vet. Parasitol.* v. 29, 195-223.
- Chaudhuri RN, Saha TK 1959. Tropical eosinophilia experiments with *Toxocara canis*. *Lancet.* 2, 493–494.
- Chiejina SN, Ekwe TO 1986. Canine toxocariasis and the associated environmental contamination of urban areas in Eastern Nigeria. *Vet. Parasitol.* 22, 157–161.
- Corrêa GLB 1995. *Contaminação do solo por ovos, larvas de helmintos em praças públicas de Santa Maria, Brasil e sua importância em saúde pública*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão. 71 pp.
- Düwel D 1984. The prevalence of *Toxocara* eggs in the sand in children's playgrounds in Frankfurt/M. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 78, 633–636.
- Franzco SMC, Franzco RM, Walker J, Franzco RJS, MacKinnon JR, Smith D, Stawell AM, Franzco A JH Hall. 2003. *Toxocara canis*: egg presence in Melbourne parks and disease incidence in Victoria. *Clin. Experiment. Ophthalmol.* 31, 143–146.
- Glickman L 1993. The epidemiology of human toxocariasis. In: Lewis, J., Maizels, R. (Eds.), *Toxocara and Toxocariasis, Clinical, Epidemiological and Molecular Perspectives*. *Institute of Biology and the British Society for Parasitology*, London, 3–10.

Guimarães AM, Alves EGL, Rezende GF, Rodrigues MC 2003. Ovos de *Toxocara* sp. e larvas de *Ancylostoma* sp. em praça pública de Lavras, MG. *Rev. Saúde Pública*, 39, 293-295.

Gordon HM, Whitlock HV 1939. A new technique for courting nematode eggs in sheep faeces. *Journal of Council of Science and Industry Research in Australia*, v.12, 50-52.

Kazacos K 1991. Visceral and ocular larva migrans. *Seminars Vet. Med. Surg.* 6, 227-235.

Leite LC, Marinoni LP, Círio SM, Diniz JMF, Silva MAN, Luz E, Molinari HP, Vargas CSG, Leite SC, Zadorosnei ACB, Veronesi EM 2004. Enteroparasites in dogs (*Canis familiaris*) from Curitiba, Paraná, Brasil. *Archives of Veterinary Science*, 9, 95-99.

Lima WS 2002. *Larva migrans*. In: Neves DP. *Parasitologia Humana*. 10<sup>a</sup> ed., São Paulo: Atheneu, p. 243-246.

Lloyd S 1998. Toxocarosis. In: Palmer, S., Lord Soulsby, Simpson, D. (Eds.), *Zoonoses*. Oxford Medical Publications, Oxford, p.841-854.

Ludlam KE, Platt TR 1989. The relationship of park maintenance and accessibility to dogs to the presence of *Toxocara* spp. ova in the soil. *Am. J. Public Health* 79, 633-634.

Macpherson CN 2005. Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses. *Int. J. Parasitol.* 35, 1319-1331.

Maizels RM, Schabussova I, Callister DM, Niccol G 2006. Molecular biology and immunology of *Toxocara canis*. *Toxocara. The Enigmatic Parasite*, UK: Cabi publishing.

Mizgajska H, Jarosz W, Rejmenciak A 2001. Distribution of sources of *Toxocara* spp. infection in urban and rural environments in Poland. *Wiadomos'ci Parazytol* 47, 399-404 (in Polish).

Overgaauw P 1997. Aspects of *Toxocara* epidemiology: Toxocariasis in dogs and cats. *Crit. Rev. Microbiol.* 23, 233-251.

Rey L 2008. *Parasitologia*, 4<sup>a</sup> ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.637-641.

Roberts LS, Janovy JrJ 1996. *Foundations of Parasitology*, 5th ed. Times Mirror Higher Education Group Inc., USA.

Roddie G, Stafford P, Holland C, Wolfe A 2008. Contamination of dog hair with eggs of *Toxocara canis*. *Vet. Parasitol.* 152, 85-93.

Ruiz de Ybáñez MR, Garijo MM, Goyena M, Alonso F 2001. Improved methods for recovering eggs of *Toxocara canis* from the soil. *J. Helminthol.* 74, 349–353.

Santarém VA, Sartor IF, Bergamo FMM 1998. Contamination by *Toxocara spp* eggs in public parks and squares in Botucatu, São Paulo State, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 31(6), 529-532, nov-dec.

Schoenardie ER 2005. *Diagnóstico imunoenzimático da larva migrans visceral.* Dissertação de Mestrado, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão. 60 pp.

Smith MHD, Beaver PC 1953. Persistence and distribution of *Toxocara* larvae in tissues of children and mice. *Pediatrics* 12, 491 pp.

Soulsby EJJ 1982. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*, 7th ed. Baillière Tindall, London (reprinted 1986).

Tavares ALC 1999. *Contaminação do solo por ovos de helmintos e oocistos de protozoários nas praças de conjuntos habitacionais verticais de Pelotas, RS, Brasil.* Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão. 62 pp.

Taylor MRH, Holland CV 2001. Toxocariasis. In: Gillespie, S., Pearson, R.D. (Eds.), *Principles and Practice of Clinical Parasitology*. 501–520.

Tiyo R, Guedes TA, Falavigna DLM, Falavigna-Guilherme AL 2008. Seasonal contamination of public squares and lawns by parasites with zoonotic potential in southern Brazil. *J Helminthol.* 82, 1–6.

Wolfe A, Wright IP 2003. Human toxocariasis and direct contact with dogs. *Vet. Record* 152, 419–422.