

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**DISSERTAÇÃO**

**Infecção Patente em Cães Adultos com Larvas de *Toxocara canis*  
(Werner, 1782) Recuperadas de Camundongos  
Experimentalmente Infectados**

**Guilherme Gomes Verocai**

**2008**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**INFECÇÃO PATENTE EM CÃES ADULTOS COM LARVAS DE  
*Toxocara canis* (WERNER, 1782) RECUPERADAS DE CAMUNDONGOS  
EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS**

**GUILHERME GOMES VEROCAI**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Fabio Barbour Scott**

*e Co-orientação do Professor*  
**Laerte Grisi**

Dissertação submetida como  
requisito parcial para obtenção do  
grau de **Mestre em Ciências**, no  
Curso de Pós-Graduação em  
Ciências Veterinárias, Área de  
Concentração Parasitologia  
Veterinária

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2008

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**GUILHERME GOMES VEROCAI**

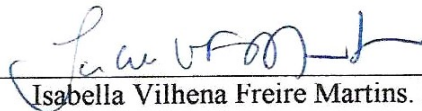
Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 25 / 02 / 2008.



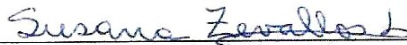
---

Fábio Barbour Scott. Ph.D., UFRRJ  
(Orientador)



---

Isabella Vilhena Freire Martins. Ph.D., UFES



---

Susana Angélica Zevallos Lescano. Ph.D., USP



---

Katherina Coumendouros Ph.D., UFRRJ

Aos meus pais, irmãs, avós e demais familiares pelo apoio e incentivo; aos Mestres pelo conhecimento e atenção, e aos Amigos pela imprescindível ajuda, companheirismo e compreensão.

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Fabio Barbour Scott, pelo conhecimento e orientação desde a graduação.

Ao Professor Laerte Grisi pela co-orientação.

Ao Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias pela oportunidade e apoio durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais, irmãs, avós e demais familiares pelo carinho e incentivo.

Aos meus amigos e amigas da turma de graduação pelo incentivo e momentos felizes.

Aos amigos e amigas da turma de Mestrado, especialmente, Leonardo Burlini Soares.

Aos amigos-mestres Isabella Vilhena Freire Martins e Luiz Eduardo Roland Tavares pela amizade e exemplo.

Às amigas do laboratório Thaís Ribeiro Correia Azevedo, Clarissa Pimentel de Souza, Raquel Moreira Pires dos Santos Melo, Vanessa Paulino da Cruz Vieira e Katherina Coumendouros, pela amizade e imprescindível ajuda para realização deste trabalho.

Aos amigos do laboratório Julio Israel Fernandes, Francisco de Assis Ribeiro, Felipe Delorme Azevedo, Thiago Luiz Pereira Marques e Pedro Vianna Tavares pela amizade e grande auxílio na realização deste estudo.

Aos professores Pedro Paulo Chieffi e Susana Angélica Zevallos Lescano, do Instituto de Medicina Tropical, USP pela colaboração para o desenvolvimento do presente trabalho.

Aos bolsistas e estagiários antigos e atuais, aos técnicos e tratadores do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária pelo apoio na realização do presente trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

E a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

## **BIOGRAFIA**

Guilherme Gomes Verocai nasceu na Cidade do Rio de Janeiro ao dia quatro de dezembro de 1981, filho de Rosângela Gomes Verocai e Waldyr de Souza Verocai Filho. Kursou o 1º grau do Colégio Princesa Isabel Redentora, no Rio de Janeiro e o 2º grau no Colégio Princesa Isabel Redentora, no Rio de Janeiro; Colégio dos Santos Anjos em Além Paraíba, Minas Gerais e no Colégio Eduardo Guimarães, também no Rio de Janeiro, formando no ano de 1999. Em 2000 entrou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Durante a graduação foi monitor da disciplina de Parasitologia Animal II, foi bolsista de Iniciação Científica da Fundação de Amparo á Pesquisa Carlos Chagas Filho do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (PIBIC/CNPq). Graduou-se em Medicina Veterinária em outubro de 2005. Em março de 2006 ingressou no Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, na área de concentração em Parasitologia Veterinária, da UFRRJ, sendo aprovado em primeiro lugar, ganhando bolsa do CNPq.

## RESUMO

VEROCAI, Guilherme Gomes. **Infecção patente em cães adultos com larvas de *Toxocara canis* (Werner, 1782) recuperadas de camundongos experimentalmente infectados**. 2008. 45p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

O objetivo do presente estudo foi promover a infecção experimental de cães adultos através da administração de larvas de *T. canis* obtidas de tecidos de camundongos experimentalmente infectados. E, conseqüentemente, avaliar a infecção patente, determinando o período pré-patente (PPP) e o número de nematóides recuperados em relação as diferentes quantidades de larvas infectantes administradas. Fêmeas de *T. canis* foram coletadas de animais naturalmente infectados, estas foram dissecadas para obtenção dos ovos e posterior cultura em solução de formalina a 2%, em estufa climatizada do tipo B.O.D. à temperatura de  $27\pm 1^\circ$  C, com umidade relativa de  $75 \pm 10\%$ . Após 60 dias, camundongos foram infectados com os ovos embrionados oriundos da cultura. Os roedores foram eutanasiados 26 dias pós-infecção (dpi), submetidos à necropsia. Seus órgãos e carcaças submetidos à Técnica de Isolamento Ácido para recuperação das larvas, as quais foram subdivididas em alíquotas para infecção dos cães. Foram utilizados 12 cães machos adultos da raça Beagle, pertencentes ao Canil do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Os animais eram comprovadamente livres de infecção pelo nematóide, porém com prévio histórico de parasitismo pelo nematóide em questão. Os animais foram divididos em dois grupos de seis animais cada. Sendo os animais do Grupo I infectados com 60 larvas e, os pertencentes ao Grupo II com 300 larvas, sendo estas recuperadas apenas dos cérebros e carcaça dos hospedeiros paratênicos. Para avaliação do período pré-patente foram empregadas em associação, as técnicas coproparasitológicas de Centrífugo-flutuação Simples, Sedimentação Simples e Sedimento-centrífugo-flutuação nos dias +8, + 12 e, consecutivamente entre os dias +16 e + 56. Para recuperação dos nematóides os animais foram vermifugados nos dias +57, +58 e +59 com um produto a base de piperazina. Os animais do Grupo I atingiram o PPP, em média, aos  $48 \pm 5,37$  dpi, já os do Grupo II aos  $41,5 \pm 5,09$  dpi, havendo diferença estatística entre os períodos ( $p < 0,05$ ). Foram recuperados ao todo dez nematóides dos animais do Grupo I, com uma intensidade média de  $1,66 \pm 1,63$ , resultando num total de recuperação de  $2,78 \pm 2,73\%$ . Enquanto, no Grupo II, foi recuperado um total de 85 helmintos, com uma intensidade média de  $14,17 \pm 28,12$  parasitos por animal, perfazendo  $4,72 \pm 9,39\%$  do total de larvas administradas. Não havendo diferença significativa entre os grupos em relação ao total de recuperação de nematóides. É possível estabelecer infecção patente em cães adultos a partir da administração das diferentes cargas de larvas recuperadas de tecidos de camundongos experimentalmente infectados.

Palavras-chave: Infecção experimental, larvas, *Toxocara canis*

## ABSTRACT

VEROCAI, Guilherme Gomes. **Patent infection in adult dogs with *Toxocara canis* (Werner, 1782) larvae recovered from experimentally infected mice.** 2008. 45p.. Dissertation (Master Science in Veterinary Sciences, Veterinary Parasitology). Veterinary Institute, Department of Animal Parasitology, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

The objective of the present study was to establish trial infections in adult dogs by administering *T. canis* larvae recovered from tissues of experimentally infected mice and to evaluate patent infection by determining the pre-patent period (PPP) and the number of recovered nematodes in relation to the different infective larvae doses. *T. canis* females were collected from naturally infected dogs. These were dissected and the eggs were obtained from their uteri followed by posterior incubation at  $27\pm 1^\circ$  C under  $75 \pm 10\%$  RH. After 60 days, mice were orally infected by the embryonated eggs gathered from the culture. The mice were killed 26 days post-infection (dpi) and then submitted to necropsy. Its organs and carcasses were processed by the Acid-Isolation Technique for the recovery of larvae, which were quantified and subdivided in aliquots for the dogs' infection. Twelve adult male Beagle dogs from the Kennel of the Laboratory of Experimental Chemotherapy in Veterinary Parasitology, Department of Animal Parasitology, Veterinary Institute, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro were used in our study. They were considered free from parasitism, however with previous history of exposition. The animals were divided in two groups of six animals each. The dogs from Group I were infected with 60 larvae, and the ones from Group II with 300 larvae, which were recovered from the brains and carcasses of the paratenic hosts. To evaluate the PPP we used the coproparasitological techniques of Centrifugal flotation, Sedimentation and Sedimentation centrifugal flotation on days +8, + 12 and, consecutively between days +16 e + 56. For the recovery of nematodes from feces, the dogs were treated on days +57, +58 e +59 with piperazine. The animals from Group I reached the PPP on  $48\pm 5.37$  dpi, and Group II on  $41.5\pm 5.09$  dpi, presenting statistically significant difference between the periods ( $p < 0.05$ ). Ten nematodes were collected from Group I, with the mean intensity of  $1.66\pm 1.63$ , resulting in  $2.78\pm 2.73\%$  of recovery. The 85 nematodes collected from Group II, presented mean intensity of  $14.17\pm 28.12$ , resulting in  $4.72\pm 9.39\%$  of recovery from the total of administered larvae. Non-statistical difference was noted regarding the total recovered nematodes. It is possible to establish patent *T. canis* infection in adult dogs by administering larvae recovered from tissues of experimentally infected mice.

Key words: Experimental infection, larvae, *Toxocara canis*



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Identificação, número do microchip, idade e peso dos cães da Raça Beagle utilizados.....	13
Tabela 2. Resultados dos exames coproparasitológicos dos cães pertencentes aos Grupos I, infectados com 60 larvas de <i>Toxocara canis</i> e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de <i>T. canis</i> , através da Técnica de Sedimento-centrífugo-flutuação, nos dias +8, +12 e entre os dias +16 e +56.....	19
Tabela 3. Resultados dos exames coproparasitológicos dos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de <i>Toxocara canis</i> e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de <i>T. canis</i> , através da Técnica de Centrífugo-flutuação simples, nos dias +8, +12 e entre os dias +16 e +56.....	21
Tabela 4. Resultados dos exames coproparasitológicos dos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de <i>Toxocara canis</i> e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de <i>T. canis</i> , através da Técnica de Hoffman, nos dias +8, +12 e entre os dias +16 e +56.....	23
Tabela 5. Dinâmica de positividade para <i>Toxocara canis</i> nos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de <i>T. canis</i> e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de <i>T. canis</i> , considerando a sobreposição de resultados para as técnicas de Sedimento-centrífugo-flutuação, Centrífugo-flutuação simples e Hoffman.....	25
Tabela 6. Período pré-patente, em dias, para <i>Toxocara canis</i> atingido pelos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de <i>Toxocara canis</i> e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de <i>T. canis</i> , em ambos os grupos experimentais.....	26
Tabela 7. Período pré-patente, em dias, para <i>Toxocara canis</i> atingido pelos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de <i>T. canis</i> e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de <i>T. canis</i> , considerando-se separadamente as técnicas Sedimento-centrífugo-flutuação, Centrífugo-flutuação simples e Hoffman.....	27
Tabela 8. Número de <i>Toxocara canis</i> recuperados nas fezes dos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de <i>T. canis</i> e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de <i>T. canis</i> , antes da vermifugação.....	27
Tabela 9. Número de <i>Toxocara canis</i> recuperados nas fezes dos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de <i>T. canis</i> e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de <i>T. canis</i> após a vermifugação.....	28
Tabela 10. Número total e porcentagem de recuperação de <i>Toxocara canis</i> nas fezes dos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de <i>T. canis</i> e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de <i>T. canis</i> antes e após a vermifugação.....	28

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ovos embrionados de <i>Toxocara canis</i> presentes na cultura utilizada para infecção dos camundongos.....	10
Figura 2. Infecção experimental dos camundongos com ovos embrionados de <i>Toxocara canis</i> por via oro-gástrica.....	11
Figura 3. Larva de <i>Toxocara canis</i> recuperada do cérebro de camundongo experimentalmente infectado.....	12
Figura 4. Infecção experimental dos cães com larvas de <i>Toxocara canis</i> recuperadas de tecidos de camundongos .....	14
Figura 5. Fezes dos cães experimentalmente infectados, após a vermifugação contendo espécimes de <i>Toxocara canis</i> .....	17
Figura 6. Placas de Petri contendo exemplares de <i>Toxocara canis</i> recuperados de alguns dos cães experimentalmente infectados.....	17

## LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

CFS	Centrífugo flutuação simples
LQEPV	Laboratório Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária
PPP	Período pré patente
SCF	Sedimento centrífugo flutuação
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	3
2.1 Aspectos morfológicos e biológicos de <i>Toxocara canis</i> .....	3
2.2 Importância Médico-Veterinária.....	4
2.3 Importância como Zoonose.....	4
2.4 Epidemiologia.....	5
2.4.1 Infecção por <i>Toxocara canis</i> .....	6
2.4.1.1 Infecção em hospedeiros paratênicos e recuperação de larvas.....	6
2.4.1.2 Infecção experimental no hospedeiro definitivo.....	7
2.4.2 Aspectos de resistência dos animais à infecção.....	8
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	10
3.1 Obtenção e Cultivo de Ovos.....	10
3.2 Infecção dos Camundongos.....	11
3.3 Obtenção das Larvas.....	11
3.4 Infecção dos Cães.....	12
3.5 Avaliação da Infecção Patente.....	14
3.6 Análise Estatística.....	15
<b>4 RESULTADOS</b> .....	16
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	29
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	35
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	35
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	37

## 1 INTRODUÇÃO

*Toxocara canis* é um nematóide, pertencente à família Ascarididae, que acomete o cão doméstico, bem como alguns canídeos selvagens, parasitando o trato intestinal destes hospedeiros. Seu ciclo de vida é bastante complexo, compreendendo as vias de transmissão: direta, por meio da ingestão de ovos contendo a larva infectante de segundo estágio; transplacentária, fazendo com que os filhotes já nasçam infectados; transmamária, permitindo a infecção dos neonatos através do leite materno, e através da ingestão de hospedeiros paratênicos, como roedores e aves, que podem abrigar larvas em diferentes tecidos sem que estas sofram qualquer grau de desenvolvimento ou percam seu potencial infectante. Seu período pré-patente é de cerca de quatro a cinco semanas quando ocorre a infecção a partir de ovos infectantes. Em casos de infecção transplacentária, os filhotes começam a liberar ovos do nematóide, geralmente, entre a terceira e quarta semanas de vida.

O padrão de migração larvar pode ser influenciado por diversos fatores, tal como, fonte de infecção, idade do animal e número de ovos ou larvas ingeridos. O estado hormonal e imunológico, sexo e a raça, também são considerados fatores críticos tanto para a migração das larvas, quanto para a instalação de infecções patententes.

Tal helminto tem distribuição cosmopolita sendo comumente relatados elevados índices de prevalência em países de diferentes continentes, incluindo o Brasil. Embora seja mais comumente encontrado em animais jovens, têm sido relatados índices de prevalência igualmente altos em cães adultos, sobretudo em animais do sexo masculino.

Estudos epidemiológicos que avaliem a prevalência de determinado parasito devem lançar mão de técnicas diagnósticas mais sensíveis e específicas possíveis, determinando assim índices mais próximos a real situação da doença na região estudada. Existem inúmeros estudos comparativos de técnicas de exames fecais para diagnóstico de *T. canis*, porém a busca por técnicas mais acuradas não cessa, visto que tal parasito ainda confere grande preocupação junto à sociedade. O emprego destas ainda se faz necessário em estudos que avaliem parâmetros biológicos deste ou de outros helmintos, pois testes mais sensíveis são capazes de determinar mais precisa e precisamente o período pré-patente da espécie dentro das condições experimentais.

Este parasito exerce grande importância em Medicina Veterinária, sendo considerado um dos nematóides de maior relevância na clínica de pequenos animais, como um todo, e o mais importantes deles no que se refere aos cães filhotes. A infecção por ele causada pode ser denominada toxocaríase.

Dentre as sintomatologias possivelmente observadas, decorrentes do parasitismo, podemos destacar: a ocorrência de episódios de diarreia alternados com constipação, vômitos esporádicos, tosse e descarga nasal. Pode ser notada acentuada distensão abdominal, como resultado da hipoproteinemia ocasionada por altas cargas parasitárias ou formação de gases. O parasitismo intestinal também pode acarretar distúrbios de absorção, implicando em baixas taxas de crescimento em filhotes com infecção de moderadas a altas. A morte do hospedeiro pode ocorrer em decorrência de marcada debilidade física, obstrução e subsequente ruptura de alças intestinais. Em filhotes, especialmente recém nascidos, tal parasito pode ser incriminado como importante causa de morte prematura, pois pode provocar pneumonia verminótica associada à migração das larvas, abrindo portas para infecções secundárias. Cães adultos são considerados mais resistentes, não apresentando sintomatologia clínica, ou com esta se apresentando mais branda.

Além dos hospedeiros definitivos, canídeos em sua maioria, diversas espécies animais podem atuar como hospedeiros paratênicos, abrigando larvas em diversos órgãos e musculatura. Nestes, pode ser observada grave sintomatologia nervosa, podendo comprometer a vida do animal. Tal síndrome é caracterizada como Larva Migrans Visceral (LMV), podendo acometer inclusive o homem. Assim, além da importância veterinária, tal helminto exerce grande relevância em Saúde Pública.

Por tais evidências, diversos estudos relacionados à patogenia de *T. canis* em hospedeiros acidentais, fundamentados em estudos sobre a migração de larvas do referido nematóide no organismo de uma grande diversidade de espécies animais foram e continuam sendo realizados. São buscadas informações que possam ser empregadas para maior conhecimento sobre a enfermidade em humanos, além de estudos que projetam especial enfoque nos animais, comprovando a capacidade de infectividade retida pelas larvas presentes na musculatura ou órgãos de hospedeiros acidentais, podendo estas, passarem troficamente a outros hospedeiros, sejam eles novos hospedeiros paratênicos, ou ainda, o hospedeiro definitivo, completando o ciclo biológico.

Devido sua enorme importância se fazem necessários estudos visando o controle deste nematóide, principalmente ensaios que avaliem a eficácia de produtos anti-helmínticos, uma vez que a infecção humana é uma consequência direta da contaminação do solo com fezes de cães infectados. Adicionalmente, deve-se considerar o estreito convívio entre cães tidos como mascotes e seus donos, pois essa relação de proximidade merece atenção, seja para o bem estar e saúde do animal de estimação, bem como para a própria família que o cerca. Portanto, medidas de controle, sendo a principal destas a quimioterapia, focadas no hospedeiro definitivo acarretariam numa mais baixa prevalência da infecção canina e, por conseguinte, num menor risco de infecção humana.

Uma barreira para a prática de tais experimentos é a manutenção de cães com infecções patentes em canis experimentais, visto que a parasitose é mais comum em filhotes. Sendo imprescindível a disponibilidade de um significativo número destes para elaborar um ensaio, ou ainda, recorrer a animais jovens de proprietários particulares, que poucas vezes desejam colaborar efetivamente.

O estabelecimento de uma infecção patente em cães adultos representa um desafio, pois estes são geralmente resistentes à reinfecções. Um possível método de obter cães parasitados é proceder à infecção experimental através do modelo do paratenismo, sendo administradas larvas oriundas de tecidos de possíveis hospedeiros paratênicos, tais larvas não teriam a necessidade de realizar uma nova migração e já no hospedeiro definitivo permaneceriam no trato gastrointestinal até atingir a maturidade sexual. Assim sendo, seria possível obter um adequado número de cães infectados para enquadrá-los em futuros testes anti-helmínticos.

O objetivo do presente estudo foi promover a infecção experimental de cães adultos através da administração de larvas de *T. canis* obtidas de tecidos de camundongos experimentalmente infectados. E, conseqüentemente, avaliar a infecção patente, determinando o período pré-patente do nematóide e avaliar as relações entre número total de nematóides recuperados e as diferentes quantidades de larvas infectantes administradas.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Aspectos Morfológicos e Biológicos de *Toxocara canis*

O nematóide *Toxocara canis* (Werner, 1782) Stiles, 1905 (Ascaridida: Ascarididae) é um dos principais parasitos intestinais de canídeos domésticos e silvestres. É de considerável tamanho, podendo os machos atingir cerca de 10 cm e as fêmeas 18 cm. São providos de asas cervicais e corpo curvado ventralmente em sua porção anterior. Já os machos também possuem a extremidade posterior curvada. Os órgãos genitais da fêmea se estendem desde as regiões: anterior e posterior, até a região vulvar. A cauda do macho possui um delgado apêndice terminal e asas caudais, seus espículos medem entre 0,75 e 0,95 mm. Seus ovos são subglobulares, com casca bastante grossa e finamente decorada, com dimensões de, aproximadamente, 90 por 75  $\mu\text{m}$  (SOULSBY, 1987). Estes ovos são extremamente resistentes à ação de agentes químicos e físicos, podendo permanecer viáveis para infecção por anos (REINECKE, 1983). Segundo Rey (2001), as fêmeas de tal parasito atingem o máximo potencial de oviposição diário (dois milhões) a partir da sétima semana de vida. O ciclo biológico deste ascaridídeo é bastante complexo e, de acordo com a idade do hospedeiro, pode compreender a transmissão transplacentária, transmamária, direta e através da ingestão de hospedeiros paratênicos infectados com larvas de segundo estágio. Em cães de até três meses de idade ocorre migração traqueal (SPRENT, 1958), apesar de alguns autores discordarem desta data, indicando que esta via migratória pode ocorrer em animais de até seis meses (WEBSTER, 1956). Os ovos alcançam o estágio infectante em 10-15 dias, em condições ótimas. Após a ingestão dos ovos, as larvas eclodem no duodeno e atravessam a parede intestinal passando pela via linfática e posteriormente, chegando ao fígado através da veia porta. Em seguida, pela veia hepática chegam à veia cava e posteriormente ao coração, artéria pulmonar e pulmões. Migram para os alvéolos, bronquíolos e traquéia, onde são finalmente deglutidas, chegando ao estômago e depois ao intestino delgado, onde completam sua maturação até chegar ao estágio adulto (SOULSBY, 1987).

Em animais com seis meses ou mais, a migração se modifica. Relativamente poucas larvas passam pelos pulmões e traquéia, a maioria delas chega à veia pulmonar e então atingem tecidos somáticos, via coração e circulação sistêmica, permanecendo latentes por meses ou até anos (LEVINE, 1968).

A transmissão transplacentária se dá através da mobilização de larvas encistadas na musculatura das fêmeas grávidas em torno do terço final do período gestacional, porém muitas larvas serão mobilizadas em gestações posteriores (PAYNE; RIDLEY, 1999; BURKE; ROBERSON, 1985). Nos fetos, as larvas se alojam no fígado e pulmões. Do período do nascimento à primeira semana de vida tais larvas são encontradas nos pulmões, passando pelo estômago e finalmente ao intestino delgado, onde podemos encontrar formas adultas a partir da terceira semana de vida dos filhotes. A patência de infecções pré-natais varia entre 23 e 40 dias após o nascimento (SOULSBY, 1987).

Após a ativação, larvas de *T. canis* presentes na musculatura, também podem ser transmitidas via colostro ou leite aos filhotes, caracterizando a infecção transmamária. Neste caso, as larvas se desenvolvem sem a necessidade de uma migração traqueal (OVERGAAUW, 1997).

A infecção do hospedeiro definitivo ainda pode ocorrer a partir de pequenos mamíferos, entre outros animais, que atuando como hospedeiros paratênicos abrigam larvas com potencial infectante em seus tecidos e órgãos, transmitindo estas aos canídeos através do processo predatório (BARRIGA, 1988). Assim como na infecção transmamária, as larvas, de

acordo com o período em que permaneceram latentes ou migrando no hospedeiro acidental, não necessitam de realizar nova migração no hospedeiro definitivo, desenvolvendo-se diretamente no trato gastrointestinal deste (OVERGAAUW, 1997).

Segundo Olsen (1974) os nematóides adultos podem persistir por oito a 108 dias na luz intestinal, considerando uma média de 60 dias, antes de serem expulsos espontaneamente. Apesar de Shantz e Glickman (1981) afirmarem que tais nematóides podem viver, em média, quatro meses. O período pré-patente pode variar entre a terceira e quinta semanas de vida, dependendo do modo de infecção (LEVINE, 1968; LLOYD et al., 1983; SOULSBY, 1987; OVERGAAUW, 1997). Porém em infecções experimentais, sobretudo em cães adultos, este período pode ser aumentado (MAIZELS; MEGHJI, 1984; FAHRION et al., 2008).

## **2.2 Importância Médico-Veterinária**

A sintomatologia clínica depende da idade do hospedeiro, intensidade da infecção, localização e estágio evolutivo dos helmintos. A infecção pré-natal pode ser incriminada por natimortos e mortes prematuras (SCOTHORN et al., 1965). Após o nascimento, os filhotes podem adquirir pneumonia associada à migração traqueal, podendo vir a óbito em poucos dias. Quando estão com duas ou três semanas podem apresentar emaciação e distúrbios digestivos causados por nematóides adultos presentes no estômago e intestino. Diarréia, constipação, vômito, tosse e descarga nasal, podem ser observados ao exame clínico. Pode ser notada uma distensão abdominal, provavelmente como resultado de formação de gases (KOUTZ et al., 1966).

Hayden e Kruiningen (1975) realizaram, experimentalmente, a superinfecção de cães, tendo os exames laboratoriais revelado: moderada leucocitose, marcada eosinofilia, e hipoalbuminemia. Outras alterações observadas foram: moderada ascite, hepatomegalia, linfadenopatia, além de lesões focais em diversos tecidos. Lloyd et al. (1991) demonstraram consideráveis distúrbios de absorção, acarretando em baixas taxas de crescimento em filhotes com infecção de moderadas a altas. A mortalidade pode vir a ocorrer devido à obstrução da vesícula biliar, ductos biliares e pancreáticos e ruptura de alças intestinais, em decorrência de altas cargas parasitárias no trato intestinal (PARSONS, 1987).

Em cães adultos, o surgimento de uma sintomatologia clínica é raro em virtude da baixa carga parasitária comumente encontrada em infecções patentes. Durante a migração somática pode haver, raramente, manifestação de sinais clínicos (OVERGAAUW, 1997). Contudo, existem relatos, sobretudo, de afecções oftalmológicas como celutite orbital (LAUS et al., 2003) e retinites (JOHNSON et al., 1989).

## **2.3 Importância como Zoonose**

Nos países em desenvolvimento, alguns fatores têm contribuído tanto para o aumento do número de animais e do contato destes com humanos. Mudanças nas condições das habitações têm levado a um contato mais íntimo e freqüente dos animais domésticos e seus donos. Como resultado de movimentos ecologistas, muitas pessoas vêm sendo conscientizadas a respeito de políticas de proteção e de preservação animal. No entanto, ações do governo tais como informar a população sobre o risco de transmissão de doenças, controle de zoonoses transmitidas por animais domésticos e controle de populações de animais de rua são praticamente inexistentes no Brasil, resultando num crescente risco de exposição à zoonoses transmitidas por tais animais (OLIVEIRA-SEQUEIRA et al., 2002).

O nematóide *T. canis* exerce importante papel em Saúde Pública, sendo o agente causador da Larva Migrans Visceral (LMV) em humanos (DESPOMMIER, 2003). Tal síndrome fora descrita primeiramente por Beaver et al. (1952). Quando as larvas atingem



diferentes órgãos e tecidos, onde podem permanecer durante muito tempo. A síndrome ocorre, sobretudo, em crianças de 18 meses a três anos de idade, mais propensos a ingerir ovos de *T. canis*, porém também pode se apresentar em indivíduos adultos. Tais larvas também podem se instalar no globo ocular levando a enfermidade denominada Larva Migrans Ocular (LMO), ocorrendo em crianças de mais idade e, às vezes, em adultos. A presença da larva no olho pode ocasionar estrabismo, perda progressiva da visão e cegueira repentina (ACHA; SZYFRES, 1986).

Como a infecção humana é uma consequência direta da contaminação do solo com fezes de cães contendo ovos deste parasito, a prevalência da infecção intestinal canina pode ser um adequado indicador do risco da infecção humana numa dada comunidade (BARRIGA, 1988). Vários autores vêm avaliando os níveis de contaminação ambiental, principalmente de áreas públicas, através da análise de amostras de solo ou fezes de animais domésticos, especialmente nos grandes centros urbanos, correlacionando-os com o risco de uma infecção humana (CHIEFFI; MULLER, 1976; HABLUETZEL et al., 2003; CAPUANO; ROCHA, 2005).

Diversos estudos em nosso país acerca da frequência de soropositividade para antígenos de *T. canis*, mostram porcentagens relativamente altas, especialmente em crianças, sobretudo as que habitam comunidades com precárias condições socioeconômicas (CAMPOS-JÚNIOR et al., 2003; MURADIAN et al., 2005).

## 2.4 Epidemiologia

Diversos trabalhos vêm sendo realizados quanto à prevalência do parasitismo por *T. canis* em cães em diferentes partes do mundo, muitas vezes relatando frequências bastante altas (BARRIGA, 1988; MARTÍNEZ-MORENO et al., 2007). Na Argentina, Fontanarrosa et al. (2006), encontraram uma prevalência de 11% para *T. canis*, utilizando uma técnica de centrífugo-flutuação, sendo o segundo helminto mais prevalente. No mesmo país, Rubel et al. (2003) compararam a frequência de parasitismo por *T. canis* em cães de duas áreas de diferentes status socioeconômicos, obtendo 9% de animais positivos na área de classe média e 19% na área de classe baixa, onde os cães vivem em mais precárias condições de higiene. Este último índice de prevalência também foi encontrado por Minnaar et al. (2002), na África do Sul, em uma comunidade peri-urbana de recursos limitados, onde são esperadas maiores prevalências de parasitos. Malloy e Embil (1978), no Canadá, analisaram amostras fecais de 474 cães de rua, dos quais 26,6% se mostraram positivos para ovos de *T. canis*. Mais recentemente, Dubná et al. (2007), na República Tcheca, verificaram que este era o parasito de maior prevalência nos cães estudados, tanto nos provenientes de regiões urbanas quanto nos animais de regiões rurais.

No Brasil, diversos estudos que avaliam prevalência de nematóides em cães têm sido efetuados, alguns destes utilizam o diagnóstico *post-mortem* (LARA et al., 1981; COSTA et al., 1990), outros são baseados em exames coproparasitológicos, utilizando fezes oriundas de cães domiciliados ou apreendidos (CÔRTEZ et al., 1988; GENNARI et al., 1999; LABRUNA et al., 2006).

Chieffi e Müller (1976) obtiveram prevalência de 37% para *T. canis* no Município de Londrina, Estado do Paraná. Enquanto Lara et al. (1981) reportaram uma frequência de 26,27% para *T. canis* em cães necropsiados na cidade de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul. Matos et al. (1981) encontraram 15,1% de cães positivos para o nematóide em questão. Menores frequências foram observadas por Gennari et al. (1999) que relataram, aproximadamente, 8,5% de animais positivos para *T. canis*, utilizando cães domiciliados na cidade de São Paulo e Oliveira-Sequeira et al. (2002), no mesmo estado, que obtiveram apenas 5,5% dos animais positivos ao exame coproparasitológico, empregando

aleatoriamente as Técnicas de Flutuação Simples, Centrífugo-flutuação de Faust em solução de sulfato de zinco ou sedimentação. Muradian et al. (2005), utilizando as técnicas de Faust e Willis, encontraram uma maior frequência de parasitismo, 39%, no entanto avaliaram apenas animais jovens, o que pode ter contribuído para tal resultado. Em Santa Catarina, Blazius et al. (2005) encontraram a prevalência de 14,5% para este helminto, empregando a Técnica de Sedimentação espontânea. No Estado do Rio de Janeiro, Vasconcellos et al. (2006), trabalhando com cães institucionalizados, verificaram através das técnicas de Willis e Centrífugo-flutuação em solução de sacarose, uma frequência de 8,8%. Mais recentemente, Labruna et al. (2006) avaliaram a prevalência de endoparasitas em cães da área urbana do Município de Monte Negro, Estado de Rondônia, achando para *T. canis* uma taxa de 18,9%, estes autores utilizaram como meio diagnóstico os métodos de Willis, Centrífugo-flutuação em solução de sacarose e de Centrífugo-sedimentação em água-éter. Na maior parte desses estudos, *T. canis* é apontado como o segundo helminto mais prevalente, atrás apenas de *Ancylostoma* spp, que por vezes atinge índices de prevalência superiores a 70% (LABRUNA et al., 2006).

#### **2.4.1 Infecção por *Toxocara canis***

##### **2.4.1.1 Infecções em hospedeiros paratênicos e recuperação de larvas**

Existem poucos relatos na literatura sobre a infecção natural de hospedeiros paratênicos por larvas do gênero *Toxocara*. No entanto, estes podem exercer importante papel epidemiológico em determinadas regiões, podendo atuar como fonte de infecção para cães adultos (ANTOLOVÁ et al., 2004). Chieffi et al. (1981) analisaram sorologicamente exemplares de *Rattus norvegicus* capturados no Município de São Paulo, reportando que acima de 23% dos 121 animais foram considerados positivos. Já Dubinsky (1998), na Eslováquia, encontrou variáveis índices de soropositividade para anticorpos anti-*Toxocara* entre roedores sinatropicos e hemi-sinatropicos de três espécies de áreas urbanas e rurais, sendo maior na primeira. Antolová et al. (2004), no mesmo país, que apesar de trabalharem com diversas espécies de roedores só encontraram positividade em três delas, sendo apenas uma, *Apodemus agrarius*, coincidente com a do estudo anterior.

Estudos experimentais sobre o comportamento migratório de larvas de *T. canis* foram realizados utilizando diversas espécies de hospedeiros não naturais como: galinhas e pombos (GALVIN, 1964); primatas (GLICKMAN; SUMMERS, 1983), e diversas espécies de roedores como: camundongos, *Mus musculus* (SPRENT, 1958); gerbis, *Meriones unguiculatus* (AKAO et al., 2003) e ratos, *Rattus norvegicus* (LESCANO et al., 2004). Muitos desses estudos servem como modelo experimental para a LMV e LMO humanas, correlacionando achados clínicos e histo-patológicos (FENOY et al., 2001, GUARDIS et al., 2002; SOMMERFELT et al., 2004).

A rota migratória das larvas no modelo murino inclui duas fases distintas: a primeira, denominada fase visceral se dá durante a primeira semana pós-infecção, quando as larvas alcançam o fígado, pulmões e outros órgãos. Tal fase também pode ser referida como hepatopulmonar. Após, muitas das larvas permanecem migrando pelo organismo, acumulando-se, principalmente, na carcaça e cérebro, fase denominada miotrópica-neurotrópica (ABO-SHEHADA; HERBERT, 1985).

Vários métodos têm sido usados na recuperação de larvas de *T. canis* em tecidos. A Técnica de Digestão Ácida e a de Compressão de órgãos foram largamente utilizadas para tal finalidade (ABO-SHEHADA; HERBERT, 1985; BARDÓN et al., 1994). Este método é eficiente na observação de larvas presentes no cérebro, porém não mostra tal eficiência na recuperação de larvas localizadas em outros órgãos. Segundo Wang e Luo (1998) a Técnica

de Digestão Ácida é considerada funcional, porém necessita de pepsina e o material digerido deve ser passado por uma bateria de tamises. Portanto, esta técnica se mostra bastante demorada para ser exequível. O aparato de Baermann também pode ser empregado para a recuperação de larvas de nematóides, contudo é um tanto volumoso e a água contida no tubo coletor não estimula nem acelera a liberação das larvas dos tecidos. Neste mesmo trabalho, os autores compararam as Técnicas de Isolamento Ácido e da Digestão Ácida para recuperação das larvas contidas na musculatura e órgãos de camundongos experimentalmente infectados. O número de larvas recuperadas através de ambas as técnicas não diferenciaram significativamente entre si. Porém, os autores indicam a Técnica de Isolamento Ácido por sua maior simplicidade de realização, podendo ser empregada na recuperação das larvas contidas em variados órgãos, tais como: fígado, pulmões, cérebro e no restante da carcaça.

A possibilidade de uma reinfecção experimental por larvas de *T. canis* que já haviam passado por um hospedeiro paratênico foi comprovada com a infecção de camundongos com larvas obtidas de tecido de codorna (*Coturnix coturnix japonica*) (PAHARI; SASMAL, 1990; MARUYAMA et al., 1994) e codornas com larvas obtidas de minhocas (*Pherestima posthuma*) (PAHARI; SASMAL, 1991). Nestes casos, por não se encontrarem em um hospedeiro natural, as larvas tornam a migrar somaticamente nos novos hospedeiros. Tais estudos demonstraram que as larvas continuaram infectantes mesmo permanecendo por longos períodos na musculatura, condizendo com a teoria do paratenismo proposta por Sprent (1954), onde larvas podem ser transferidas na natureza de animal para animal.

#### **2.4.1.2 Infecções experimentais no hospedeiro definitivo**

Sprent (1958) realizou diversos experimentos infectando cães de poucas semanas até cinco meses através da administração de tecido de camundongos, previamente infectados com ovos de *T. canis*. A infecção patente apenas foi conseguida, seguramente por meio de tal experimentação, em um filhote com cerca de três meses. Em outros estudos, usando filhotes de cães e raposas, os animais foram necropsiados antes que os helmintos pudessem atingir o estágio adulto, muitas vezes recuperando larvas no trato gastro-intestinal. Já Warren (1969), alimentou cães com idades variando entre três e 12 meses com carcaças de camundongos experimentalmente infectados, obtendo sucesso no estabelecimento intestinal de nematóides em um dos animais adultos.

Greve (1971) administrou, por via subcutânea, larvas eclodidas artificialmente em cães de diferentes faixas etárias. Denotando a ocorrência de migração traqueal apenas nos animais filhotes (três semanas) e migração somática nos jovens e adultos. Em dois dos animais adultos houve recuperação de nematóides adultos no intestino à necropsia.

Hayden e Kruiningen (1975) procederam a superinfecção de cães adultos jovens com 50.000 ovos embrionados, através de repetidas infecções com cargas de 3.500 ovos, três vezes por semana ao longo de um mês. No entanto, avaliaram os animais através de hematologia e histopatologia, não relatando o encontro de formas do nematóide na luz intestinal.

Dubey (1978), entre outros experimentos sem sucesso, obteve a infecção patente em filhotes após a administração de inóculos contendo entre 30 e 1.000 ovos infectantes, alcançando o período pré-patente entre 32 a 39 dias. Nos animais infectados com apenas dez ovos a tentativa do desenvolvimento da infecção não foi satisfatória. Glickman et al. (1981), também utilizando cães jovens, conseguiram desenvolver infecção patente através da administração de 100 ovos, porém não obtiveram os mesmos resultados empregando cargas de 10.000 ovos. Enquanto Lloyd et al. (1981), trabalhando com cães de seis meses, administraram 2.000 ovos infectantes, submetendo os mesmos a diferentes protocolos de

corticoterapia, somente recuperando nematóides do intestino do animal que recebeu a maior dose imunossupressora.

Maizels e Meghji (1984) obtiveram sucesso quanto à patência de infecção, após efetuarem repetidas administrações de baixas cargas de ovos larvados em cães machos adultos da raça Greyhound, apontando que pode haver predisposição racial.

McTier et al. (2000), num estudo de controle de ascaridídeos em cães, infectaram filhotes com 300 ovos embrionados de *T. canis*. A infecção patente dos animais foi confirmada por exame coproparasitológico empregando uma técnica de centrífugo-flutuação. Cães do grupo controle foram eutanaziados e necropsiados, tendo seus nematóides recuperados, contados e preservados em formalina a 10%. Outros estudos referentes ao controle de helmintos em cães também infectaram cães filhotes com diferentes cargas de ovos embrionados, obtendo sucesso na infecção patente (BURKE; ROBERSON, 1979; CLARK et al., 1991; CLARK et al., 1992).

Taira et al. (2002), infectaram filhotes de raposas (*Vulpes vulpes*) com diferentes cargas de ovos larvados, estabelecendo infecções patentes nos animais cujas doses administradas foram consideradas medianas. Saeed et al. (2005) infectaram dez raposas adultas (14 meses) e dez jovens (oito semanas), da mesma espécie, com cagas de 400 ovos embrionados ou larvas recuperadas de tecido de camundongos, realizando uma ou duas infecções-desafio, a primeira com a mesma quantidade de ovos (cinco de cada faixa etária) e a segunda com o mesmo número de larvas (cinco de cada faixa etária). A infecção patente foi conseguida em 17 dos animais, porém, a eliminação de ovos cessou por completo em até duas semanas em 15 deles. À necropsia os animais apresentavam carga parasitária de zero a 11 nematóides adultos, num total de 37 exemplares, dos quais 24 eram machos e 13 eram fêmeas.

Mais recentemente, Fahrion et al. (2008), realizaram um experimento objetivando a indução de infecção patente em cães previamente expostos à infecção quando filhotes e cães seguramente livres de infecção ao longo da vida. Subdividiram os animais em três grupos, cada qual com três animais pertencentes às categorias supracitadas. Procederam a vermifugação de todos e subseqüentes infecções com 100 ovos embrionados, atingindo a infecção patente em animais de todos os grupos.

#### **2.4.2 Aspectos de resistência**

São diversos os possíveis fatores ligados à resistência à toxocaríase reportados na literatura. O principal e primeiramente relatado foi a resistência ligada à idade, proposta por Sprent et al. (1958), afetando profundamente as rotas de migração tomadas pelas larvas do parasito e, por conseguinte, no estabelecimento ou não de uma infecção patente. A clássica migração hepato-pulmonar-traqueal é geralmente atribuída animais jovens (GREVE, 1971). Quando cães adultos ingerem ovos embrionados, a maior parte das larvas migra para tecidos somáticos, acumulando-se preferencialmente na musculatura, fígado e sistema nervoso central (DUBEY, 1978). Em uma pequena parcela de cães adultos as larvas recém eclodidas não realizam a migração para hepato-pulmonar-traqueal, resultando em infecções intestinais (LLOYD et al., 1981). Apesar de experimentalmente, vários autores afirmarem que tais evidências pareçam ser mais comuns do que se pensava (DUBEY, 1978; MAIZELS; MEGHJI, 1984; FAHRION et al., 2008). A idade apontada como ponto de transição na escolha pela rota de migração é controversa, Sprent (1958) e Overgaauw (1997) citam que fica entre um e dois meses de idade, enquanto Webster (1956) coloca que em animais de até seis meses pode ocorrer a migração através do fígado, pulmões e traquéia. No entanto, se animais adultos ingerirem hospedeiros paratênicos infectados, dependendo do grau de maturidade de tais larvas, estas se desenvolvem diretamente no intestino do hospedeiro

definitivo, sem a necessidade de realizar migração seja ela hepato-pulmonar-traqueal ou somática (ABO-SHEHADA; HERBERT, 1985; OVERGAAUW, 1997). Felsburg (2002) indica que cães com 12 meses de idade, os quais podem ser considerados adultos, possuem o sistema imune completamente competente. Warren (1969) também indica que infecções patentes podem se instalar em cães adultos quando estes ingerem acidentalmente larvas expelidas por filhotes junto às fezes.

No que tange ao sexo, estudos epidemiológicos sugerem que cães do sexo masculino parecem ser mais susceptíveis a infecções patentes por *T. canis*. Jacobs e Prole (1976) e Turner e Pegg (1977) relatam um pronunciado efeito ligado ao sexo, tendo cães machos adultos de quatro a seis vezes maior predisposição a infecções patentes em relação às fêmeas de mesma faixa etária.

Maizels e Meghji (1984) sugerem possível predisposição racial em cães da raça Greyhound, obtendo sucesso no desenvolvimento de seguidas infecções patentes por *T. canis* em machos adultos desta raça. Tais autores inferem que os animais permaneceram totalmente susceptíveis, apesar das sucessivas exposições ao parasito e da presença de anticorpos séricos relacionados tanto a antígenos de superfície quanto de secreção. Contudo, muitos estudos experimentais empregaram cães da raça Beagle, obtendo infecção patente em animais de diferentes idades (GREVE, 1971; GLICKMAN et al., 1981; LLOYD et al., 1981).

Outro fator que deve ser considerado é a carga infectante, de ovos ou larvas, administradas ao animal. Overgaauw et al (1997) sugere que baixas cargas de infecção estão mais próximas da exposição às formas infectantes ocorridas na natureza. Diversos estudos comprovaram esta teoria, obtendo sucesso em infecções experimentais a partir da administração de baixas quantidades de ovos embrionados (DUBEY, 1978; MAIZELS; MEIGHJI, 1984; FAHRION et al., 2008). Outros demonstraram insucesso na instalação da parasitose patente acarretado por protocolos de superinfecções (FERNANDO, 1968; TAIRA et al., 2002).

Assim como Maizels e Meghji (1984), Fahrion et al. (2008) também demonstraram que repetidas exposições não interferem negativamente na instalação da infecção patente, além de verificarem o mesmo em relação ao histórico prévio de infecções. Tendo seus resultados indicado, ainda, que a susceptibilidade a infecções patentes não diferiu significativamente entre cães com prévias exposições ou isentos de parasitismo, independentemente da presença de anticorpos específicos circulantes.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Obtenção e Cultivo de Ovos

Foram utilizados cães filhotes nascidos nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária, do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Estes animais estavam comprovadamente parasitados por *T. canis* por meio da técnica de exame coproparasitológico de Centrífugo-flutuação simples com solução saturada de sacarose de Sheater (SLOSS et al., 1994), observando-se a morfologia dos ovos, diferenciando-os de outros ascarídeos, de acordo com Soulsby (1987). Os cães positivos foram tratados com um produto anti-helmíntico a base de citrato de piperazina<sup>1</sup> na dose de 200mg/kg de peso vivo para a obtenção das fêmeas grávidas de *T. canis* eliminadas junto às fezes. A manutenção destas fêmeas, até a chegada ao laboratório, se deu em frascos contendo solução fisiológica. A confirmação do diagnóstico morfológico da espécie, antes do processamento do material, foi realizada segundo Sprent (1958). As fêmeas do nematóide foram dissecadas para a obtenção dos ovos contidos no terço anterior dos úteros, sob microscópio estereoscópico, com o auxílio de tesouras e pinças oftálmicas. Os ovos foram incubados em solução de formalina a 2% em água destilada, em estufa climatizada do tipo B.O.D. à temperatura de  $27 \pm 1^\circ \text{C}$ , com umidade relativa de  $75 \pm 10\%$  por 60 dias, seguindo, em parte, Wang e Luo (1998), pois estes utilizaram culturas de 45 dias à temperatura de  $37^\circ \text{C}$ . O tempo em que a cultura permaneceu em estufa foi aumentado por esta ter sido mantida a uma menor temperatura. A avaliação da viabilidade dos ovos larvados presentes na cultura foi realizada através da observação da movimentação larval sob microscopia óptica, calculando-se a porcentagem de ovos embrionados (Figura 1). Após, procedeu-se três lavagens sucessivas em água destilada para retirada de resquícios da solução de formalina, centrifugando as amostras acondicionadas em tubos Falcon, cada vez, por dois minutos a 2.000 rpm, sendo ao final da terceira lavagem ressuspensa em água destilada. ,



**Figura 1.** Ovos embrionados de *Toxocara canis* presentes na cultura utilizada para infecção dos camundongos.

<sup>1</sup> Proverme®, Tortuga Companhia Zootécnica Agrária

A contagem dos ovos embrionados na suspensão foi efetuada segundo metodologia proposta por Oshima (1961), coletando-se com o auxílio de micropipeta automática de 20µl, após homogeneização, dez alíquotas de 20µl foram submetidas à análise entre lâminas e lamínulas à microscopia óptica.

### 3.2 Infecção dos Camundongos

Foram utilizados 20 camundongos da linhagem Swiss-Webster, machos, com até oito semanas de vida, mantidos em gaiolas plásticas próprias para animais de laboratório com ração comercial para roedores e água *ad libitum*. Os animais foram doados pelo Biotério do Instituto Vital Brazil, localizado no Município de Niterói, Estado do Rio de Janeiro. Estes foram mantidos em jejum 6h antes e 2h após a infecção, como proposto por Pahari e Sasmal (1990). Foram administrados, aproximadamente 4.500 ovos larvados suspensos em 0,3 ml de solução salina por via oral, com auxílio de cânulas gástricas adaptadas, cortando-se o bisel de agulhas de 40x12mm com auxílio de um esmeril, tomando-se o cuidado de deixar as arestas da extremidade distal arredondadas, curvando-se esta extremidade e, em seguida, conectando estas a seringas de insulina (Figura 2). A dose de ovos por animal foi calculada de acordo com a metodologia empregada por Oshima (1961) para estimar a quantidade de ovos embrionados por inóculo. Os animais foram acompanhados diariamente para observação de possível surgimento de sintomatologia nervosa em decorrência da migração larvar.



**Figura 2.** Infecção experimental dos camundongos com ovos embrionados de *Toxocara canis* por via oro-gástrica.

### 3.3 Obtenção das Larvas

Após 26 dias, os 17 camundongos que permaneceram vivos foram eutanasiados por deslocamento cervical e necropsiados. O método do deslocamento cervical foi escolhido, pois a administração de drogas aos roedores poderia interferir negativamente na recuperação das larvas de *T. canis*. Os três animais que vieram a óbito antes da data estabelecida foram necropsiados, sendo observadas lesões compatíveis com migração larvar em diferentes órgãos, e tiveram seus cérebros avaliados quanto à presença de larvas do nematóide em estudo, através da técnica de compressão de órgãos (ABO-SHEHADA; HERBERT, 1985), para confirmação da infecção destes. Foram separados os seguintes órgãos: fígado, pulmões,

cérebro e carcaça para a digestão pela técnica de isolamento-ácido (WANG; LUO, 1998). Esta técnica sofreu algumas adaptações. Os órgãos foram dispostos em retalhos de malha de nylon de 4 mm<sup>2</sup> dentro de tubos cônicos de Ueno (órgãos) ou béquer de 250 ml (carcaça), sendo então adicionada uma solução de HCl a 0,5% até que os tecidos estivessem submersos. Os recipientes foram alocados em estufa e incubados a 37° C pelo período de 18h para permitir que todas as larvas presentes ultrapassem a malha atingindo o frasco coletor. O tempo proposto pelos autores foi reduzido para que as larvas presentes nos cérebros sofressem o mínimo efeito deletério, possivelmente causado pela permanência na solução ácida por um período prolongado, pois estas migrariam mais rapidamente do tecido para o frasco coletor. Após tal procedimento, os sedimentos presentes nos frascos foram coletados, e as larvas recuperadas (Figura 3) e quantificadas segundo o trabalho de Oshima (1961), conforme descrito anteriormente.



**Figura 3.** Larva de *Toxocara canis* recuperada do cérebro de camundongo experimentalmente infectado.

As larvas sofreram uma série de lavagens em solução salina para a total retirada de resquícios da solução ácida e alíquotas da suspensão de larvas foram analisadas sob microscopia ótica quanto à motilidade, sendo classificadas quanto à aparente viabilidade para a posterior infecção dos cães. Foram separadas em tubos de microtubos com capacidade para 2 ml, alíquotas contendo 60 e 300 larvas para infecção dos cães, sendo estas provenientes apenas de cérebro e carcaça, pois já perfaziam o montante necessário para o procedimento subsequente. Além disso, tais larvas seriam preferencialmente empregadas, pois já se encontravam em estágio mais avançado de maturação, não necessitando realizar nova migração no hospedeiro definitivo (ABO-SHEHADA; HERBERT, 1985).

### 3.4 Infecção dos Cães

Foram empregados 12 cães machos, adultos, da raça Beagle, mantidos no Canil de experimentação do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária. Todos os animais foram mantidos em canis gramados, contendo um abrigo de alvenaria. Os animais foram identificados com “transponders” implantáveis<sup>2</sup> (microchips) (Tabela 1). Todos os animais tinham conhecido histórico de infecção por *T. canis*, pois todos nasceram

<sup>2</sup>ISO FDX-B 12 x 2 mm - Animal Tag®



nas dependências do canil ou foram adquiridos ainda quando filhotes. Os animais foram devidamente vermifugados e estavam comprovadamente sem infecção patente por quaisquer helmintos diagnosticados através da técnica de Centrífugo-flutuação simples (CFS) com solução saturada de sacarose (SLOSS et al., 1994). O protocolo de vermifugação utilizado foi baseado na administração de fenbendazole<sup>3</sup> por três dias consecutivos na dose 50mg/kg de peso vivo e, nos três dias subsequentes, administração de comprimidos contendo a associação de pamoato de pirantel, praziquantel e febantel com palatilizante<sup>4</sup>, obedecendo-se a dosagem indicada na bula pelo fabricante, com os animais entre 10,1 e 15 kg recebendo um comprimido e meio e os animais acima de 15,1kg recebendo dois comprimidos.

**Tabela 1.** Identificação, número do microchip, idade e peso dos cães da Raça Beagle utilizados.

Nº	Grupo/ Animal	Nº do microchip	Idade (meses)	Peso (kg)
<b>60 larvas</b>				
1	Sansão	285422	38	13
2	Horácio	275819	43	15
3	Otto	294174	40	15,5
4	Tico	247335	59	12,5
5	Barney	296603	31	13
6	Heitor	258139	43	16
<b>Média</b>			<b>42,3</b>	<b>14,2</b>
<b>300 larvas</b>				
7	Boris	286313	59	17,5
8	Átila	297253	43	12
9	Aquiles	283023	43	13
10	Bart	273503	38	11
11	Guga	258090	34	14
12	Astor	299972	40	14
<b>Média</b>			<b>42,8</b>	<b>13,6</b>

Durante todo o período de experimentação, os animais foram mantidos em gaiolas metálicas individuais (120 x 80 x 60cm) dispostas em grupos de seis em duas instalações de alvenaria. Os animais foram alimentados com 350g diários de ração comercial<sup>5</sup>, que é constituída de: umidade (máxima) 12%; proteína bruta 21%; extrato etéreo 7%; matéria fibrosa 5%; matéria mineral 10%; cálcio 2,4%; fósforo 0,8%; energia metabolizável 2,755 kcal/kg. A ração e água foram colocadas em comedouros e bebedouros de plásticos, dispostos um por animal. Tanto as gaiolas, principalmente as bandejas, que eram identificadas com o número dos animais para que não fossem trocadas de lugar, quanto as instalações eram lavadas diariamente com solução detergente e água sanitária, para melhor higienização e diminuição de possível contaminação. Esses animais poderiam possuir larvas latentes na musculatura, pois tiveram contato prévio com formas infectantes do parasito em

<sup>3</sup> Panacur® suspensão oral, Intervet do Brasil Veterinária Ltda.;

<sup>4</sup> Canex Premium 3® comprimidos, Sespo Indústria e Comércio Ltda./ Divisão Vetbrands Saúde Animal;

<sup>5</sup> Vigilante®, Empresa Vale dos Girassóis.

estudo. Segundo Overgaauw (1997), a infecção de adultos se dá, mormente em episódios de imunossupressão, ingestão de baixas cargas de ovos infectantes, ou pela ingestão de hospedeiros paratênicos, sendo remota a possibilidade de estas larvas migrarem da musculatura para o trato digestivo dos animais, atingindo a patência da infecção, principalmente em animais do sexo masculino.

Os cães permaneceram em jejum por 12 horas antes de serem sedados com acepromazina<sup>6</sup> na dose de 0,1 mg/kg de peso vivo, por via subcutânea associada à atropina<sup>7</sup> na dose de 0,01 mg/kg e então, infectados com a suspensão de larvas de *T. canis* recuperadas de tecidos de camundongos. Tais animais foram divididos em dois grupos iguais. A cada animal do primeiro grupo foi administrada, por via oral com o auxílio de sonda gástrica (Figura 4), uma suspensão contendo aproximadamente 60 larvas de *T. canis* (Grupo I). Já os animais pertencentes ao segundo grupo foram infectados com uma solução contendo aproximadamente 300 larvas de *T. canis* (Grupo II), ou seja, o quántuplo da carga administrada aos animais do Grupo I, nas mesmas condições anteriormente citadas. Após, realizada a infecção, cada cão recebeu cerca de 20 ml de água destilada para total lavagem das sondas e retirada das larvas. Os animais ainda foram mantidos em jejum por um período de seis horas após a administração das larvas de *T. canis*.

### 3.5 Avaliação da Infecção Patente

Foram realizados exames coproparasitológicos de CFS com solução saturada de sacarose de Sheater nos dias +2, +4 e +7 após infecção. As fezes presentes nas gaiolas eram coletadas com sacolas plásticas descartáveis individuais e devidamente identificadas com a



**Figura 4.** Infecção experimental dos cães com larvas de *Toxocara canis* recuperadas de tecidos de camundongos

<sup>6</sup> Acepran®, Vetnil Indústria e Comércio de Produtos Veterinários Ltda.;

<sup>7</sup> Adrenalina 1%, Fagra - Farmagráfica S. A. Importação e Exportação.

numeração do animal e imediatamente levadas ao laboratório. Para avaliação do período pré-patente (PPP) para cada um dos animais de ambos os grupos, foram empregadas em associação, as técnicas de CFS; Sedimentação Simples, que será denominada Hoffman (HOFFMAN et al., 1934) e uma adaptação da Técnica de Sedimento-Centrífugo-Flutuação (SCF) (MARTINS et al., 2003) proposta por Verocai et al. (2007a) para o nematóide em questão e Verocai et al. (2007b) e Souza et al. (2007) para outros endoparasitos de cães, nos dias +8, + 12 e, consecutivamente entre os dias +16 e + 56, para cada animal. Esta técnica sofreu uma adequação à espécie hospedeira, pois foram utilizados 10g de fezes, pois fora originalmente validada para o diagnóstico de cestóides de eqüinos, utilizando-se o triplo desta quantidade.

Ao longo do período de experimentação, o material fecal de cada animal foi analisado visualmente para detecção de possíveis formas dos helmintos expulsas naturalmente. Quando, por ventura, eram encontrados, estes eram fixados com A.F.A. (álcool formol acético), composto por 93 partes de álcool etílico a 70%, cinco partes de formaldeído a 37% e duas partes de ácido acético glacial, a quente (60-63° C). Em seguida os parasitos foram classificados quanto o grau de maturidade segundo Schacher (1957), sexados e acondicionados em frascos com data e a identificação do animal hospedeiro.

Nos dias +57, +58 e +59 todos os animais foram vermifugados com um produto anti-helmíntico a base de citrato de piperazina<sup>1</sup> na dose 200mg/kg de peso vivo. Adicionalmente, nos dias +60, +61 e +62, os animais foram tratados com a associação de pamoato de pirantel, praziquantel e febantel com palatilizante<sup>3</sup>, na mesma dosagem citada anteriormente. A totalidade do material fecal de cada animal foi coletada das bandejas das gaiolas em sacos plásticos, devidamente identificadas e avaliadas quanto à presença de nematóides adultos da espécie *T. canis* entre os dias +58 e +60. Os helmintos foram quantificados, fixados como indicado acima e, posteriormente classificados segundo o grau de maturidade sexual em imaturos e adultos, sendo estes sexados com auxílio de um microscópio estereoscópico (SCHACHER, 1957). Sendo acondicionados em frascos com data e a identificação do animal hospedeiro. Para confirmar a total retirada dos nematóides procedeu-se a coleta de fezes dos doze animais nos dias +62 e +63, seguindo todos os cuidados anteriormente citados, submetendo tais amostras às técnicas de CFS e SCF.

### **3.6 Análise Estatística**

Os dados obtidos referentes aos períodos pré-patentes de cada um dos grupos foram comparados através do Teste t para amostras independentes, considerando um intervalo de confiança de 95% (SAMPAIO, 2002) através do Programa Biostat 4.0 (AYRES et al., 2005).

## 4 RESULTADOS

Nos animais de ambos os grupos foram diagnosticadas co-infecções pelos nematóides *Ancylostoma* spp., em todos os cães de ambos os grupos a partir de, no mínimo, dia +16, e *T. vulpis*, em um animal do Grupo I (animal 1) e quatro animais do Grupo II, a partir do dia +19. Sendo tais datas anteriores à determinação dos PPP para *T. canis* nos mesmos, em todas as técnicas coproparasitológicas empregadas. Os resultados isolados para as técnicas de SCF, CFS e Hoffman podem ser observados nas Tabelas 2, 3 e 4, respectivamente. A dinâmica de positividade apenas para *T. canis* considerando-se a sobreposição dos resultados obtidos pelas técnicas de Sedimento-centrífugo-flutuação, Centrífugo-flutuação simples e Hoffman encontra-se na Tabela 5.

Todos os cães experimentalmente infectados, de ambos os grupos, com larvas de *T. canis* recuperadas de camundongos infectados com ovos larvados, desenvolveram infecção patente, determinada pelas técnicas de exame coproparasitológico empregadas. Os animais do Grupo I atingiram o período pré-patente nos dias: 42, 42, 46, 52, 52 e 54 pós-infecção, para os animais de número: 1, 2, 4, 3, 5 e 6, respectivamente. Resultando numa média de 48 dias e desvio-padrão de 5,37. Já os animais do Grupo II atingiram o PPP nos dias 36, 37, 40, 41, 46 e 49 após a infecção, para os animais de número: 7, 12, 9, 8, 11 e 10, respectivamente. Resultando num PPP de 41,5 dias e desvio-padrão de 5,09. Houve diferença estatística entre a média dos PPP comparando-se os dois grupos experimentais ( $p=0,0284$ ) (Tabela 6).

Pode-se observar que a técnica que mais prematuramente diagnosticou o PPP foi a de SCF, exceto em um único animal do Grupo II, animal 8, cujo PPP foi diagnosticado pela técnica de CFS. O que sugere que tais técnicas podem ser consideradas complementares. No entanto, houve falha no diagnóstico da infecção patente em um dos animais do Grupo I. A técnica de Hoffman não se mostrou boa para determinação do PPP de *T. canis* em infecções experimentais, pois além de determinar mais tardiamente o PPP, falhou no diagnóstico de vários animais (Tabela 7).

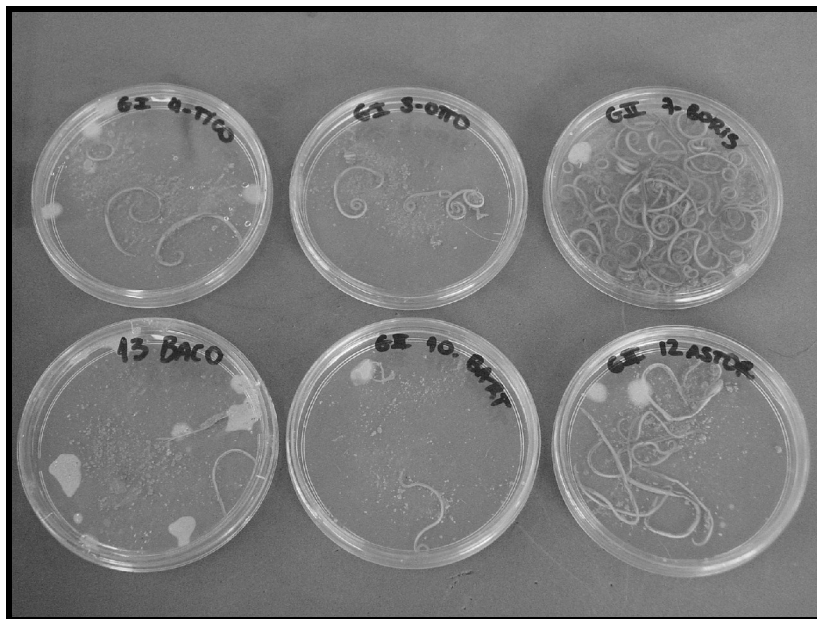
Quanto à recuperação de nematóides adultos junto às fezes, foram encontrados alguns espécimes nos dias + 39, +40, +41, +43, +47, +49, +53 e +54, ou seja, antes da data de vermifugação pré-estabelecida em quatro dos animais, sendo um pertencente ao Grupo I e os demais ao Grupo II. Sendo, ao todo, dois nematóides adultos (um macho e uma fêmea) recuperados do animal de número 6 (Grupo I); dez adultos obtidos do animal 10 (três machos e sete fêmeas); um nematóide jovem do animal 10 e, por fim, um macho adulto do animal 12, estes últimos inclusos no Grupo II. (Tabela 8)

Após a vermifugação, foram recuperados nos dias +58, + 59 e + 60, nematóides adultos e imaturos nas fezes de seis dos animais, sendo três de cada grupo (Figuras 5 e 6). Foram coletados dos animais alocados no Grupo I: um macho do animal 1; quatro adultos (dois machos e duas fêmeas) do animal 3 e três adultos (um macho e duas fêmeas) do animal 4. Já dos animais pertencentes ao Grupo II foram recuperados: 51 nematóides (quatro imaturos, 27 machos e trinta fêmeas) do animal 7; três fêmeas do animal 10 e, finalmente, nove adultos (cinco machos e quatro fêmeas) do animal 12. (Tabela 9).

Ao final da experimentação foram recuperados nematóides de sete dos animais, sendo quatro pertencentes ao Grupo I e apenas três ao Grupo II. Considerando-se os animais do Grupo I: nenhum helminto foi recuperado dos animais 2 e 5, um nematóide sendo recuperado



**Figura 5.** Fezes dos cães experimentalmente infectados, após a vermifugação contendo espécimes de *Toxocara canis*.



**Figura 6.** Placas de Petri contendo exemplares de *Toxocara canis* recuperados de alguns dos cães experimentalmente infectados.

do animal 1 (1,7%); dois nematóides do animal 6 (3,3%); três nematóides do animal 4 (5,0%) e quatro espécimes do animal 3 (6,7%), perfazendo um total de dez helmintos recuperados, com uma intensidade média de  $1,66 \pm 1,63$ , resultando num total de recuperação de  $2,78 \pm 2,73\%$  em relação a carga de larvas administradas. Considerando-se os animais do Grupo II: helminto algum foi recuperado dos animais 8, 9 e 11; quatro exemplares do animal 10 (1,3%); dez do animal 12 (3,3%) e 71 do animal 7 (23,7%). Sendo ao todo quantificados 85 helmintos, com uma intensidade média de  $14,17 \pm 28,12$  parasitos por animal, perfazendo  $4,72 \pm 9,39\%$  do total de larvas administradas. (Tabela 10). Como, seguramente houve perda de material, referente à recuperação dos nematóides, tais resultados são parcialmente válidos, representando a carga mínima que se estabeleceu nos cães nos quais foram recuperados parasitos, exceto no animal de número 1 (Grupo I) do qual foi recuperado apenas um exemplar macho, tendo este animal também sido diagnosticado como positivo para ovos do nematóide em estudo através dos exames fecais.

Os exames parasitológicos de fezes (CFS e SCF) realizados nos dias +62 e +63, não diagnosticaram quaisquer ovos dos nematóides diagnosticados ao longo do período de experimentação na totalidade dos animais, revelando a total retirada de formas adultas ou maduras possivelmente remanescentes no trato gastrintestinal dos animais estudados.

O sucesso obtido no estabelecimento das infecções experimentais demonstra que as larvas recuperadas de órgãos de camundongos através da Técnica de Isolamento Ácido mantiveram-se viáveis, ou seja, mantiveram sua capacidade infectante ao serem inoculadas no hospedeiro definitivo.

**Tabela 2.** Resultados dos exames coproparasitológicos dos cães pertencentes aos Grupos I, infectados com 60 larvas de *Toxocara canis* e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de *T. canis*, através da Técnica de Sedimento-centrífugo-flutuação, nos dias +8, +12 e entre os dias +16 e +56.

Grupo/ Animal	Resultado por dia da técnica de sedimento-centrífugo-flutuação																					
	+8	+12	+16	+17	+18	+19	+20	+21	+22	+23	+24	+25	+26	+27	+28	+29	+30	+31	+32	+33	+34	+35
I <sup>1</sup>																						
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	A <sup>3</sup>	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	0	0	0	0	A	A	A	A	A	A	A
4	0	0	0	0	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
5	0	0	0	A	0	Tr <sup>4</sup>	0	0	0	0	0	0	0	A,Tr	A	A	A	A	A	A	A	A
6	0	0	0	0	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
II <sup>2</sup>																						
7	0	0	0	0	0	0	A	0	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	A	A	A	A	A	A
9	0	0	0	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A,Tr	A	A	A	0	A	A	A	A
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	A	A	A	A	A	A
11	0	0	0	0	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
12	0	0	0	0	0	0	A	0	A	A	A	A	A	A,Tr	0	A	A	A	A	A	A	A

<sup>1</sup>Animais infectados com 60 larvas de *Toxocara canis*;

<sup>2</sup>Animais infectados com 300 larvas de *T. canis*;

<sup>3</sup>*Ancylostoma* spp;

<sup>4</sup>*Trichuris vulpis*.

**Tabela 2. (continuação)** Resultados dos exames coproparasitológicos dos cães pertencentes aos Grupos I, infectados com 60 larvas de *Toxocara canis* e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de *T. canis*, através da Técnica de Sedimento-centrífugo-flutuação, nos dias +8, +12 e entre os dias +16 e +56.

Grupo/ Animal	Resultado por dia da técnica de sedimento-centrífugo-flutuação																				
	+36	+37	+38	+39	+40	+41	+42	+43	+44	+45	+46	+47	+48	+49	+50	+51	+52	+53	+54	+55	+56
I <sup>1</sup>																					
1	0	0	0	0	0	0	T*	0	Tr	0	0	A	0	T,A	0	0	Tr	0	0	0	0
2	A <sup>3</sup>	A	A	A	A	A	T*	A	A	A	A	A	A	A	A	T,A	A	A	A	T,A	A
3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	T*A	T,A	T,A	T,A	T,A
4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	T*A	T,A	T,A	T,A	T,A	T	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A
5	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	T*A	T,A	T,A	A	T
6	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	T*A	T,A	T,A
																			Tr		
II <sup>2</sup>																					
7	T <sup>4</sup> *A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A
8	A	A	A	A	A(t)	A	A	A	0	A	A	T,A	A	A	A	A	A	T,A	A	A	T,A
9	A	A	A	A	T*A	A	A,Tr	T,A	A	A	A	A,Tr	A	T,A	A	A	A	A	T,A	T,A	T,A
10	A	A	A	A	A	A	A,Tr	A	A	A	A	A	A	T*A	A	A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A
11	A,Tr <sup>5</sup>	A	A	A	A	A	A	A	A	A	T*A	A	A	T,A	A	A	T,A	A	A	A	A
12	A	T*A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A

<sup>1</sup>Animais infectados com 60 larvas de *Toxocara canis*;

<sup>2</sup>Animais infectados com 300 larvas de *T. canis*;

<sup>3</sup>*Ancylostoma* spp;

<sup>4</sup>*T. canis*;

<sup>5</sup>*Trichuris vulpis*;

\*Início da liberação de ovos de *T.canis* nas fezes para cada animal.



**Tabela 3.** Resultados dos exames coproparasitológicos dos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de *Toxocara canis* e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de *T. canis*, através da Técnica de Centríflugo-flutuação simples, nos dias +8, +12 e entre os dias +16 e +56.

Grupo/ Animal	Resultado por dia da técnica de centrífugo-flutuação simples																					
	+8	+12	+16	+17	+18	+19	+20	+21	+22	+23	+24	+25	+26	+27	+28	+29	+30	+31	+32	+33	+34	+35
I <sup>1</sup>																						
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	A <sup>3</sup>	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	A	A	A	A	A	A
4	0	0	0	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	A	0	A	A	A	A
6	0	0	0	A	A	A	A	0	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
II <sup>2</sup>																						
7	0	0	0	0	0	0	A	0	0	0	A	0	A	A	A	A	A	0	A	A	A	A
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	A	A	A
9	0	0	0	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	A	A	A	0
11	0	0	0	0	A	0	A	0	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
12	0	0	0	0	0	0	A	0	A	0	A	A	A	A	A	A	0	A	A	A	A	A

<sup>1</sup>Animais infectados com 60 larvas de *Toxocara canis*;

<sup>2</sup>Animais infectados com 300 larvas de *T. canis*;

<sup>3</sup>*Ancylostoma* spp;

**Tabela 3. (continuação)** Resultados dos exames coproparasitológicos dos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de *Toxocara canis* e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de *T. canis*, através da Técnica de Centrífugo-flutuação simples, nos dias +8, +12 e entre os dias +16 e +56.

Grupo/ Animal	Resultado por dia da técnica de centrífugo-flutuação-simples																				
	+36	+37	+38	+39	+40	+41	+42	+43	+44	+45	+46	+47	+48	+49	+50	+51	+52	+53	+54	+55	+56
I <sup>1</sup>																					
1	0	0	0	0	0	0	T*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	A <sup>3</sup>	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	T*A	A
3	A	A	A	A	A	A	0	A	A	0	A	A	A	A	A	A	T*A	T,A	T,A	T,A	T,A
4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	T*A	A	A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A
5	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	0	0	A	0	A	A	A	A	A	0
6	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	T,A	T,A
II <sup>2</sup>																					
7	A	T <sup>4</sup> *A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T,A	T	T,A	T,A
8	A	A	A	A	A	T*A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	T,A
9	A	A	A	A	A	A	A	T*A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	T,A	A	A	T,A
10	A	0	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	T*A	T,A	T,A	T,A
11	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	0	A	A	A	A	A	A	T*A	A
12	A	0	T*A	T,A	T,A	T,A	T,A	A	T	T,A	T,A	T,A	A	T,A	T,A	T	T,A	T	T,A	T,A	T,A

<sup>1</sup>Animais infectados com 60 larvas de *Toxocara canis*;

<sup>2</sup>Animais infectados com 300 larvas de *T. canis*;

<sup>3</sup>*Ancylostoma* spp;

<sup>4</sup>*T. canis*;

\*Início da liberação de ovos de *T.canis* nas fezes para cada animal.

**Tabela 4.** Resultados dos exames coproparasitológicos dos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de *Toxocara canis* e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de *T. canis*, através da Técnica de Hoffman, nos dias +8, +12 e entre os dias +16 e +56.

Grupo/ Animal	Resultado por dia da técnica de Hoffman																					
	+8	+12	+16	+17	+18	+19	+20	+21	+22	+23	+24	+25	+26	+27	+28	+29	+30	+31	+32	+33	+34	+35
I <sup>1</sup>																						
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	A	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	A	A	A	0	A	A	A	A
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	0	0	0	0	0	0	0	A	A	A	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	0	A	A	A	0	A	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	A	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	A <sup>3</sup>	0	0	0	0	0	A	A	0	A	A	0	A	0
II <sup>2</sup>																						
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	0	0	0	A	0	A	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	A	0	A	0	A	A	0	A	0	A	A
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	0	0	0	A	A	A	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	0	0	0	A	0

<sup>1</sup>Animais infectados com 60 larvas de *Toxocara canis*;

<sup>2</sup>Animais infectados com 300 larvas de *T. canis*;

<sup>3</sup>*Ancylostoma* spp;

**Tabela 4. (continuação)** Resultados dos exames coproparasitológicos dos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de *Toxocara canis* e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de *T. canis*, através da Técnica de Hoffman, nos dias +8, +12 e entre os dias +16 e +56.

Grupo/ Animal	Resultado por dia da técnica de Hoffman																				
	+36	+37	+38	+39	+40	+41	+42	+43	+44	+45	+46	+47	+48	+49	+50	+51	+52	+53	+54	+55	+56
I <sup>1</sup>																					
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	A <sup>3</sup>	0	0	A	0	0	A	0	A	A	A	T*A	0	A	A	0	A	A	A	T,A	A
3	A	0	A	0	0	0	0	A	A	A	0	A	0	0	A	0	A	A	0	A	A
4	A	A	0	A	0	0	A	0	0	0	A	0	T*	0	T	T	T	T	0	T	T
5	A	A	0	0	0	0	0	0	0	A	A	0	0	0	0	0	A	0	0	0	0
6	A	0	A	A	0	0	A	A	A	A	A	0	A	A	0	0	A	A	0	A	A
II <sup>2</sup>																					
7	0	T <sup>4*</sup>	T	T	T	T	T	T	T	T	T,A	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
8	0	0	0	A	0	0	0	A	A	0	A	A	0	A	A	A	0	A	0	A	T*
9	A	0	A	A	A	0	A	T*	0	0	A	A	A	A	A	0	A	A	A	A	A
10	A	A	A	0	0	0	0	A	0	0	0	0	0	0	A	A	A	0	A	0	T*
11	A	0	A	A	A	A	0	0	A	A	A	0	T	A	A	A	0	A	A	A	0
12	0	T*A	A	0	T	0	T	0	T	T	T,A	T	0	T	T	0	0	T	T	T	T

<sup>1</sup>Animais infectados com 60 larvas de *Toxocara canis*;

<sup>2</sup>Animais infectados com 300 larvas de *T. canis*;

<sup>3</sup>*Ancylostoma* spp;

<sup>4</sup>*T. canis*;

\*Início da liberação de ovos de *T.canis* nas fezes para cada animal.

**Tabela 5.** Dinâmica de positividade para *Toxocara canis* nos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de *T. canis* e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de *T. canis*, considerando a sobreposição de resultados para as técnicas de Sedimento-centrífugo-flutuação, Centrífugo-flutuação simples e Hoffman.

Grupos/ Animal	Resultados positivos para <i>Toxocara canis</i> /dias pós-infecção																					
	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	
<b>I<sup>1</sup></b>																						
1							+							+		+						
2							+					+									+	
3																		+	+	+	+	+
4												+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
5																		+	+	+		+
6																				+	+	+
<b>II<sup>2</sup></b>																						
7		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8					+	+						+							+			+
9					+			+						+					+	+	+	+
10														+				+	+	+	+	+
11												+		+	+				+		+	
12			+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

<sup>1</sup>Animais infectados com 60 larvas de *Toxocara canis*;

<sup>2</sup>Animais infectados com 300 larvas de *T. canis*;

**Tabela 6.** Período pré-patente, em dias, para *Toxocara canis* atingido pelos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de *T. canis* e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de *T. canis*, em ambos os grupos experimentais.

<b>Grupo/Animal</b>	<b>Período pré-patente (Dias)</b>
<b>I<sup>1</sup></b>	
1	42
2	42
3	52
4	46
5	52
6	54
<b>Média</b>	<b>48<sup>a</sup></b>
<b>Desvio</b>	<b>5,37</b>
<b>II<sup>2</sup></b>	
7	36
8	41
9	40
10	49
11	46
12	37
<b>Média</b>	<b>41,5<sup>b</sup></b>
<b>Desvio</b>	<b>5,09</b>

<sup>1</sup>Animais infectados com 60 larvas de *Toxocara canis*;

<sup>2</sup>Animais infectados com 300 larvas de *T. canis*;

<sup>ab</sup> Médias aritméticas com letras diferentes diferem significativamente (P=0,05).

**Tabela 7.** Período pré-patente, em dias, para *Toxocara canis* atingido pelos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de *T. canis* e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de *T. canis*, considerando-se separadamente as técnicas Sedimento-centrífugo-flutuação, Centrífugo-flutuação simples e Hoffman.

Grupo/Animal	Técnicas/dias pós-infecção		
	SCF <sup>3</sup>	HOFF <sup>4</sup>	CFS <sup>5</sup>
<b>I<sup>1</sup></b>			
1	42	-	42
2	42	47	55
3	52	-	52
4	46	48	46
5	52	-	-
6	54	-	55
<b>II<sup>2</sup></b>			
7	36	37	37
8	47	56	41
9	40	-	56
10	49	56	53
11	46	48	55
12	37	37	38

<sup>1</sup>Animais infectados com 60 larvas de *Toxocara canis*;

<sup>2</sup>Animais infectados com 300 larvas de *Toxocara canis*;

<sup>3</sup>Técnica de sedimento-centrífugo-flutuação;

<sup>4</sup>Técnica de Hoffman;

<sup>5</sup>Técnica de centrífugo-flutuação simples.

**Tabela 8.** Número de *Toxocara canis* recuperados nas fezes dos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de *T. canis* e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de *T. canis*, antes da vermifugação.

Maturidade/Sexo do nematóide	Número de <i>Toxocara canis</i> recuperados nas fezes antes do tratamento															
	+ 39		+ 40		+ 41		+ 43		+ 47		+ 49		+ 53		+ 54	
	7 <sup>b</sup>	10 <sup>b</sup>	7 <sup>b</sup>	7 <sup>b</sup>	7 <sup>b</sup>	7 <sup>b</sup>	12 <sup>b</sup>	7 <sup>b</sup>	7 <sup>b</sup>	12 <sup>b</sup>	7 <sup>b</sup>	6 <sup>a</sup>	7 <sup>b</sup>	7 <sup>b</sup>	7 <sup>b</sup>	
<b>Imaturo</b>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Macho</b>	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	
<b>Fêmea</b>	1	0	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
<b>Total</b>	2	1	1	1	1	3	1	1	1	1	2	2	2	2	2	

<sup>a</sup>Animais infectados com 60 larvas de *Toxocara canis*;

<sup>b</sup>Animais infectados com 300 larvas de *T. canis*.

**Tabela 9.** Número de *T. canis* recuperados nas fezes dos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de *T. canis* e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de *T. canis* após a vermifugação.

Maturidade/Sexo do nematóide	Número de <i>Toxocara canis</i> recuperados nas fezes após tratamento								
	Dia + 58				Dia + 59			Dia + 60	
	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	7 <sup>b</sup>	10 <sup>b</sup>	12 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>	7 <sup>b</sup>	10 <sup>b</sup>	7 <sup>b</sup>
<b>Imaturo</b>	0	0	4	0	0	0	0	0	0
<b>Macho</b>	2	1	21	0	5	1	5	0	1
<b>Fêmea</b>	2	2	26	2	4	0	4	1	0
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>51</b>	<b>2</b>	<b>9</b>	<b>0</b>	<b>9</b>	<b>1</b>	<b>1</b>

<sup>a</sup>Animais infectados com 60 larvas de *Toxocara canis*;

<sup>b</sup>Animais infectados com 300 larvas de *T. canis*.

**Tabela 10.** Número total e porcentagem de recuperação de *T. canis* nas fezes dos cães pertencentes ao Grupo I, infectados com 60 larvas de *T. canis* e ao Grupo II, infectados com 300 larvas de *T. canis* antes e após a vermifugação.

Grupo/ Animal	Recuperação de <i>Toxocara canis</i> nas fezes			Total	Percentual de recuperação (%)
	Imaturo	Macho	Fêmea		
<b>I<sup>1</sup></b>					
1	0	1	0	1	1,7
2	0	0	0	0	0
3	0	2	2	4	6,7
4	0	1	2	3	5,0
5	0	0	0	0	0
6	0	1	1	2	3,3
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	
<b>Média</b>	<b>0</b>	<b>0,83</b>	<b>0,83</b>	<b>1,66<sup>a</sup></b>	<b>2,78</b>
Desvio	0	0,75	0,98	1,63	2,73
<b>II<sup>2</sup></b>					
7	4	30	37	71	23,7
8	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0
10	1	0	3	4	1,3
11	0	0	0	0	0
12	0	5	5	10	3,3
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>35</b>	<b>45</b>	<b>85</b>	
<b>Média</b>	<b>0,83</b>	<b>5,83</b>	<b>7,50</b>	<b>14,17<sup>a</sup></b>	<b>4,72</b>
Desvio	1,60	12,01	14,60	28,12	9,39

<sup>1</sup>Animais infectados com 60 larvas de *Toxocara canis*;

<sup>2</sup>Animais infectados com 300 larvas de *T. canis*;

<sup>a</sup>Médias com mesma letra não diferem significativamente (P>0.05).



## 5 DISCUSSÃO

O sucesso no estabelecimento da infecção patente por *T. canis* em todos os cães de ambos os grupos através da administração de larvas recuperadas de tecidos de camundongos, juntamente aos trabalhos pré-existentes baseados na infecção de cães adultos através da administração de carcaças de roedores infectados experimentalmente (SPRENT, 1958; WARREN, 1969), confirmam laboratorialmente o já consagrado modelo do paratenismo proposto por Sprent (1954). No entanto, o presente trabalho teve o cuidado de recuperar e quantificar as larvas previamente à infecção, podendo ser considerado mais controlado. Adicionalmente, reafirma-se que larvas isoladas através de técnicas, como o isolamento ácido, retêm potencial infectividade para novos hospedeiros, neste caso, definitivos, corroborando com os achados de Pahari e Sasmal (1990; 1991) e Maruyama et al. (1994), ao trabalharem com a transmissão de larvas entre diferentes espécies de hospedeiros paratênicos.

Relativo sucesso foi conseguido por Sprent (1958), infectando cães de poucas semanas até cinco meses através da administração de tecidos de camundongos, previamente infectados com ovos de *T. canis*, junto à carne bovina moída. A infecção patente apenas foi conseguida, seguramente por meio de tal experimentação, em um filhote com cerca de três meses. Em outros estudos, usando filhotes de cães e raposas, os animais foram necropsiados antes que os helmintos pudessem atingir o estágio adulto, muitas vezes recuperando larvas de diferentes tecidos e do trato gastro-intestinal, denotando, mormente, o padrão de migração somática e, por vezes, desenvolvimento direto no trato digestivo. No entanto, ao trabalhar com animais de pouca idade, o autor se deparou com migração hepato-pulmonar-traqueal, não estabelecendo as larvas diretamente no trato intestinal, como realizado no trabalho em discussão. Enquanto Warren (1969), alimentando cães com idades variando entre três e 12 meses, cada qual com carcaças de três camundongos experimentalmente infectados com 25.000 ovos larvados, obteve sucesso no estabelecimento intestinal de nematóides em um dos animais adultos, 31 nematóides no intestino delgado e 42 no estômago. Neste estudo a determinação do período pré-patente não fora objetivada, com o animal adulto parasitado sendo necropsiado, prematuramente, 19 dias após a alimentação com roedores infectados. Outra possível razão para a relativa falha deste autor em estabelecer a infecção intestinal em cães das diferentes idades foi a administração de carcaças de hospedeiros infectados apenas quatro dias pós-infecção, o que de acordo com Abo-Shehade e Herbert (1985) classifica tais larvas como estando ainda na fase visceral. Este cuidado foi tomado no presente estudo, pois os camundongos foram eutanasiados para recuperação das larvas 26 dias pós-infecção, estando tais larvas na fase miotrópica-neurotrópica, ou seja, num estágio mais maduro, dificilmente necessitando de prosseguir a migração num novo hospedeiro. Todos os animais jovens (três ou quatro meses), utilizados por Warren (1969) apresentaram larvas em órgãos como fígado, pulmão, rins e baço, o que reafirma que tais larvas, mesmo estando presentes nos órgãos de hospedeiros paratênicos, mantiveram a necessidade de migrar. Isso também ocorreu num cão de doze meses abatido doze dias pós-infecção, no qual larvas foram encontradas nos pulmões, traquéia, esôfago e conteúdo estomacal.

Greve (1971) administrou, por via subcutânea, larvas eclodidas artificialmente em cães de diferentes faixas etárias. Denotando a ocorrência de migração traqueal apenas nos animais filhotes de três semanas de idade e migração somática nos jovens (três meses) e nos adultos (doze meses). As larvas foram recuperadas de diversos órgãos e hemi-carcaças dos animais de todas as faixas etárias por meio da digestão em solução de pepsina ácida. Em dois dos animais adultos houve recuperação de nematóides no intestino à necropsia, sendo encontrado apenas um nematóide em um destes e 60 no outro, corroborando com o presente

estudo em relação a grande variação entre cargas recuperadas dos indivíduos. O PPP não foi atingido, pois os cães adultos foram prematuramente sacrificados nos dias 18 e 20 pós-infecção.

Já Lloyd et al. (1981), infectaram com cargas consideradas bastante elevadas (2.000 ovos), cães de seis meses de idade sob diferentes protocolos de corticoterapia. Conseguindo instalar uma infecção apenas no animal que recebeu maiores doses de corticosteróides, no qual foram coletados 15 adultos imaturos, decorridas três semanas da infecção. Apesar dos autores, de certo modo, confirmarem que a corticoterapia possa influenciar positivamente no estabelecimento de infecções patentes, tal artifício não foi utilizado no presente ensaio para que os animais mantivessem um bom estado de saúde ao longo do experimento, não sofrendo intencional depressão imune e possível instalação de quaisquer infecções secundárias. Contudo, a influência de possíveis protocolos corticoterápicos sobre a instalação de infecções, obtenção de PPP mais curtos ou, ainda, mais altas taxas de oviposição em *T. canis* podem ser testadas, tomando-se os cuidados necessários com os animais.

O PPP de infecções por *T. canis* pode variar de acordo com a via de infecção, idade do hospedeiro e quantidade de formas infectante do inóculo. No presente estudo, o fato de o PPP ter sido mais curto nos animais infectados com uma maior carga de larvas (Grupo II) em relação ao PPP atingido pelos animais infectados com uma menor carga larvar (Grupo I), em parte, contradiz a literatura, pois é esperado que, em infecções com cargas parasitárias mais elevadas, haja maior competição intraespecífica entre os nematóides, o que poderia influenciar numa maturação sexual mais tardia e, por conseguinte, num mais longo PPP. Pode-se inferir que tal achado tenha ocorrido por razões imunológicas ou ainda, a maior carga de nematóides estabelecida na luz intestinal acarretou numa maior probabilidade de os parasitos se encontrarem a fim de realizarem a cópula, gerando ovos férteis mais prematuramente. Filhotes infectados pela via transplacentária podem alcançar a patência antes das três semanas de vida (LLOYD et al., 1983) ou até quatro semanas, assim como por via galactogênica (SOULSBY, 1987). Considerando-se infecções orais com ovos embrionados, Dubey (1978), num dado experimento, infectou dois cães com 1000 ovos, dois com 100 ovos e outros dois com apenas 10 ovos. O PPP nos dois primeiros animais foi de 39 dias pós-infecção e após necropsia foram achados cinco e 11 adultos de *T. canis* nos intestinos, respectivamente. Nos animais infectados com 100 ovos, foi diagnosticada a presença de ovos junto às fezes nos dias 32 e 35, sendo encontrados à necropsia oito e 30 nematóides adultos, respectivamente. Já nos demais não foram encontrados ovos nos exames fecais, porém ao momento da necropsia foi recuperado um nematóide macho adulto em um dos indivíduos. Em outra etapa da experimentação, cinco filhotes foram infectados com 50 ovos cada, resultando em infecções patentes, sendo ovos liberados nas fezes nos dias 33 e 34. À necropsia foram coletados sete, três, quatro e nove adultos, respectivamente. No animal onde não foram diagnosticados ovos nas fezes foram encontrados dois machos adultos no intestino delgado durante a necropsia, evidenciando também uma infecção patente. Na única etapa experimental empregando animais adultos, o autor conseguiu desenvolver infecção patente em três dos seis animais a partir da administração de 100 ovos infectantes. No entanto, animais de sete, nove e dez meses foram considerados adultos, o que é não usual. O animal mais velho que atingiu patência era uma fêmea de 52 meses, da qual foram recuperados 29 helmintos sexualmente maduros. Nesta etapa experimental, o PPP não foi relatado. Os animais empregados eram considerados isentos do parasitismo por ascariídios ao longo da vida, o que representa um menor desafio enfrentado para instalação da infecção, diferentemente dos cães utilizados no estudo em questão, que tinham prévio histórico de infecção por *T. canis* quando filhotes o que imunologicamente poderia influenciar no estabelecimento dos nematóides na luz intestinal. Ao passo que Hayden e Kruiningen (1975), não objetivando estabelecimento de infecções patentes utilizaram cães de seis meses ou mais,

infectando-os com simultâneas administrações orais de inóculos contendo cerca de 3.500 ovos até atingir aproximadamente 50.000 ovos por animal, esperando uma migração somática. Assim, analisaram histopatologicamente diferentes órgãos dos animais em estudo, como não foram salientados achados de nematóides no trato digestório, o estabelecimento destes no dado sítio não deve ter ocorrido. A relativa avançada idade dos animais, via de inoculação e, principalmente, a superinfecção possivelmente contribuíram para tais resultados. Um interessante dado deste estudo foi o relato de os episódios de vômito duas horas após a infecção, o que pareceu estar relacionado à irritação gástrica acarretada pela massiva atividade de penetração e migração larvar. Dificilmente, isto ocorreria no presente experimento, pois as larvas se desenvolveram diretamente na luz intestinal, pois estas já tinham realizado a migração num hospedeiro precedente, alcançando um apropriado estágio de maturidade, que não mais necessitavam de migrar, confirmando a suposição levantada por Overgaauw (1997).

Glickman et al. (1981) também atingiram o PPP entre os dias 31 e 34, pós-infecção em oito filhotes da raça Beagle com dois meses de idade ao dia de infecção com 100 ovos embrionados, obtendo cargas parasitárias bastante variáveis (9 a 78). No mesmo artigo, os autores infectaram animais com uma carga de 10.000 ovos, alcançando altos títulos de anticorpos específicos para *T. canis*, porém, em contrapartida, não estabelecendo nematóides no trato gastrointestinal. Possivelmente a superinfecção fez com que as larvas eclodidas ou já em mais avançado estágio de maturação fossem eliminadas junto às fezes, antes de atingir a maturidade sexual. Em contraste, Webster (1956) estabeleceu com êxito infecções em cães de seis meses de idade a partir de elevadas doses de ovos embrionados.

Diversos estudos relacionados a testes de eficácia de produtos anti-helmínticos promoveram infecções experimentais em cães filhotes a partir da administração de diferentes quantidades de ovos embrionados. McTier et al. (2000), infectaram filhotes com idade entre dois e três meses com 300 ovos embrionados de *T. canis*. A infecção patente dos animais foi confirmada por exame coproparasitológico empregando uma técnica de Centrifugo-flutuação. Cães do grupo controle foram eutanasiados e necropsiados, tendo seus nematóides recuperados e quantificados. Outros estudos referentes ao controle de helmintos em cães com diferentes drogas, como Burke e Roberson (1979) que administraram 250 ovos larvados do ascaridídeo, as infecções se tornaram patentes 35 dias depois. Clark et al. (1991), empregaram cães de dois a seis meses, infectando-os com inóculos contendo 700 ovos embrionados de *T. canis*, além de co-infecções por ancilostomatídeos como *A. caninum* e *Uncinaria stenocephala* e o também ascaridídeo *Toxascaris leonina*, recuperando à necrópsia *T. canis* no intestino tanto no grupo tratado quanto no controle. Em outro estudo, Clark et al. (1992) realizaram co-infecções em cães jovens com *T. canis* e *A. caninum*, obtendo sucesso para ambas as espécies. Pela idade dos animais utilizados, supõe-se que as larvas eclodidas realizaram migração hepato-pulmonar-traqueal. Talvez as baixas cargas empregadas tenham favorecido o estabelecimento dos nematóides até sua maturação sexual, mesmo com as co-infecções por uma ou mais espécies de nematóides. Como no presente ensaio, tais co-infecções podem ter influenciado de certo modo, no entanto não foi fator de impedimento para a instalação da patência da parasitose. Além disso, são freqüentemente relatados na literatura, em estudos epidemiológicos, elevados percentuais de ocorrência de co-infecções naturais, em especial relacionadas com nematóides do gênero *Ancylostoma*, mas também em associação a *T. vulpis* (LABRUNA et al., 2006). A metodologia apresentada no presente estudo pode também ser empregada para a obtenção de cães experimentalmente infectados para que possam ser enquadrados em testes anti-helmínticos.

Maizels e Meghji (1984) realizaram uma série de infecções em três cães adultos da raça Greyhound empregando doses consideradas baixas, que variavam entre 100 e 200 ovos embrionados. Foram conseguidas sucessivas infecções patentes nos mesmos animais, com estabelecimento de nematóides variando entre 1,6 e 48% e PPP variando entre seis e onze

semanas, semelhante aos resultados obtidos das infecções realizadas no presente trabalho. Quanto à recuperação dos parasitos, também houve marcada diferença entre percentuais de recuperação por animal, em parte relacionadas a fatores intrínsecos do hospedeiro.

Taira et al. (2002), trabalhando com filhotes de raposas (*V. vulpes*) atingiram a pré-patência entre 35 e 38 dias após a infecção com cargas entre 100 e 3.000 ovos larvados. Tentativas de estabelecimento de infecção patente com sub ou sobre-dosagens, 30 e 20.000 ovos, respectivamente, não obtiveram êxito. Enquanto, Saeed et al. (2005) promoveram a infecção experimental por *T. canis*, em raposas jovens e adultas da mesma espécie a partir de repetidas administrações de cargas de 400 ovos ou larvas, atingindo a patência entre 33 e 41 dias pós-infecção. A infecção patente em adultos com larvas recuperou nove helmintos adultos de três animais submetidos a apenas um desafio de infecção por larvas e um adulto em um dos dois animais submetidos a duas infecções. A baixa taxa de recuperação de nematóides adultos nestes animais se assemelha com os resultados do trabalho aqui relatado, sugerindo que o estabelecimento de poucos nematóides que chegam até a maturidade sexual possa estar ligado à idade dos animais empregados, ou seja, provavelmente por razões imunológicas. Este se apresenta como único estudo, no qual são administradas quantidades controladas de larvas a possíveis hospedeiros definitivos, incluindo alguns em idade adulta. As larvas administradas aos animais permaneceram no organismo do hospedeiro paratênico por 16 dias, o que em conformidade com o presente estudo, classificam-nas como ideais para reinfecção dos canídeos por se encontrarem em mais avançado estágio de migração e, tão logo, maturação.

Fahrion et al. (2008), buscando elucidar as circunstâncias nas quais cães adultos adquirem infecções patentes através da ingestão de ovos embrionados, utilizaram cães mestiços de Beagle com idade de sete meses ao começo da experimentação, infectando-os com baixas cargas (100 ovos). Estes animais foram classificados de acordo com o histórico de infecções prévias aliado ao tratamento anti-helmíntico, e então, expostos a três infecções, ao longo dos meses de estudo. Os autores conseguiram desenvolver infecção patente em 16 das tentativas, tanto em cães livres do parasitismo, quanto em cães que já tinham entrado em contato com o nematóide, assemelhando-se ao presente trabalho. Ao período da terceira e última etapa de infecção os cães já estavam na idade adulta, e foi nesta fase que dez das infecções patentes foram atingidas com sucesso. As patências foram alcançadas entre os dias 40 e 56, pós-infecção. Baseando-se em nos resultados do estudo em questão, a pré-patência parece ser estendida em animais mais velhos, confirmando os achados de Maizels e Meghji (1985) e Fahrion et al. (2008) em cães.

A maior parte dos estudos recentes busca o emprego de baixas cargas infectantes, para que a infecção se aproxime do que deve ocorrer em exposições naturais, de acordo com Overgaauw (1997). Entretanto, tais estudos se baseiam na administração de ovos embrionados e não larvas presentes, ou recuperadas de hospedeiros paratênicos. Apesar de a maior carga (300 larvas) utilizada no presente estudo ser o quádruplo da menor (60 larvas), aquela não se caracteriza como uma sobrecarga. Foi conseguido êxito no desenvolvimento da infecção patente em ambos os grupos experimentais, muito embora tenha havido falhas na recuperação de helmintos em alguns dos animais. Portanto, o estabelecimento das infecções parece não ter sido influenciado pelas diferentes cargas de larvas administradas. Apenas houve diferença estatística significativa no PPP, confrontando-se os dois grupos. Sendo o tempo deste reduzido nos animais infectados com uma maior quantidade de larvas. Novos estudos devem ser realizados com diferentes cargas de larvas e empregando animais de diferentes faixas etárias ou do sexo feminino, para avaliar possíveis diferenças. Os estudos de Sprent (1958) e Warren (1969) não precisam o número de larvas administradas aos animais, pois a porcentagem de larvas que se estabelecem nos tecidos dos roedores pode ser bastante variável, e estes ofereceram carcaças inteiras aos hospedeiros definitivos. No entanto, pode-

se observar que os camundongos utilizados por tais pesquisadores foram experimentalmente infectados com altas cargas de ovos embrionados do parasito, o que pode ter levado a um grande percentual de estabelecimento de larvas em seus órgãos e, por conseguinte, altas cargas de larvas administradas aos cães.

Os cães empregados no presente estudo apresentavam média de idade de, aproximadamente, três anos e meio, no dia da infecção. Nos demais trabalhos encontrados na literatura, os adultos empregados têm em geral 12 meses, sendo considerados adultos jovens (GREVE, 1971; FAHRION, 2007). A partir desta idade, Felsburg (2002) considera o sistema imune canino completamente competente, conferindo um desafio para o ensaio. Além do mais, todos os animais estão bem acima da faixa de resistência por idade de seis, oito ou dez meses indicada por diversos autores, como Webster (1956) e Greve (1971).

Além disso, sugere-se que adultos, no caso, machos, podem ser facilmente infectados através da administração de larvas que preservam seu potencial infectante. Isto vai de encontro aos elevados índices de prevalência em cães adultos comumente encontrados na literatura (MARTÍNEZ-MORENO et al, 2007), reforçando a possibilidade de que esta é uma usual via de infecção natural para os hospedeiros definitivos na idade adulta. Outros estudos epidemiológicos relatam um pronunciado efeito ligado ao sexo, tendo cães machos adultos de quatro a seis vezes maior predisposição a infecções patentes em relação às fêmeas de mesma faixa etária (JACOBS; PROLE, 1976; TURNER; PEGG, 1977), o que foi levado em consideração na escolha do sexo dos animais empregados no estudo. Segundo Overgaauw (1997), a infecção de adultos se dá, mormente em episódios de imunossupressão, ingestão de baixas cargas de ovos infectantes, ou pela ingestão de hospedeiros paratênicos, sendo remota a possibilidade de estas larvas migrarem da musculatura para o trato digestivo dos animais, atingindo a patência da infecção, principalmente em animais do sexo masculino. Já nas fêmeas, as larvas encistadas são reativadas por mecanismos ainda não totalmente compreendidos, porém com marcada influencia hormonal (PAYNE; RIDLEY, 1999). Assim, as larvas presentes na musculatura são reativadas durante a gravidez e lactação, as larvas mobilizadas passam para os filhotes transplacentariamente (98%) ou pela via transmamária (1,5%), segundo Burke e Roberson (1985).

Assim como sugerido por Fahrion et al. (2008) nossos resultados sustentam a hipótese de que infecções patentes, que não em filhotes, devam ser coincidentes com circunstâncias particulares como o consumo de hospedeiros paratênicos infectados, imunossupressão ou alterações hormonais, bem como fatores tal qual uma possível predisposição racial proposta por Maizels e Meghji (1984), que sugeriram que os Greyhound não foram capazes de desenvolver uma completa imunidade. No entanto, grande parte dos estudos que obtiveram sucesso no desenvolvimento de infecção patente, seja pela infecção dos animais com ovos embrionados ou tecido de hospedeiros paratênicos utilizou, como o trabalho em questão, cães da raça Beagle (GREVE, 1971; GLICKMAN et al., 1981; LLOYD et al., 1981) ou mestiços deste (FAHRION et al., 2008), o que pode indicar tanto uma elevada susceptibilidade também desta raça, como também a não influência racial.

A recuperação de nematóides foi considerada regular. As falhas em recuperá-los podem ser explicadas pela expulsão natural destes junto às amostras de fezes que, por ventura, não foram coletadas, especialmente no dia +57. Já que Olsen (1974) indica que nematóides adultos podem persistir por um período de oito a 108 dias na luz intestinal, considerando uma média de 60 dias, antes de serem expulsos espontaneamente. Por tal evidência, o tratamento final dos animais visando à recuperação de formas do parasito foi realizado anterior ao período médio considerado pelo autor, apesar de Shantz e Glickman (1981) apontarem que o tempo médio de vida dos nematóides é de cerca de quatro meses. Outros estudos também falharam na recuperação de adultos de alguns dos animais em experimentação, como Saeed et al. (2005) trabalhando com raposas. A coleta de alguns espécimes expelidos anteriormente ao

tratamento também é considerada normal, principalmente em se tratando de hospedeiros adultos, tendo ocorrido fato semelhante no estudo de Maizels e Meghji (1984). Fahrion et al. (2008) também recuperaram parte da carga parasitária estabelecida 60 e 68 dias após a infecção, apesar da administração de baixas doses de ovos. Já Fernando (1968) atribuiu anteriormente este fenômeno como resposta a eventos de superinfecção. Essa expulsão prematura, mesmo depois de atingir a pré-patência, é reponsável pela diminuição da patência da infecção, ou seja, ovos são liberados junto às fezes por curto espaço de tempo, cessando em poucos dias ou semanas, sobretudo em animais adultos. Fato semelhante ao da experimentação em questão ocorreu com Taira et al. (2002), que trabalhando com raposas, apesar de filhotes tiveram a patência das infecções findadas em até duas semanas. Apesar de a patência ter sido prematuramente interrompida neste estudo, em alguns indivíduos, por intervenção do tratamento anti-helmíntico.

Apesar da infecção concomitante por *Ancylostoma* spp., e em menor grau, por *T. vulpis*, não houve falha no desenvolvimento da infecção patente. Todavia, tal fator pode ter interferido na quantidade de nematóides estabelecidos até a maturidade sexual e na oviposição das fêmeas, seja através de um retardo ou diminuição desta, tendo possível impacto na determinação do período pré-patente. Contudo, o PPP médio foi próximo ao determinado por Fahrion et al. (2008) em adultos, caracterizando, possivelmente, um menor efeito deletério destas co-infecções, ao menos no que se refere ao PPP. Tais co-infecções sugerem que o esquema de tratamento anti-helmíntico optado não tenha sido eficaz contra larvas do ancilostomatídeo encistadas na mucosa e contra estágios, provavelmente imaturos de *T. vulpis* presentes na mucosa ou na luz do intestino grosso.

Em relação à combinação de técnicas diagnósticas utilizadas no estudo pode-se afirmar que estas foram complementares, principalmente no que se refere à determinação prematura do PPP, já que foram necessárias duas destas para a mais precisa confirmação deste. Os resultados também confirmam a superioridade da técnica de SCF em relação à técnica de Hoffman, de acordo com os resultados de Verocai et al. (2007a), que a consideraram a primeira, mais sensível e específica que a segunda para *T. canis*. Como a determinação do PPP foi realizada com o emprego da SCF, na maioria dos animais, anteriormente ao determinado pela CFS, podemos considerar aquela mais precisa. Tais evidências levam a crer que a técnica de SCF deva, também, ter maior sensibilidade e especificidade que a CFS, como já comprovado em relação a Hoffman por Verocai et al. (2007a). Como é preconizado que técnicas diagnósticas mais sensíveis e específicas sejam eleitas, principalmente no tocante a estudos epidemiológicos, a técnica de SCF parece ser uma boa opção frente a outras menos acuradas, rotineiramente utilizadas em clínicas e laboratórios para o diagnóstico de *T. canis*, entre outros endoparasitos de cães, apesar de sua mais trabalhosa e demorada execução, conforme indicado para *A. caninum* (SOUZA et al., 2007) e *T. vulpis* (VEROCAI et al., 2007b). O emprego de técnicas mais sensíveis possibilitará um diagnóstico mais fidedigno, podendo revelar infecções com baixas cargas helmínticas ou mais precocemente infecções que estejam entrando em sua patência. Pode-se inferir que muitos dos estudos epidemiológicos citados, empregaram técnicas, que apesar de sua praticidade, possuem baixa sensibilidade. Portanto, os reais índices de prevalência de certos helmintos, apesar de muitas vezes consideravelmente elevados, podem estar sendo subestimados. Assim, corroborando com Oliveira-Sequeira et al. (2002), não somente a população canina pode estar em maior risco, como também deve ser maior o risco de infecções humanas, especialmente quando nos referimos aos parasitos de importância em saúde coletiva como *T. canis*.

## 6 CONCLUSÕES

Pode-se concluir que é possível estabelecer infecção patente em cães adultos com prévio histórico de toxocaríase a partir da administração das diferentes cargas de larvas recuperadas de tecidos de camundongos experimentalmente infectados.

O potencial de infectividade é mantido pelas larvas de segundo estágio de *T. canis* recuperadas de tecidos de camundongos, experimentalmente infectados, por meio da Técnica de Isolamento Ácido.

A Técnica de Sedimento-centrífugo-flutuação se mostrou um melhor método diagnóstico para o parasitismo por *T. canis*, revelando mais precocemente a patência das infecções experimentais.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Baseado nos resultados deste trabalho, diversos estudos a este relacionados necessitam ser realizados, como por exemplo, a avaliação de possíveis diferenças no estabelecimento de nematóides, bem como parâmetros relacionados à infecção patente empregando-se animais de ambos os sexos, variadas faixas etárias e diferentes cargas de larvas obtidas de tecidos de hospedeiros paratênicos.

A utilização deste modelo poderá poupar esforços no sentido da realização de ensaios visando testes anti-helmínticos em cães, sem a necessidade da utilização de cães jovens, filhotes. Atualmente, se faz necessária a utilização de no mínimo 12 cães jovens e 12 adultos, num total mínimo de 24 cães para a conclusão de tais testes, de acordo com as normas internacionais adotadas para o registro destes produtos no Brasil. Enfatizando que todos os animais devem ser submetidos à eutanásia, para posterior necropsia, podendo desta forma, serem poupados pelo menos 12 cães filhotes. A utilização dos filhotes justifica-se simplesmente pela questão da presença de *T. canis*, já que este é mais comumente encontrado em cães de tal faixa etária. Além, disso tal parasito não estabelece experimentalmente infecções patentes consideradas tão práticas quanto como ocorre com *A. caninum* e *T. vulpis*.

Devido à significativa importância de *T. canis* junto à sociedade, constantes estudos enfocando biologia, epidemiologia, controle, entre outros aspectos relacionados a tal parasito, se fazem necessários.



## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABO-SHEHADA, M. N.; HERBERT, I. V. The migration of larval *Toxocara canis* in mice II. *Veterinary Parasitology*, v.17, p.75-83, 1985.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. 2 ed., Washington: Organización Panamericana de Salud, 1986. 989p.

AKAO, N.; TOMODA, M.; HAYASHI, E.; SIZUKI, R.; SHIMIZU-SUGANUMA, M.; SHICHINOHE, K.; FUJITA, K. Cerebellar ataxia due to *Toxocara* infection in Mongolian gerbils, *Meriones unguiculatus*. *Veterinary Parasitology*, v.113, p.229-237, 2003.

ANTOLOVÁ, D.; REITEROVÁ, K.; MITERPÁKOVÁ, M.; STANKO, M.; DUBINSKY, P. Circulation of *Toxocara* spp. In suburban and rural ecosystems in the Slovak Republic. *Veterinary Parasitology*, v.126, p.317-324, 2004.

AYRES, M; AYRES JR., M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. BioEstat 4.0: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. 1 ed., Belém: Sociedade Civil Mamirauá/ Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia; Belém: Imprensa Oficial do Estado do Pará, 2005. 324p.

BARDÓN, R.; CUÉLLAR, C.; GUILLÉN, J. L. Larval distribution of *Toxocara canis* in BALB/c mice at nine and one year post-inoculation. *Journal of Helminthology*, v.68, n.4, p.359-360, 1994.

BARRIGA, O. O. A Critical Look at the Importance, Prevalence and Control of Toxocariasis and the Possibilities of Immunological Control. *Veterinary Parasitology*, v.29, n.2-3, p.195-234, 1988.

BEAVER, P. C.; SNYDER, C. H.; CARRERA, G. M.; DENT, J. H.; LAFFERTY, J. W. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. *Pediatrics*, v.9, p.7-19, 1952.

BLAZIUS, R. D.; EMERICK, S.; PROPHIRO, J. S.; ROMÃO, P. R. T.; SILVA, O. S. Ocorrência de protozoários e helmintos em amostras de fezes de cães errantes da cidade de Itapema, Santa Catarina. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.38, p.73-74, 2005.

BURKE, T. M.; ROBERSON, E. L. Use of Fenbendazole Suspension (10%) against experimental infections of *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum* in Beagle Pups. *American Journal of Veterinary Research*, v.40, n.4, p.552-554, 1979.

BURKE, T. M.; ROBERSON, E. L. Prenatal and lactational transmission of *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*: Experimental infection of the bitch before pregnancy. *International Journal for Parasitology*, v.15, n.1, p.71-75, 1985.

CAMPOS-JÚNIOR, D. ; ELEFANT, G. R.; MELO-SILVA, E. O.; GANDOLFI, L.; JACOB, C, M, A.; PRATESI, R. Frequência de soropositividade para antígenos de *Toxocara canis* em crianças de classes sociais diferentes. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.36, n.4, p.509-513, 2003.

CAPUANO, D. M.; ROCHA, G. M. Contaminação ambiental por ovos de *Toxocara* sp. no município de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo, Brasil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v.47, p.223-226, 2005.

CHIEFFI, P. P; MULLER, E. E. Prevalência de parasitismo por *Toxocara canis* em cães e a presença de ovos de *Toxocara* sp. no solo de localidades públicas de zona urbana do município de Londrina, Estado do Paraná. *Revista de Saúde Pública*, v.10, p.367-372, 1976.

CHIEFFI, P. P.; GUERCIO, V. M. F. DEL; UEDA, M.; MELLO, L. B. Importância de *Rattus norvegicus* capturados no Município de São Paulo, SP, Brasil, como hospedeiros paratênicos de *Toxocara canis* (Ascaroidea, Nematoda). *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v.41, n.2, p.89-91, 1981.

CLARK, J. N.; DAURIO, C. P.; BARTH, D. W.; BATTY, A. F. Evaluation of a beef-based formulation of pyrantel pamoate against induced and natural infections of hookworms and ascarids in dogs. *Veterinary Parasitology*, v.40, p.127-133, 1991.

CLARK, J. N.; DAURIO, C. P.; PLUE, R. E.; WALLACE, D. H.; LONGHOFER, S. L. Efficacy of ivermectin and pyrantel pamoate combined in a chewable formulation against heartworm, hookworm and ascarid infections in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, v.53, n.4, p.517-520, 1992.

CÔRTEZ, V. A.; PAIM, G. V.; ALENCAR-FILHO, R. A. Infestação por ancilostomídeos e toxocarídeos em cães e gatos apreendidos em vias públicas, São Paulo (Brasil). *Revista de Saúde Pública*, v.22, p.341-343, 1988.

COSTA, J. O.; GUIMARÃES, M. P.; LIMA, W. S.; LIMA, E. A. M. Frequência de endo e ectoparasitos de cães capturados nas ruas de Vitória, ES, Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.42, p.451-452, 1990.

DESPOMMIER, D. Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. *Clinical Microbiological Reviews*, v.16, p.265-272, 2003.

DUBEY, J. P. Patent *Toxocara canis* infection in ascarid-naive dogs. *Journal of Parasitology*, v.64, n.4, p.1021-1023, 1978.

DUBINSKY, P. Epidemiology of Toxocariasis in Rural and Urban Areas, *Parasitology International*, v.47 (supl.), p.128, 1998.

DUBNÁ, S.; LANGROVÁ, I.; NÁPRAVNÍK, J.; JANKOVSKÁ, I.; VADLEJCH, J.; PEKÁR, S.; FECHTNER, J. The prevalence of intestinal parasites in dogs from Prague, rural areas, and shelters of the Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, v.145, p.120-128, 2007.

FAHRION, A. S.; STAEBLER, S.; DEPLAZES, P. Patent *Toxocara canis* infection in previously exposed and in helminth-free dogs after infection with low numbers of embryonated eggs. *Veterinary Parasitology*, v.152, n.1, p.108-115, 2008.

FELSBURG, P. J. Overview of immune system development in the dog: comparison with humans. *Human Experimental Toxicology*, v.21, p.487-492, 2002.

FENOY, S.; OLLERO, M. D.; GUILLÉN, J. L.; DEL AGUILA, C. Animal models in ocular toxocariasis. *Journal of Helminthology*, v.75, n.2, p.119-124, 2001.

FERNANDO, S. T. Immunological response of the host to *Toxocara canis* (Werner, 1782) infection. I. Effect of superinfection on naturally infected puppies. *Parasitology*, v.58, p.547-559, 1968.

FONTANARROSA, M. F.; VEZZANI, D.; BASABE, J.; EIRAS, D. F. An epidemiological study of gastrointestinal parasites of dogs from Southern Greater Buenos Aires (Argentina) : Age, gender, breed, mixed infections, and seasonal and spatial patterns. *Veterinary Parasitology*, v.136, n.3-4, p.283-295, 2006.

GALVIN, T. J. Experimental *Toxocara canis* Infections in Chickens and Pigeons. *The Journal of Parasitology*, v.50, n.1, p.124-127, 1964.

GENNARI, S. M.; KASAI, N.; PENA, H. F. J.; CORTEZ, A. Ocorrência de protozoários e helmintos em amostras de fezes de cães e gatos da cidade de São Paulo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.36, n.2, p.87-91, 1999.

GLICKMAN, L.; DUBEY, J. P.; WINSLOW, L. J. Serological response of ascarid-free dogs to *Toxocara canis* infection. *Parasitology*, v.82, p.383-387, 1981.

GLICKMAN, L. T.; SUMMERS, B. A. Experimental *Toxocara canis* infection in cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). *American Journal of Veterinary Research*, v.44, n.12, p.2347-2354, 1983.

GREVE, J. H. Age resistance to *Toxocara canis* in Ascarid-Free Dogs. *American Journal of Veterinary Research*, v.32, n.8, p.1185-1192, 1971.

GUARDIS, M. DEL V.; RAMAN, N. E.; BURGOS, L.; FONROUGE, R. D.; ARCHELLI, S. M. *Toxocara canis*: migración larval y eosinofilia en el hospedador paraténico. *Parasitología Latinoamericana*, v.57, n.1, p.46-49, 2002.

HABLUETZEL, A.; TRALDI, G.; RUGGIERI, S.; ATTILI, A. R.; SCUPPA, P.; MARCHETTI, R.; MENGHINI, G.; ESPOSITO, F. An estimation of *Toxocara canis* prevalence in dogs, environmental egg contamination and risk of human infection in the Marche region of Italy. *Veterinary Parasitology*, v.113, n.3-4, p.243-252, 2003.

HAYDEN, D. W.; KRUIINGEN, H. J. VAN Experimentally Induced Canine Toxocariasis: Laboratory Examinations and pathologic Changes, with Emphasis on the Gastrointestinal Tract. *American Journal of Veterinary Research*, v.36, n.11, p.1605-1614, 1975.

HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation-concentration method in the schistosomiasis mansoni. *Puerto Rico Journal of Public Health*, v.9, p.281-298, 1934.

JACOBS, D. E.; PROLE, J. H. B. Helminth infections of British dogs: prevalence in racing Greyhounds. *Veterinary Parasitology*, v.1, p.377, 1976.

JOHNSON, B. W.; KIRKPATRICK, C. E.; WHITELEY, H. E.; MORTON, D.; HELPER, L. C. Retinitis and intraocular larval migration in a group of Border Collies. *Journal of The American Animal Hospital Association*, v.25, p.623-629, 1989.

KOUTZ, F. R.; GROVES, H. F.; SCOTHORN, M. W. The Prenatal Migration of *Toxocara canis* Larvae and Their Relationship to Infection in the Pregnant Bitches and Pups. *American Journal of Veterinary Research*, v.27, p.789-795, 1966.

LABRUNA, M. B.; PENA, H. F. J.; SOUZA, S. L. P.; PINTER, A.; SILVA, J. C. R.; RAGOZO, A. M. A.; CAMARGO, L. M. A.; GENNARI, S. M. Prevalência de endoparasitas em cães da área urbana do Município de Monte Negro, Rondônia. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.73, n.2, p.183-193, 2006.

LARA, S. I. M.; TAROUCO, M. R. R.; RIBEIRO, P. B. Helmitos Parasitos de *Canis familiaris* de Pelotas – Rio Grande do Sul. *Arquivo da Escola de Veterinária da UFMG*, v.33, n.2, p.293-297, 1981.

LAUS, J. L.; CANOLA, J. C.; MAMEDE, F. V.; ALMEIDA, D. E.; GODOY, G. S.; OLIVEIRA, C. J. B.; PONTIN, K.; ALBUQUERQUE, S.; ALESSI, A. C. Orbital cellulitis associated with *Toxocara canis* in a dog. *Veterinary Ophthalmology*, v.6, n.4, p.333-336, 2003.

LESCANO, S. L.; QUEIROZ, M. L.; CHIEFFI, P. P. Larval recovery of *Toxocara canis* in Organs and Tissues of Experimentally *Rattus norvegicus*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.99, n.6, p.627-628, 2004.

LEVINE, N. D. *Nematode parasites of domestic animals and of man*. 2 ed., Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1968. 477p.

LLOYD, S.; KRISTENSEN, S.; SOULSBY, E. J. L. The Effect of Corticosteroid Therapy on Infection with *Toxocara canis* in Dogs. *Parasitology Research*, v.66, p.57-61, 1981.

LLOYD, S.; AMERSINGHE, P. H.; SOULSBY, E. J. L. Periparturient immunosuppression in the bitch and its influence on infection with *Toxocara canis*. *Journal of Small Animal Practice*, v.24, p.237-247, 1983.

LLOYD, S.; WIJESUNDERA, M. K.; SOULSBY, E. J. L. Intestinal changes in puppies infected with *Toxocara canis*. *Journal of Comparative Pathology*, v.105, n.1, p.95-104, 1991.

MAIZELS, R. M.; MEGHJI, M. Repeated patent infection of adult dogs with *Toxocara canis*. *Journal of Helminthology*, v.58, p.327-333, 1984.

MALLOY, W. F.; EMBIL, J. A. Prevalence of *Toxocara* spp and other parasites in Dogs and Cats in Halifax, Nova Scotia. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, v.42, p.29-31, 1978.

- MARTÍNEZ-MORENO, F. J.; HERNÁNDEZ, S.; LÓPEZ-COBOS, E.; BECERRA, C.; ACOSTA, J.; MARTÍNEZ-MORENO, A. Estimation of canine intestinal parasites in Cordoba (Spain) and their risk to public health. *Veterinary Parasitology*, v.143, n.1, p.7-13, 2007.
- MARTINS, I. V. F.; VEROCAI, G. G.; MELO, R. M. P. S.; FREITAS, I.F.; CORREIA, T. R.; PEREIRA, M. J. S.; SCOTT, F. B. Validação de uma modificação da técnica de centrífugo-flutuação (BEROZA et al., 1986) para o diagnóstico de cestóides em eqüídeos. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 3, p. 99-102, 2003.
- MARUYAMA, S.; YAMAMOTO, K.; KATSUBE, Y. Infectivity of *Toxocara canis* Larvae from Japanese quails in Mice. *Journal of Veterinary Medical Science*, v.56, p.399-401, 1994.
- MATOS, M. S.; LEITE, M. L. A. S.; PEDREIRA, E. D.; COSTA, A. A.; ELOY, E. E. Estudo cronológico da frequência de ovos de helmintos gastrointestinais em fezes de cães (*Canis familiaris*). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.1, p.44-45, 1981.
- MC TIER, T. L.; SIEDEK, E. M.; CLEMENCE, R. G.; WREN, J. A.; BOWMAN, D. R.; HELLMANN, K.; HOLBERT, M. S.; MURPHY, M. G.; YOUNG, D. R.; CRUTHERS, L. R.; SMITH, D. G.; SHANKS, D. J.; ROWAN, T. G.; JERNIGAN, A. D. Efficacy of selamectin against experimentally induced and naturally acquired ascarid (*Toxocara canis* and *Toxascaris leonina*) infections in dogs. *Veterinary Parasitology*, v.91, p.333-345, 2000.
- MINNAAR, W. N.; KRECEK, R. C.; FOURIE, L. J. Helminths in dogs from a peri-urban resource-limited community in Free State Province, South Africa. *Veterinary Parasitology*, v.107, p.343-349, 2002.
- MURADIAN, V.; GENNARI, S. M.; GLICKMAN, L. T.; PINHEIRO, S. R. Epidemiological aspects of Visceral Larva Migrants in children living at São Remo Community, São Paulo (SP), Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.134, n.1, p.93-97, 2005.
- OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G.; AMARANTE, A. F. T.; FERRARI, T. B.; NUNES, L. C. Prevalence of intestinal parasites in dogs from São Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.103, p.19-27, 2002.
- OLSEN, O. W. *Animal Parasites- Their Life Cycles and Ecology*. 1 ed., Baltimore: University Park Press, 1974. 562p.
- OSHIMA, T. Standardization of Techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations on the normal migration routes of larvae. *The Journal of Parasitology*, v.47, p.657-660, 1961.

OVERGAAUW, P. A. M. Aspects of *Toxocara* Epidemiology: Toxocarosis in Dogs and Cats. *Critical Reviews in Microbiology*, v.23, n.3, p.233-251, 1997.

PAHARI, T. K.; SASMAL, N. K. Experimental infection of mice with *Toxocara canis* larvae obtained from Japanese quails. *International Journal for Parasitology*, v.20, n.2, p.263-264, 1990.

PAHARI, T. K.; SASMAL, N. K. Experimental infection of Japanese quails with *Toxocara canis* larvae through earthworms. *Veterinary Parasitology*, v.39, p.337-340, 1991.

PARSONS, J. C. Ascarid infections of cats and dogs. *Veterinary Clinics of North America*, v.17, p.1307-1313, 1987.

PAYNE, P. A.; RIDLEY, R. K. Strategic use of ivermectin during pregnancy to control *Toxocara canis* in greyhound puppies. *Veterinary Parasitology*, v.85, p.305-312, 1999.

REINECKE, R. K. *Veterinary Helminthology*. 1 ed, Durban: Butterworths, 1983. 398 p.

REY, L. *Parasitologia*. 3 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 888p.

RUBEL, D.; ZUNINO, G.; SANTILLÁN, G.; WISNIVESKY, C. Epidemiology of *Toxocara canis* in the dog population from two areas of different socioeconomic status, Greater Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Parasitology*, v.115, p.275-286, 2003.

SAEED, I.; TAIRA, K.; KAPEL, C. M. O. *Toxocara canis* in experimentally silver and arctic foxes. *Parasitology Research*, v.97, p.160-166, 2005.

SAMPAIO, I. B. M. *Estatística Aplicada à Experimentação Animal*, 2 ed., Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002.265p.

SCOTHORN, M. W.; KOUTZ, F. R.; GROVES, H. F. Prenatal *Toxocara canis* infection in pups. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.146, p.45-48, 1965.

SCHACHER, J. P. A contribution to the Life History and Larval Morphology of *Toxocara canis*. *Journal of Parasitology*, v.43, p.599-612, 1957.

SCHANTZ, P.; GLICKMAN, L. T. Roundworms in dogs and cats: Veterinary and Public Health Considerations. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, v.3, p.773-784, 1981.

SLOSS, M. W.; KEMP, R. L.; ZAJAC, A. M. *Veterinary Clinical Parasitology*, 6 ed., Ames: Iowa State University Press, 1994. 198p.

SOMMERFELT, I. E.; ROSA, A.; DUCHENE, A.; DEGREGORIO, O.; LÓPEZ, C.; PISANÚ, A.; DE TORRES, R. *Toxocara canis* in experimentally infected pigs: migratory pattern and tissue lesions. *Veterinary Parasitology*, v.125, n.3-4, p.323-334, 2004.

SOULSBY, E. J. L. *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. 7 ed., México: Nueva Editorial Interamericana, 1987. 823p.

SOUZA, C. P.; VEROCAI, G. G.; CRUZ-VIEIRA, V. P.; FERNANDES, J. I.; AZEVEDO, F. D.; ROCHA, P. S.; SCOTT, F. B. Validade e reprodutibilidade da Técnica de Sedimento-centrífugo flutuação (MARTINS et al., 2003) para o diagnóstico de *Ancylostoma caninum* em cães. *Revista de Patologia Tropical*, v.36, supl. 2, CD-ROM, 2007.

SPRENT, J. F. A. The life cycles of nematodes in the Family Ascarididae (Blanchard, 1896). *Journal of Parasitology*, v.40, p.608-617, 1954.

SPRENT, J. F. A. Observations on the development of *Toxocara canis* (Werner, 1782) in the dog. *Parasitology*, v.48, p.184-209, 1958.

TAIRA, K.; SAEED, I.; KAPEL, C. M. O. Dose-dependent egg excretion in foxes (*Vulpes vulpes*) after a single infection with *Toxocara canis* eggs. *Parasitology Research*, v.88, p.941-943, 2002.

TURNER, T.; PEGG, E. A survey of patent nematode infestations in dogs. *Veterinary Record*, v.100, p.284-285, 1977.

VASCONCELLOS, M. C.; BARROS, J. S. L.; OLIVEIRA, C. S. Parasitas gastrointestinais em cães institucionalizados no Rio de Janeiro, RJ. *Revista de Saúde Pública*, v.20, n.2, p.321-322, 2006.

VEROCAI, G. G.; SOUZA, C. P.; MELO, R. M. P. S.; CRUZ-VIEIRA, V. P.; RIBEIRO, F. A.; CORREIA, T. R.; SCOTT, F. B. Validade e reprodutibilidade da Técnica de Sedimento-centrífugo flutuação (MARTINS et al., 2003) para o diagnóstico de *Toxocara canis* em cães. *Revista de Patologia Tropical*, v.36, supl. 2, CD-ROM, 2007a.



VEROCAI, G. G.; SOUZA, C. P.; MELO, R. M. P. S.; RIBEIRO, F. A.; FERNANDES, J. I.; CORREIA, T. T.; SCOTT, F. B. Validade e reprodutibilidade da Técnica de Sedimento-centrífugo flutuação (MARTINS et al., 2003) para o diagnóstico de *Trichuris vulpis* em cães. *Revista de Patologia Tropical*, v.36, supl. 2, CD-ROM, 2007b.

WANG, G. X.; LUO, Z. J. A novel method for the recovery of *Toxocara canis* in mice. *Journal of Helminthology*, v.72, p.183-184, 1998.

WARREN, E. G. Infections of *Toxocara canis* in dogs fed infected mouse tissues. *Parasitology*, v.59, p.837-841, 1969.

WEBSTER, G. A. A preliminary report on the biology of *Toxocara canis* (Werner, 1782). *Canadian Journal of Zoology*, v.34, p.725-726, 1956.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.  
This page will not be added after purchasing Win2PDF.