

UFRRJ

INSTITUTO DE VETERINÁRIA

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DISSERTAÇÃO

**Ação *in Vitro* de Diferentes Desinfetantes Sobre Larvas Infectantes de
Ancylostoma spp.**

Elizabeth Cristina Ferreira dos Santos

2013



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

AÇÃO *in Vitro* DE DIFERENTES DESINFETANTES SOBRE LARVAS
INFECTANTES DE *Ancylostoma* spp.

ELIZABETH CRISTINA FERREIRA DOS SANTOS

Sob a Orientação do Professor

Fábio Barbour Scott

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

Seropédica, RJ

Fevereiro de 2013

636.70896
96
S237a
T

Santos, Elizabeth Cristina Ferreira dos, 1974-

Ação in Vitro de diferentes desinfetantes sobre larvas infectantes de *Ancylostoma* spp. / Elizabeth Cristina Ferreira dos Santos. - 2013. 44 f.: il.

Orientador: Fabio Barbour Scott. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, 2013.

Bibliografia: f. 27-34.

1. Cão - Parasito - Controle - Teses. 2. Ancilostoma - Larva - Controle - Teses. 3. Desinfecção e desinfetantes - Teses. 4. Parasitologia veterinária - Teses. I. Scott, Fabio Barbour, 1966-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

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

ELIZABETH CRISTINA FERREIRA DOS SANTOS

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 28/02/2013



Fabio Barbour Scott, Dr., UFRRJ
(Orientador)



Thaís Ribeiro Correia Azevedo, Dr., UFRRJ



Isabella Vilhena Freire Martins, Dr., UFES

Dedico esta obra a Deus, que me amparou e me fortaleceu em todos os momentos de minha vida e a minha família pelo amor e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus que nos momentos de desânimo me guiou e com seu manto de esperança me amparou.

A minha família, minha mãe Alice M. F. dos Santos, meu pai Jorge Fernando dos Santos e minha irmã e minha melhor amiga Vane e minha avó Nani que sempre acreditaram em mim e incentivaram a conquistar meus sonhos e me cobriram de amor e carinho.

Aos meus avós Maria do Carmo, Olympio e Renato que mesmo do céu me protegeram e me fortaleceram.

Aos queridos amigos que conquistei na Rural ou em algum momento de minha vida que estão presente até hoje, Monikat, Caracol, Taty Samarino, Paulinha, Sandrinho e Tenente Clara. Adoro vocês !!!!

Ao meu orientador Fábio Barbour Scott pela orientação, acolhimento e confiança.

Aos queridos professores pelo apoio e conselhos, Kat, Tatá, Laerte.

Aos anjos da guarda Milena e Pedro Vianna pela enorme ajuda na elaboração da delineaçãoprática e teórica do estudo, e também pela amizade.

Sem esquecer de agradecer todos os cães Beagles do laboratório LQEPV, principalmente ao Bonitão e Capetina que ajudaram na realização desse trabalho.

Ao curso de pós-graduação em Ciências Veterinárias pelo suporte e realização de um sonho.

Ao CAPES e FAPUR pelo auxílio financeiro que possibilitou a viabilização desse trabalho.

A todos os amigos e aqueles que indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho... Muito obrigada!

BIOGRAFIA

Elizabeth Cristina Ferreira dos Santos, filha de Jorge Fernando dos Santos e Alice Maria Ferreira dos Santos, nasceu em 17 de novembro de 1974, na cidade do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro.

Cursou o ensino fundamental no Colégio Educação Sociabilização e Cultura e o ensino médio no Instituto de ensino MV1, ambos localizados no Rio de Janeiro.

Graduou-se em Medicina Veterinária no ano de 2010 na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Em março de 2011 ingressou no Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, na área de concentração em Parasitologia Veterinária, da UFRRJ, sendo bolsista CAPES sob orientação do Professor Dr. Fábio Barbour Scott.

RESUMO

SANTOS, Elizabeth Cristina Ferreira. **Ação *in Vitro* de Diferentes Desinfetantes Sobre Larvas Infectantes de *Ancylostoma* spp.** 2013. 34.p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a ação de diferentes soluções de desinfetantes sobre larvas infectantes de *Ancylostoma* spp. As larvas foram obtidas a partir de várias coproculturas de dois cães naturalmente infectados por *Ancylostoma* spp. Após sete dias as larvas infectantes foram recuperadas, quantificadas a uma média aproximada de 33 larvas/ 100 µL e acondicionadas em tubos de Falcon compreendendo seis grupos com seis repetições cada. As larvas com volume de desafio de 25 µL foram tratadas por uma hora com hipoclorito de sódio a 2-2,5%, cloreto de benzalcônio nas concentrações de 15 e 30%, formaldeído 7,99%, álcool 70^oGL e água destilada (grupo controle) foram avaliados quanto à motilidade nos tempos de uma, seis e 24 horas após o início do desafio. Em uma hora, o álcool 70% e hipoclorito de sódio a 2-2,5% foram desinfetantes altamente eficazes na eliminação de larvas infectantes de *Ancylostoma* spp. e apresentou diferença significativa, enquanto o formaldeído 7,99% obteve eficácia com 24 horas em relação ao grupo controle. Os demais tratamentos não demonstraram percentuais satisfatórios de mortalidade de larvas em nenhum dos tempos avaliados. Seguindo a mesma metodologia, foi realizada a avaliação de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio, nas quais, as larvas infectantes foram recuperadas, quantificadas em uma média aproximada de 32 larvas/ 100 µL. Para o tratamento realizou-se a diluição da solução original de concentração a 2-2,5% em 1,25%, 0,625%, 0,312%, cada uma com seis repetições e água destilada como controle em 25 µL. As larvas foram avaliadas quanto à motilidade nos tempos de 10 e 30 minutos e uma hora. Houve diferença significativa no tratamento com hipoclorito de sódio a 1,25% e 0,625% com os demais grupos em 30 minutos e em 0,312% não houve diferença significativa nas avaliações. O hipoclorito de sódio e álcool 70^oGL, com exceção da concentração de hipoclorito de sódio a 0,312%, são desinfetantes eficazes na descontaminação de ambientes quando tem por objetivo prevenir a infecção por larva infectante de *Ancylostoma* spp.

Palavras-chave: Ancilostomatídeo, controle ambiental, desinfetante.

ABSTRACT

SANTOS, Elizabeth Cristina Ferreira. **Action *in Vitro* of Different Disinfectants About Infectious larvae of *Ancylostoma* spp.** 2013. 34.p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

The aim of this study was to evaluate the effects of different solutions of disinfectants on infective larvae of *Ancylostoma* spp. The larvae were collected from faecal cultures of two different dogs naturally infected with *Ancylostoma* spp. Seven days after the infective larvae were recovered, quantified to an approximate average of 33 larvae / 100 mL and placed in Falcon tubes comprising six groups with six replicates each. Larvae challenge with a volume of 25 µL were treated for one hour with sodium hypochlorite at 2-2.5% benzalkonium chloride at concentrations of 15 and 30% formaldehyde, 7.99% 70GL alcohol and distilled water (control) were evaluated for motility at a time, six, and 24 hours after the start of the challenge. In one hour, 70% ethanol and 2-2.5% sodium hypochlorite disinfectant were highly effective in the elimination of infectious larvae *Ancylostoma* spp. and significant difference, whereas formaldehyde 7.99% efficacy obtained with 24 hours in the control group. The other treatments did not show satisfactory percentage mortality of larvae in any of the times evaluated. Following the same methodology was performed to evaluate different concentrations of sodium hypochlorite, in which, infective larvae recovered, quantified by an average of approximately 32 larvae / 100 mL. For the treatment performed by dilution of the original solution concentration of 2.5% 1.25%, 0, 625%, 0, 312%, each with six replicates and distilled water as control 25 µL. Larvae were evaluated for motility in the times of 10 and 30 minutes and an hour. Significant difference in treatment with sodium hypochlorite 1.25% and 0 625% with the other groups at 30 minutes and 0.312% no significant difference in the ratings. Sodium hypochlorite and alcohol 70GL, except the concentration of sodium hypochlorite 0, 312%, disinfectants are effective in decontaminating environments when aims to prevent infection with infective larvae of *Ancylostoma* spp.

Key words: Ancilostomatídeo, environmental control, disinfectant

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número médio com desvio padrão e percentual médio de larvas L₃ vivas de *Ancylostoma* spp. submetidos aos tratamentos com cloreto de benzalcônio 15%, álcool 70°GL, hipoclorito de sódio 2- 2,5% e formaldeído 7,99% e cloreto de benzalcônio 15% durante as avaliações17

Tabela 2. Amplitude de larvas L₃ vivas de *Ancylostoma* spp submetidos aos tratamentos com cloreto de benzalcônio 15%, álcool 70°GL, hipoclorito de sódio 2- 2,5% e formaldeído 7,99% e cloreto de benzalcônio 15% durante as avaliações 19

Tabela 3. Número médio com desvio padrão e percentual médio de larvas L₃ vivas de *Ancylostoma* spp submetidos aos tratamentos com hipoclorito de sódio 2-2,5%, hipoclorito de sódio 1,25%, hipoclorito de sódio 0,625 % e hipoclorito de sódio 0,312 % durante as avaliações21

Tabela 4. Amplitude de larvas L₃ vivas de *Ancylostoma* spp. submetidos aos tratamentos com hipoclorito de sódio 2-2,5%, hipoclorito de sódio 1,25%, hipoclorito de sódio 0,625% e hipoclorito de sódio 0, 312 % durante as avaliações22

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2.REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Morfologia e Biologia de <i>Ancylostoma</i> spp.	3
2.2. Importância Médico Veterinário em Saúde Pública.....	6
2.3. Epidemiologia	7
2.5. Viabilidade de Ovos e Larvas de Nematóide	8
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1. Localização do Estudo	13
3.2. Seleção dos cães infectados naturalmente por <i>Ancylostoma</i> spp.	13
3.3. Ação de Desinfetantes sobre Larvas de terceiro estágio de <i>Ancylostoma</i> spp	13
3.4. Ação do Hipoclorito de Sódio em diferentes concentrações sobre Larvas infectantes <i>Ancylostoma</i> spp.	15
3.5. Análise dos Dados	15
4. RESULTADOS	16
4.1. Obtenção de larva L3 de <i>Ancylostoma</i> spp	16
4.2. Avaliação de Desinfetantes Sobre a mortalidade de larva L3 de <i>Ancylostoma</i> spp.	16
4.3. Avaliação de diferentes concentrações de Hipoclorito de sódio sobre larvas de <i>Ancylostoma</i> spp.	20
5. DISCUSSÃO	23
6.CONCLUSÃO.....	26
7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

1. INTRODUÇÃO

Os nematoides *Ancylostoma caninum* e *Ancylostoma braziliense* possuem um grande destaque no cenário das zoonoses de importância em saúde pública. São responsáveis pela Larva Migrans Cutânea e a Enterite Eosinofílica.

Os principais hospedeiros de *Ancylostoma caninum* são cães e gatos, enquanto que *Ancylostoma braziliense* os canídeos.

A distribuição é cosmopolita, sendo comum em países em desenvolvimento onde há cães domiciliados sem tratamento anti-helmíntico de rotina e cães errantes excluídos da maioria dos programas de sanidade animal, favorecendo a disseminação de ovos de helmintos através das fezes, tais como os de *Ancylostoma* spp. Esses animais transitam em ambientes frequentados por adultos, crianças e imunocomprometidos que podem se infectar na manipulação do solo contaminado com larvas de terceiro estágio em locais como praças, praias e outras vias públicas.

O cão infectado pode apresentar diarreia, sangramento retal, vômito, anemia, convulsão, tosse. A migração pulmonar das larvas ocorre em maior frequência nos animais jovens. Cães com idade mais avançada e em condições de baixa infecção podem ser assintomáticos. Nos canídeos a infecção pode ocorrer pela ingestão de larvas de terceiro estágio, pela via transmamária, transplacentária (menos frequente) ou percutânea.

É importante que métodos de prevenção e controle de parasitos sejam implantados, a fim de reduzir a contaminação ambiental pela eliminação de ovos e larvas infectantes. Nesse sentido faz-se necessário a utilização de métodos para promover a inviabilização de larvas e ovos no ambiente com desinfetantes utilizados no dia a dia nas residências e áreas comerciais. Também o recolhimento imediato das fezes em ambiente doméstico e nas ruas, utilizando saco de plástico descartável, é um método simples de controle ambiental que impede que ovo contido nas fezes ecloda a larva passando a infectante no ambiente.

O baixo índice pluviométrico e a alta incidência de luz solar podem eliminar as larvas e ressecar ovos de helmintos em ambientes, por isso seria que a área de defecação dentro da residência ou canil, fosse com grande incidência luz solar.

Há quatro tipos de tratamento químico no solo que foram muito utilizados para controle de larvas e ovos, são: fumigação, injeção de solo, pulverização, espalhamento e produtos químicos sólidos. A eficácia foi estudada principalmente entre as décadas de

20 a 70, sendo muito frequente a resistência de larvas e ovos aos métodos utilizados. Desta forma, tornou-se necessário a utilização de novos produtos para a obtenção um controle pleno de *Ancylostoma* spp.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a ação *in vitro* de diferentes soluções de desinfetantes sobre larvas infectantes de *Ancylostoma* spp.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Morfologia e Biologia de *Ancylostoma* spp.

Os nematóides *Ancylostoma caninum* (ERCOLANI, 1859) e *Ancylostoma braziliense* (FARIAS, 1910) são membros da família Ancylostomatidae (LOOSS, 1905) possuem cápsula bucal e são carentes de coroa radiada e suas margens ventrais apresentam dentes (SOULSBY, 1987). No caso de *A. caninum* (ERCOLANI, 1859), o aparelho bucal é constituído por três pares de dentes ventrais, cápsula infundibular, e um par de dentes triangular no fundo. Já no *A. braziliense* (FARIAS, 1910), o número de dentes é inferior, dois pares de dentes na face ventral, sendo um par grande e outro pequeno.

A fêmea de *A. caninum* em geral mede de 14-16 mm de comprimento e os machos de 10-12 mm. Apresentam aparência rígida e com coloração cinzenta ou avermelhada em função do sangue no tudo digestivo. Quanto ao aparelho reprodutor, o macho tem bolsa copuladora desenvolvida, espículos iguais e delgados, gubernáculo presente. As fêmeas possuem um útero e um ovário formando numerosas bolsas transversais ao longo do corpo (SOULSBY, 1987). Os ovos são elípticos, de casca fina e medem 55 a 77 µm de comprimento por 34 a 45 µm de largura (URQUHART et al., 1998; FORTES, 2004) e um embrião contém oito células quando os ovos saem nas fezes do hospedeiro (BURROWS, 1962; SOULSBY, 1987). A fêmea produz aproximadamente 2000 ovos por dia (SOWEMIMO, ASSALU, 2008).

Um aspecto relevante é o tamanho inferior de *A. braziliense* (FARIAS, 1910) comparado a *A. caninum* (ERCOLANI, 1859), o macho mede de 6-7,75mm de comprimento e as fêmeas 7-10mm. Por outro lado, o macho tem bolsa copuladora desenvolvida com lóbulos laterais grandes; espículos iguais, longos e delgados; gubernáculo presente e os ovos medem 75-45 µm (SOULSBY, 1987).

As condições ideais para desenvolvimento teve como parâmetro um solo próximo do arenoso e com temperatura entre 23 e 30 °C para *A. caninum*, enquanto que para *A. braziliense* ligeiramente superior aos valores anteriormente mencionados. Em uma semana a larva eclode do ovo e atinge o estágio de larva infectante (larva de terceiro estágio). Por outro aspecto, temperaturas inferiores deixam o desenvolvimento da larva mais lento (SOULSBY, 1987).

LEVINE (1967) constatou que os ovos e larvas são notavelmente resistentes à secagem e ao congelamento, outras condições climáticas e produtos químicos, e pode sobreviver por longos períodos no solo.

O'Connor et al. (2006), que demonstraram a sobrevivência de quase 50% das L3 de estrogilídeos após 128 dias a 8 °C e 80% de umidade. As L3 são mais resistentes que os demais estádios não parasitários por causa da bainha que as envolve. Corroborando com Levine (1967), Urquhart et al. (1998), Fortes (2004) e Bowman et al. (2006) quanto a sobrevivência da larvas em condições adversas.

As L1, larvas rhabditóides e se alimentam de bactérias existentes nas fezes e em três dias mudam para L2, que também se alimentam e crescem e mudam para L3, larvas filaróides. Essas conservam a cutícula de L2, impedindo que se alimentem (FORTES, 2004).

Chowdhury et al. (1958) em estudo realizado sobre a histoquímica de larvas constatou que as larvas de terceiro estágio de *Necator americanus* e *Ancylostoma duodenale* apresentaram um acúmulo de glicogênio. Fernando (1963) relatou que o carboidrato e o glicogênio, representavam aproximadamente 1% do peso seco de larvas de terceiro estágio de *N. americanus*.

Wilson (1965) observou uma relativa utilização de uma proteína como fonte de energia. Embora tenha havido uma diminuição na quantidade de proteína nas larvas de *A. caninum*. Ele ocorreu, principalmente, durante a primeira semana, e manteve-se quase constante. Se a proteína estivesse sendo utilizada para a energia, seria de esperar que diminuísse à medida que as larvas envelhecidas, com uma diminuição visível após a depleção de carboidratos e lipídios. Wilson (1965) concluiu que a proteína perdida em algumas larvas e em virtude da perda cutícula na segunda fase.

Clark (1969) concluiu que a quantidade de lipídios presente em larvas infectante de *A. caninum* é quase o dobro do relatado por Wilson (1965) por *N. brasiliense*. Também é cerca de 4% maior que o valor de ovos de *Ascaris* apresentado por Passey e Fairbairn (1957). Com isso, Clark (1969) constatou que os lipídios são alimentos intrínsecos de reserva das larvas infectantes de *A. caninum*. Sendo assim, a utilização de lipídio continua essencialmente à mesma taxa durante as primeiras três semanas, o lipídio seria completamente metabolizado em cinco a seis semanas.

As larvas, no entanto, são conhecidas por viver por três meses em condições laboratoriais (CLARK, 1969). Aparentemente, alguma forma de adaptação fisiológica para a temperatura como sugerido por Wilson (1967). A larva conserva as reservas de

alimentos, possivelmente, porque logo após o lipídio e quase completamente metabolizada as larvas utiliza a proteína (CLARK, 1969). A presença de glicogênio nas larvas jovens e a diminuição rápida deste material indicam que o polissacarídeo é provavelmente metabolizado durante as fases iniciais quando as larvas estão em desenvolvimento e migração fora das fezes (CLARK, 1969).

Clark (1969) avaliou que diminuição da fração solúvel de álcool, após 10 dias de idade parece insignificante e pode indicar que as larvas mantêm uma pequena quantidade de hidratos de carbono como uma fonte de energia imediata, possivelmente para a penetração no hospedeiro.

Nicoll (1917) observou que as larvas são capazes de atravessar distâncias consideráveis, podendo dar origem a uma infecção longe do local.

Cort et al. (1922) ao analisar amostras do solo de uma plantação de cana-de-açúcar que era altamente infestada por larva de *Ancylostoma* spp., observou que as larvas eram distribuídas uniformemente por uma distância de 50 metros. Para determinar o número de larvas de *Ancylostoma* spp. transportada pelos pés dos trabalhadores, após a passagem de rotina no canavial. Foi realizado um raspado de pele dos pés de três pessoas em seis ocasiões diferentes. Os resultados variaram 2-344 larvas *Ancylostoma* spp. por pessoa. Isto é explicado por Donald e Augostin (1922) pelo fato de que, embora a quantidade de precipitação variasse, o solo no canavial era sempre úmido o suficiente para agarrar-se nos sapatos. O achado de 344 larvas de *Ancylostoma* spp. encontrada no sapato de uma única pessoa foi considerado como significativo. Segundo Donald e Augostin (1922), esta pessoa entrou em contato com uma área do canavial que continha uma grande quantidade de larvas, no qual denominaram “ninho de larvas”, que foi imediatamente transferido para sapato. Os autores supracitados supuseram que o trabalhador do canavial mencionado tivesse ido descalço na lama contendo larvas de *Ancylostoma* spp. e estas aderiram à sua pele.

Donald e Augostin (1922) discordando de Nicoll (1917) observaram ao analisar o solo em Trinidad que as larvas *Ancylostoma* spp. não são migratórias durante a sua vida livre no solo, mas podem ser transportadas mecanicamente.

Quanto o ciclo biológico de *Ancylostoma* spp. ocorre com chegada dos ovos ao meio ambiente junto com as fezes do hospedeiro. Na massa fecal as larvas se desenvolvem até a fase infectante, larvas de terceiro estágio (L3), estas migram para fora da massa fecal contaminando a superfície do solo. Elas sobem nas partes mais altas, em quaisquer objetos como folha, grão de areia e aí permanecem, estendendo o corpo

para frente e para trás, ritmicamente, a espera do hospedeiro. As L3 em contato com uma superfície mais resistente ficam com sua atividade aumentada e penetram através dela. Sendo assim, elas são capazes de penetrar na pele dos hospedeiros indeterminados e definitivos. (FERREIRA, 1988; FORTES, 2004).

A infecção dos hospedeiros pode ser por via oral, infecção passiva, a mais comum, ou por via cutânea, infecção ativa, a mais rara. As larvas ingeridas penetram nas glândulas gástricas ou no intestino delgado. Depois de um curto período, migram para a luz do intestino delgado onde atingem a maturidade. Na infecção ativa, via cutânea, as L3 atravessam a pele e atingem a circulação sanguínea ou linfática. Através dela vão ao coração, pulmões, perfuram os capilares dos alvéolos pulmonares, chegando à traqueia, laringe e faringe. Quando chegam à faringe as larvas podem ser deglutidas ou expectoradas. As que forem deglutidas chegam ao intestino delgado e tornam-se adultos (FERREIRA, 1988; FORTES, 2004).

O terceiro tipo de infecção é a pré-natal, onde as larvas atingem o feto pela circulação da mãe. Entretanto, os ancilóstomos só chegam à maturidade por ocasião do nascimento dos filhotes e após 10 a 12 dias já são encontrados ovos em suas fezes (FERREIRA, 1988; FORTES, 2004).

No caso de *A. caninum* há ainda a infecção através do colostro, via transmamária, onde as L3 que se encontravam inativas na musculatura das mães voltam à atividade devido à queda de imunidade do hospedeiro, migram para a glândula mamária e são eliminadas no leite por um período de mais ou menos três semanas após o parto, sendo responsável pela mortalidade de filhotes nas primeiras semanas de vida (PELLON, 1953; ANTUNES, 2001, FORTES, 2004).

2.2. Importância Médico Veterinário em Saúde Pública

Os animais jovens podem apresentar perda de sangue grave, melena, anemia. Os filhotes de cinco a 10 dias podem vir a óbito antes que os ovos apareçam nas fezes. Os animais mais velhos dificilmente apresentam a doença exclusivamente pelo de *Ancylostoma* spp. além disso, nestes animais a resposta medular compensa a perda de sangue (FERREIRA, 1988). O diagnóstico se dá pela identificação de ovos nas fezes e pelo hemograma para constatação da anemia (REY, 1991).

A Larva Migrans Cutânea (LMC) também denominada dermatite serpigínea, bicho geográfico ou de praia, tem como principal agente etiológico a larva de terceiro

estádio de *A. braziliense*. Entretanto, outros helmintos foram identificados como responsáveis pelo mesmo quadro, entre os quais *A. caninum*, *A. stenocephala*, *Gnathostoma spinigerum* e formas imaturas de filárias do gênero *Dirofilaria* (REY, 2008). A LMC é muito comum em regiões de clima quente e em comunidades carentes, entretanto, geralmente, é negligenciada pelos setores de saúde pública. O reconhecimento da sua importância e de outras zoonoses parasitárias de cães e gatos levariam as autoridades sanitárias a alertarem sobre a necessidade de controle da população canina e felina em locais públicos e da responsabilidade dos proprietários sobre as condições sanitárias de seus animais (MCNICHOLAS et al., 2005).

Ao defecar no solo o cão infectado libera milhões de ovos, que em condições ambientais favoráveis, como umidade e temperatura, podem eclodir e desenvolver-se em larvas de terceiro estágio (L₃), sendo essa a forma infectante (NEVES, 1983)

O homem é hospedeiro acidental desta enfermidade que é transmitida pelo contato direto da pele com larvas de terceiro estágio de *Ancylostoma* spp, presentes no solo ou em objetos contaminados com fezes de animais infectados. As larvas penetram rapidamente pela epiderme e produzem um quadro caracterizado por erupção linear ligeiramente saliente, eritematosa, serpenteante, pruriginosa devido à prolongada migração larval no tecido subcutâneo (ACHA, SZYFRES, 1986). Os locais mais comuns de lesões por LMC são os pés, pernas e nádegas por serem áreas de contato direto com o solo. Outros locais como os órgãos genitais (escroto e vulva) também podem ser afetados (ARAÚJO et al., 1999). Raramente a larva de terceiro estágio de *Ancylostoma* spp. penetra em tecidos mais profundos causando manifestações sistêmicas com sintomas pulmonares e inflamação de músculo esquelético (LITTLE et al., 1983).

Recentemente, estudos indicam um aumento do número de casos de enterite eosinofílica humana, determinada pela infecção entérica em humanos por *A. caninum* (PROCIV, CROESE, 1996) que leva à dores abdominais, diarreia, distensão abdominal, perda de peso e sangramento retal (WALKER et al., 1995).

2.3. Epidemiologia

Ancilostomatídeos são nematóides hematófagos que infectam aproximadamente entre 546 e 740 milhões de pessoas em diferentes regiões tropicais e subtropicais do globo, acarretando diversos problemas para a saúde como anemia, retardo mental e

deficiência cognitiva em crianças (SILVA et al., 2003). Há relatos esporádicos em países onde o poder aquisitivo é maior e em turistas que retornaram, recentemente, de áreas endêmicas para essas enfermidades (HEUKELBA et al., 2003). Como resultado do turismo em massa aos destinos exóticos, as enfermidades tropicais tornaram-se de modo crescente, importantes ocorrências na dermatologia humana, sendo a LMC, uma das mais comuns (HOFF et al., 2008).

Heukelba et al. (2003) relataram que em períodos chuvosos, crianças de idade menor ou igual a 4 anos, habitando ambientes sem assoalho sólido e acostumadas a andarem descalças constituem fatores de risco ambientais e comportamentais para a LMC de grande prevalência.

No município de Lavras (MG), no Brasil, foram colhidas amostras de solo ou areia de praças públicas, creches, grupos escolares e clubes que possuíam áreas de recreação infantil. Os resultados revelaram que a contaminação por ovos de *Ancylostoma* spp. foi maior em praças públicas, 69,6%, em relação aos clubes e escolas e creches, 57,1% e 55,6%, respectivamente. Nesse mesmo estudo, foram colhidas 174 amostras de fezes de cães nas clínicas veterinárias para serem submetidas ao exame coproparasitológico e detectou-se 58% de positividade para *Ancylostoma* spp. (GUIMARÃES et al., 2005).

Sem contar que, a contaminação do alimento pode estar relacionado com infecção humana (TAVARES, 2011) sendo evidenciado em estudo de segurança alimentar de hortaliças realizado em São José, São Paulo onde se constatou que, as formas parasitárias de maior ocorrência nas alfaces orgânicas foram ovos de ancilostomídeo (26,7%), ovos de ácaro (26,7%), ácaros (26,7%), cistos de *Entamoeba* sp. (20%) e insetos (pulgões) (20%) (ARBOS et al., 2010). Mais de 60% das alfaces analisadas por Falavigna et al. (2005), provenientes do sistema convencional de produção, encontravam-se parasitadas por protozoários e helmintos, sendo a forma mais prevalente os ovos de ancilostomídeos, confirmando o risco de infecção humana e a importância da higiene adequada destes alimentos (TAVARES, 2011).

2.4. Viabilidade de Ovos e Larvas de Nematóide

Nansen et al. (1988) observaram que, larvas recém eclodidas, antes de alcançarem o estágio de L3, são mais sujeitas ao ataque externos. As L3 têm duas cutículas que, por si só, constituindo uma maior resistência.

Shorb (1937) em estudo *in vitro* de larvas infectantes de *Nippostrongylus Muris*, *Cooperia curticei* e de alguns estrôngilos foram tratados e constatou-se uma resistente à ação de ácido clorídrico em concentrações não letais utilizadas em testes com larvas de *Haemonchus contortus*. Em todas as concentrações testadas, exceto o menor de todos os nematóides de vida livre, morreram quase instantaneamente, enquanto que as larvas infectantes viveram durante alguns segundos, mesmo nas concentrações mais elevadas do ácido utilizado. Todos os nematóides de vida livre foram mortos no final da exposição em meia hora, mas as larvas infectantes permaneceram vivas durante esse tempo em diluições de 1: 6 e durante 24 horas, em diluições de 1: 30.

Levine (1969) observou que o solo com a presença de larvas de nematódeos parasitas são mais resistentes aos produtos químicos em relação aos nematódeos de vida livre, e seus ovos são extremamente resistentes. E concluiu que no dado momento não havia nenhum produto químico possa ser aplicado no pasto que seja realmente satisfatório, barato, seguro e eficiente, que poderia ser aplicado no solo.

Swanson e Taylor (1943) e Andrews et al. (1943) verificaram que brometo de metila foi eficaz contra as larvas de *Haemonchus*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Oesophagostomum*, *Cooperia*, *Bunostomum*, *Nematodirus*, *Strongyloides ransomi*, *Oesophagostomum*, *Stephanurus dentatus* e ovos de *Ascaris suum*.

Lamson e Word (1936) relatado em testes *in vitro* com larvas de *Ascaris suum* utilizando a solução a 0,1 % de cloreto de sódio na suspensão eliminou 100% dos nematóides dentro de dois minutos (CLAPHAM, 1932), utilizando-se mesmo concentração e composto em experimentos *in vitro* contra a larva de *Ancylostoma duodenale* e encontrou ação larvicida completa em 30 minutos.

Morgan e Hawkins (1949) preconizavam que para obter controle eficaz de *Ancylostoma Caninum* ou *Ancylostoma brasilienses* seria necessário pulverizar no solo salmoura contendo 1,5 lb (681 g) de sal por litro de água (180 g por litro), com 1 litro de água salgada por metro quadrado de solo (5,1 litros per metro quadrado)

Hoerlein (1950), avaliando agentes químicos na esterilização de solos infectados com larvas de *A. caninum*, não encontrou efetividade dos grãos secos de ureia para adubação em pastagem, porém verificou o efeito letal com o uso de ureia em solução, evidenciando a influência da umidade no processo.

Earl et al. (1952) utilizou a concentrações 0,06% de hexilresorcinol e relatou em experimentos *in vitro* contra a larva do *Ancylostoma caninum* e encontrou ação larvicida

completa em 30 minutos. Já Trim (1949) obteve uma redução de 50 por cento da variação na quantidade de hexyiresorcinol absorvido por nematóides *Ascaris* spp.

Ackert e Ligenzowski (1949) constataram que o ácido acético a 10% em culturas fecais de gatos praticamente impediu o desenvolvimento das larvas de *Ancylostoma caninum*. No entanto, o resultado não foi obtido com mesmo êxito em estudos com larvas de *Angiostrongylus costaricensis* e um resultado semelhante foi em ovos de *Ascaris lumbricoides* não havendo interferência na evolução dos ovos (ZANINI, GRAEFF-TEIXEIRA, 1995; MASSARA et al, 2001). Tornando-se preocupante devido ao período em que ovos de *Ascaris lumbricoides* permanecem viáveis no ambiente como observado por Mueller (1953) que ao avaliar a resistência ovos *Ascaris lumbricoides* no solo, realizou um experimento, no qual consistia em alagar 100 m quadrados de terra de jardim com 40 litros de esgoto contendo cerca de 300.000 ovos de *Ascaris lumbricoides* de uma família infectada. No local foi construída uma plantação de morangos. Todo ano, durante seis anos, Mueller e outra cobaia humana alimentavam-se de 30 morangos levados desta plantação de morangos. Um deles foi infectado todo ano, descarregando um a nove helmintos. O outro foi infectado quatro vezes durante o período de seis anos. Concluiu-se que os ovos *A. lumbricoides* podem sobreviver pelo menos seis anos no solo.

Em outro estudo, o esgoto com tratamento biológico baseado na digestão anaeróbia, a frio, identificou que a eficácia depende do tempo e da temperatura. Em média a eficácia da redução de helmintos em processos com temperatura de 20°C por 30 dias é de 60 a 75% dependendo da operabilidade do sistema de tratamento. Nas regiões onde a população tem baixo padrão de saúde o número de ovos de helmintos presentes no bio sólido, ou seja, esgoto tratado é grande, 683,4 ovos por litro. Mesmo o tratamento anaeróbio tendo uma eficiência média de 75% não é suficiente para reduzir o número de ovos de helmintos a níveis aceitáveis. A quantidade de ovos viáveis no final do processo de tratamento deve ser levada em consideração caso se queira utilizar o bio sólido resultante na agricultura, em pastagens ou para outros fins (PAULINO et al., 2001).

Balassiano (2007) observou a associação entre higiene ambiental e parasitismo gastrointestinal, e em seu estudo animais que viviam em local de higiene inadequada tiveram 2,98 vezes mais chances de apresentar a infecção. Os parasitos que têm sua transmissão relacionada ao solo são afetados por melhorias no ambiente de criação dos

cães (SAEKI et al., 1997). A ausência de tais condições higiênicas exacerba o risco de transmissão de enfermidades (TRAUB et al., 2005), incluindo as parasitárias.

Marciel et al. (2010) constataram que o fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* pode ser utilizado como controle ambiental de larvas de L3 de *Ancylostoma* spp. No entanto, o controle biológico não impede o uso de anti-helmínticos (JACKSON, MILLER, 2006). Este estudo demonstrou que o fungo *D. flagrans* (isolado CG768) a 10.000 clamidosporos por grãos de solo apresentou resultados satisfatórios, reduzindo o número de L3 de *Ancylostoma* spp. em um solo sob condições de estufa.

Há necessidade da utilização de meios na descontaminação para se prevenir ovos e larvas de helmintos em verduras, superfícies ou fômites contaminados por estes, sejam pelo uso de substâncias desinfetantes (AYÇIÇEK et al., 2001; MORRONDO et al., 2006), através do calor (VAN KNAPEN; FRANCHIMONT, 1979), do frio (O'LORCAIN, 1995), da exposição à radiação (KAMIYA et al., 1987), como também exposição ao ozônio (OOI et al., 1998)

Ayçiçek (2000) constatou que todas as soluções de iodo (2,5, 5, 7,5, 10%) foram eficazes contra ovos embrionados de *T. canis*, enquanto que glutaraldeído 2%, cloreto de benzalcônio 10%, hipoclorito de sódio e de potássio 7%, permanganato 1%, de álcool etílico 70° GL, hidróxido de potássio 10% e de solução de fenol 3% foram usados como os desinfetantes e revelaram-se ineficazes. Estes dados também foram confirmados por estudos *in vivo* com ovos larvados de *T. canis* tratados com iodo e inoculados oralmente em camundongos.

Morrondo et al. (2006) em estudos realizados com os ovos de *T. canis* tratados com álcool 70° GL, hipoclorito de sódio 2-2,5% e cloreto de benzalcônio com formaldeído, que larvaram, foram inoculados em camundongos para avaliar a infectividade das larvas e os resultados observados confirmaram a alta eficácia do hipoclorito de sódio 2-2,5% na inviabilização das mesmas, já o grupo tratado com cloreto de benzalcônio e formaldeído permitiu a migração das larvas, embora em número significativamente menor que o do controle.

Verocai et al. (2010) em experimento *in vitro* utilizando diferentes desinfetantes habitualmente usados em residências e abrigos, constataram uma redução da integridade e durabilidade ao utilizar hipoclorito de sódio 2-2,5% em ovos *T. canis*. Para confirmação da inviabilidade, inoculou-se ovos larvados de *T. canis* tratados com hipoclorito de sódio em camundongos para observar a migração das larvas em órgãos e

tecidos. Na necropsia não foram observadas larvas no cérebro, fígado, carcaça e nos rins de todos os camundongos inoculados com esse desinfetante citado.

Tavares (2011) constatou que as larvas de *T. cati* submetidas ao tratamento com hipoclorito de sódio 2-2,5% mantiveram a infectividade apesar do número de larvas recuperadas nas 30 carcaças dos camundongos ter sido significativamente menor que os tratamentos com cloreto benzalcônio 15%, formaldeído 7, 99% e álcool 70^oGL.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização do Estudo

O trabalho foi realizado nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), pertencente ao Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizado no município de Seropédica, a latitude 22°44'38" sul, longitude 43°42'27" oeste e altitude de 26 metros.

3.2. Seleção dos Cães Infectados Naturalmente por *Ancylostoma* spp.

Foram utilizados dois cães da raça beagle mantidos em canis individuais do LQEPV, comprovadamente parasitados pelo nematóide *Ancylostoma* spp. por meio da técnica de exame coproparasitológico de Centrífugo-Flutuação Simples realizada no mesmo laboratório. Em seguida, foi realizada a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) segundo a técnica de Gordon e Whitlock (1939, modificada). Com as amostras fecais desses cães foi realizado um *pool* de fezes para formação de várias coproculturas com finalidade de obtenção de larvas de *Ancylostoma* spp. Essas coproculturas foram mantidas por sete dias em estufa a 26⁰C, estando entre 23- 30⁰C, temperatura favorável ao desenvolvimento pré- parasitário das espécies deste nematóide (FREITAS, 1982). As L3 foram acondicionadas em seis alíquotas de 100µL com média resultante de 33 larvas/100µL analisadas sob microscopia óptica com objetiva de 10x.

3.3. Avaliação *in vitro* da Ação Desinfetante sobre Larvas de *Ancylostoma* spp.

As larvas foram acondicionadas em um frasco do tipo Erlenmeyer e então, suspensas em água destilada. Foi realizada a contagem das larvas na suspensão segundo Oshima (1961). Posteriormente, 36 alíquotas de três mL contendo aproximadamente 980 larvas foram separadas e colocadas em tubos de Falcon de 12 mL e centrifugados por três minutos a 1500 rpm. Em seguida, o sobrenadante foi desprezado e as amostras foram divididas em seis grupos com seis repetições cada.

As amostras foram re-suspensas com os respectivos tratamentos até completarem dois mL de solução. O primeiro grupo foi re-suspensado em água destilada

representando o grupo controle. O segundo foi submetido ao tratamento com quaternário de amônia, sendo uma solução desinfetante comercial à base de cloreto de benzalcônio 15%¹, na diluição de 1:500 indicada pelo fabricante. O terceiro grupo foi re-suspenso em álcool 70°GL diluído com água destilada com auxílio de um alcoômetro, a partir de um produto de marca comercial². O quarto grupo foi submetido ao tratamento com hipoclorito de sódio 2- 2,5%³. O quinto grupo foi re-suspenso com desinfetante comercial à base de formaldeído⁴, na diluição recomendada pelo fabricante (7,99%) para desinfecção em geral e sexto e último grupo foi submetido ao tratamento com cloreto de benzalcônio 30%⁵.

As amostras foram expostas aos devidos tratamentos por uma hora e em seguida centrifugadas por três minutos a 1500 rpm, sendo o sobrenadante desprezado. Os tubos foram completados com água destilada e novamente centrifugados repetindo esta operação por três vezes com o intuito de retirar completamente os desinfetantes utilizados. Ao final, os tubos contendo as larvas tratadas foram preenchidos com água destilada até completarem dois mililitros da solução o seguindo TAVARES (2011). Todo material foi identificado e mantido em estufa climatizada com demanda bioquímica de oxigênio, com temperatura de $27 \pm 1^\circ \text{C}$ e umidade relativa do ar de $75 \pm 10\%$. Os tubos foram vedados com algodão hidrofóbico e homogeneizados periodicamente para garantir a oxigenação necessária para a viabilidade das larvas.

Todas as amostras foram avaliadas quanto à motilidade da larva nos dias 0 (uma hora e seis horas, após o tratamento) e +1(24h após o tratamento). As frações de cada uma das amostras avaliadas foram alíquotas de 25µL coletadas com micropipetas de precisão, colocadas entre lâmina e lamínula de 24 x 36 mm e avaliadas sob microscopia óptica. A mortalidade das larvas foi baseada na motilidade (VEROCAI et al., 2010, TAVARES, 2011).

¹Herbalvet® - Ouro Fino Saúde Animal

²Pring®

³Super globo® – Água sanitária

⁴Lysoform®

⁵CB-30®

3.4. Avaliação *in vitro* de Hipoclorito de Sódio em diferentes concentrações sobre as larvas infectantes de *Ancylostoma* spp.

Utilizou-se a mesma metodologia do item 3.3 para preparo de soluções, e média aproximada de 950 larvas em 30 alíquotas de três mililitros para formar cinco grupos com seis repetições cada.

As amostras foram re-suspensas com os respectivos tratamentos até completarem dois mililitros de solução. O primeiro grupo foi re-suspense em água destilada representando o grupo controle. O segundo foi submetido ao tratamento com hipoclorito de sódio na concentração original 2,5%, em 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%.

As amostras foram avaliadas quanto à motilidade da larva no total de uma hora com finalidade de verificar em que momento ocorre a mortalidade de 100% da amostra. As avaliações ocorreram 10 minutos, 30 minutos e uma hora após o tratamento. As frações de cada uma das amostras foram avaliadas em alíquotas de 25µL coletadas com micropipetas de precisão, colocadas entre lâmina e lamínula de 24 x 36mm e avaliadas sob microscopia óptica. A mortalidade das larvas foi baseada na observação realizada por Verocai et al.(2010) e Tavares (2011).

3.5. Análise dos Dados

Todos os dados foram analisados utilizando o Teste de Comparação de Proporções Múltiplas segundo Zar (1999).

4. RESULTADOS

4.1. Obtenção de Larva L3 de *Ancylostoma* spp.

Para obtenção de larvas L3 de *Ancylostoma* spp. foram coletadas várias amostras de cães da raça Beagle, alojados em canis individuais. Houve dificuldade em encontrar animais positivos com alta carga parasitária, provavelmente porque estes animais eram adultos e vivem confinados individualmente.

Com utilização da técnica de Gordon e Whitlock (1939, modificada) foi obtido o valor médio de ovos por grama de fezes de 625. A utilização dessa técnica proporcionou selecionar os cães que possuíam o maior valor por ovos por grama de fezes, obtendo um maior número de larvas após a realização da coprocultura. No final da realização de várias coproculturas foram obtidas 65.333 larvas em 200 ml de água.

4.2. Ação de Desinfetantes sobre Larvas de terceiro estágio de *Ancylostoma* spp.

O número e o percentual médio de larvas L3 vivas nos grupos de álcool 70°GL e hipoclorito de sódio 2- 2,5% foram nulos em todas as avaliações. Certamente o álcool 70°GL e o hipoclorito de sódio alteram a integridade da cutícula fina da larva de *Ancylostoma* spp. favorecendo a ação do desinfetante e ocasionando a mortalidade. No tempo de uma hora estes dois grupos diferiram significativamente dos demais. Na avaliação de seis e de 24 horas os grupos de álcool 70°GL, hipoclorito de sódio 2- 2,5% e formaldeído 7,99% não diferiram significativamente entre si, mas diferiram dos tratamentos com cloreto de benzalcônio 15 e 30%. Estes resultados podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1. Número médio com desvio padrão e percentual médio de larvas L₃ vivas de *Ancylostoma* spp. submetidos aos tratamentos com cloreto de benzalcônio 15%, álcool 70°GL, hipoclorito de sódio 2- 2,5% e formaldeído 7,99% e cloreto de benzalcônio 15% durante as avaliações.

Grupos	Horas após o desafio		
	1 hora	6 horas	24 horas
Controle			
Média	27,66	37,5	36
Desvio padrão	12,84	13,50	8,22
%	65,31 ^a	71,32 ^a	74,82 ^a
Nº de repetições	6	6	6
Proporção média	0,53	0,71	0,74
Álcool 70°GL			
Média	0	0	0
Desvio padrão	0	0	0
%	0 ^b	0 ^b	0 ^b
Nº de repetições	6	6	6
Proporção média	0	0	0
Hipoclorito de sódio 2- 2,5%			
Média	0	0	0
Desvio padrão	0	0	0
%	0 ^b	0 ^b	0 ^b
Nº de repetições	6	6	6
Proporção média	0	0	0
Formaldeído 7,99%			
Média	11	1	0
Desvio padrão	5,32	0,89	0
%	55,43 ^a	2,64 ^b	0 ^b
Nº de repetições	6	6	6
Proporção média	0,55	0,02	0
Cloreto de benzalcônio 15%			
Media	24,83	23,16	28,16
Desvio padrão	11,92	14,74	6,96
%	78,58 ^a	66,73 ^a	55,31 ^a
Nº de repetições	6	6	6
Proporção média	0,88	0,66	0,55
Cloreto de benzalcônio 30%			
Média	38	34,5	44,83
Desvio padrão	11,52	10,83	5,81
%	78,99 ^a	80,72 ^a	81,13 ^a
Nº de repetições	6	6	6
Proporção média	0,78	0,80	0,80

Colunas com letras diferentes diferem significativamente entre si (p>0,05).

No entanto, concentração de hipoclorito de sódio na concentração de 2-2,5% e o álcool 70°GL obtiveram o valor da amplitude total em todas as avaliações foi nulo, significando que não houve variabilidade (Tabela 2).

Tabela 2. Amplitude de larvas L₃ vivas de *Ancylostoma* spp. submetidos aos tratamentos com cloreto de benzalcônio 15%, álcool 70°GL, hipoclorito de sódio 2- 2,5% e formaldeído 7,99% e cloreto de benzalcônio 15% durante as avaliações.

Grupos	Horas após o desafio		
	1 hora	6 horas	24 horas
Controle			
Amplitude Máxima – Mínima	42-8	63-25	48-27
Amplitude Total	34	38	21
Álcool 70°GL			
Amplitude Máxima – Mínima	0-0	0-0	0-0
Amplitude Total	0	0	0
Hipoclorito de sódio 2- 2,5%			
Amplitude Máxima – Mínima	0-0	0-0	0-0
Amplitude Total	0	0	0
Formaldeído 7,99%			
Amplitude Máxima – Mínima	20-7	2-0	0-0
Amplitude Total	13	2	0
Cloreto de benzalcônio 15%			
Amplitude Máxima – Mínima	46-14	44-14	56-39
Amplitude Total	32	30	17
Cloreto de benzalcônio 30%			
Amplitude Máxima – Mínima	46-14	43-8	41-22
Amplitude Total	32	35	19

Em relação ao número de larvas mortas, os grupos nas concentrações de cloreto de benzalcônio 15% e 30% não diferiram do grupo controle e os tratados em nenhum dos tempos de avaliação. O percentual médio do cloreto de benzalcônio 30% não diferiu significativamente entre tempos de avaliação de uma hora, seis horas e 24 horas do mesmo, evidenciando que não ocorreu ação desse desinfetante, não interferindo na viabilidade da larva de L3 de *Ancylostoma* spp.

O Álcool 70°GL inviabilizou as larvas, estando todas sem motilidade na visualização da amostra. Enquanto que o hipoclorito de sódio 2-2,5% houve uma total degeneração da cutícula da larva da L3 de *Ancylostoma* spp, tendo por fim o desaparecimento das mesmas na amostra.

4.3. Ação do Hipoclorito de Sódio em diferentes concentrações sobre Larvas infectantes *Ancylostoma* spp.

Na Tabela 3, no tempo de 10 minutos, houve diferença significativa nos tratamentos com hipoclorito de sódio 2-2,25 % e 1,25 % em relação aos demais grupos. O hipoclorito de sódio 2-2,5% eliminou as larvas em todas as repetições avaliadas neste tempo não ocorrendo avaliações nos tempos de 30 minutos e uma hora. No tempo de 30 minutos e uma hora os tratamentos com hipoclorito de sódio nas concentrações 2-2,5, 1,25 e 0,625% apresentaram diferença significativa em relação ao grupo controle e à concentração de 0,312%. No tempo de uma hora, todos os tratamentos, exceto com hipoclorito de sódio 0,312% eliminaram todas as larvas.

Notou-se que o hipoclorito de sódio na concentração original foi um desinfetante altamente eficaz na eliminação de larvas de terceiro estágio de *Ancylostomaspp*. imediatamente após o tratamento, enquanto no tempo de 30 minutos esta eficácia foi observada na concentração de 1,25%. E, finalmente, no tempo de uma hora houve a total eliminação de larvas vivas na concentração de 0,625%. O tratamento com hipoclorito de sódio na concentração de 0,312% não apresentou um percentual de mortalidade de larvas satisfatório em nenhum dos tempos avaliados.

A amplitude total de larvas vivas de hipoclorito de sódio na concentração de 0,312% obteve o valor numérico elevado de larvas vivas em todas as avaliações, evidenciando que o tempo de ação nessa concentração não influenciou para o produto torna-se eficaz (Tabela 4).

Tabela 3. Número médio com desvio padrão e percentual médio de larvas L₃ vivas de *Ancylostoma* spp. submetidos aos tratamentos com hipoclorito de sódio 2-2,5%, hipoclorito de sódio 1,25%, hipoclorito de sódio 0,625 % e hipoclorito de sódio 0,312 % durante as avaliações.

Grupos	Minutos após o desafio		
	10 min	30 min	60min
Controle			
Média	9,83	11,16	12,16
Desvio padrão	4,21	4,21	5,03
%	83,80 ^a	95,14 ^a	96,94 ^a
Nº de repetições	6	6	6
Proporção média	0,83	0,95	0,96
Hipoclorito de sódio 2- 2,5%			
Média	0	0	0
Desvio padrão	0	0	0
%	0 ^b	0 ^b	0 ^b
Nº de repetições	6	6	6
Proporção média	0	0	0
Hipoclorito de sódio 1,25%			
Média	2,166	0	0
Desvio padrão	2,48	0	0
%	16,09 ^b	0 ^b	0 ^b
Nº de repetições	6	6	6
Proporção média	0,16	0	0
Hipoclorito de sódio 0, 625%			
Média	15,66	1,66	0
Desvio padrão	12,67	1,03	0
%	87,85 ^a	19,03 ^b	0 ^b
Nº de repetições	6	6	6
Proporção média	0,87	0,19	0
Hipoclorito de sódio 0, 312%			
Média	9	10,16	9
Desvio padrão	5,21	3,43	6,26
%	76,12 ^a	87,92 ^a	76,12 ^a
Nº de repetições	6	6	6
Proporção média	0,76	0,87	0,76

Colunas com letras diferentes diferem significativamente entre si (p>0,05).

Tabela 4. Amplitude de larvas L₃ vivas de *Ancylostoma* spp. submetidos aos tratamentos com hipoclorito de sódio 2-2,5%, hipoclorito de sódio 1,25%, hipoclorito de sódio 0,625% e hipoclorito de sódio 0,312 % durante as avaliações.

Grupos	Minutos após o desafio		
	10 min	30 min	60min
Controle			
Amplitude Máxima – Mínima	16-4	16-5	20-9
Amplitude Total	12	11	11
Hipoclorito de sódio 2-2,5%			
Amplitude Máxima – Mínima	0-0	0-0	0-0
Amplitude Total	0	0	0
Hipoclorito de sódio 1,25%			
Amplitude Máxima – Mínima	13-4	16-1	0-0
Amplitude Total	9	15	0
Hipoclorito de sódio 0, 625%			
Amplitude Máxima – Mínima	38-2	3-0	0-0
Amplitude Total	36	3	0
Hipoclorito de sódio 0, 312%			
Amplitude Máxima – Mínima	17-2	16-6	18-2
Amplitude Total	15	10	16

5. DISCUSSÃO

O desinfetante cloreto de benzalcônio nas concentrações de 15% e 30% não apresentaram diferença estatística significativa na mortalidade de larva L3 de *Ancylostoma* spp. em nenhuma das avaliações (Tabela 1). Essas larvas podem ainda ser uma ameaça para a saúde humana e animal, mesmo após a exposição à essas concentrações do desinfetante. Balassiano (2007) em estudos relacionando a fatores associados à infecção natural de cães por parasitos gastrintestinais, observou que mesmo com higienização ambiental adequada, 43,8% dos cães estavam infectados com endoparasitose, podendo ser explicado, na medida que alguns parasitas podem permanecer incistados na musculatura pelo menos 240 dias, no caso de *A. caninum*. Outra possibilidade é que o desinfetante não foi adequado para inativação dos ovos de helmintos, já que ovos e larvas infectantes podem resistir à ação de alguns desinfetantes e permanecerem no ambiente por anos, confirmando o fato de que alguns desinfetantes utilizados comumente não são eficazes na eliminação de larvas infectantes de *Ancylostoma* spp.

No presente estudo, na concentração de hipoclorito de sódio 2-2,5% em 10 minutos de avaliação, ocorreu uma letalidade de 100% das L3 de *Ancylostoma* spp. e repetiu-se ao mesmo resultado na concentração de 1,25% de hipoclorito de sódio em 30 minutos após o desafio, e no tempo de uma hora na concentração de 0,625%. Foi utilizado mesmo tempo de exposição ao tratamento que Tavares (2011) e constatou que 21 dias após a incubação de ovos de *Toxocara cati*, expostos por 60 minutos ao hipoclorito de sódio 2-2,5%, apenas 6,08% dos ovos apresentaram-se degenerados. Essa diferença em relação ao estudo de Tavares (2011) provavelmente se deve ao fato da cutícula que envolve as larvas de *Ancylostoma* spp. ser mais sensível à ação do desinfetante que a membrana do ovo de *T. cati*. Demonstrando que, ao contrário dos resultados de Tavares (2011), o hipoclorito de sódio 2-2,5% é eficaz no controle ambiental de larvas de *Ancylostoma* spp.

Outro aspecto relevante, a eficácia hipoclorito de sódio 2-2,5% plena e rápida pode ser justificada pela ação larvicida dos sais inorgânicos de amônio. As camadas cuticulares das larvas aparentemente têm as propriedades uma membrana semipermeável. Isto se define diferenças na pressão osmótica e consequente desintegração do estroma interior do organismo (EARL et al, 1952).

Morrondo et al. (2006) e Verocai et al. (2010) utilizando os mesmos desinfetantes, constataram que o álcool 70°GL foi 100% e 97,2% é eficaz na inibição da embriogênese dos ovos de *T. canis*, respectivamente. O presente estudo corrobora com os resultados supracitados evidenciando mortalidade de 100% das larvas de L3 de *Ancylostoma* spp. em todas as avaliações de álcool 70°GL, confirmando que este desinfetante possui grande eficácia no controle das formas infectantes tanto de *T. canis* como *Ancylostoma* spp. Este resultado pode estar relacionado à alta resistência dos ovos de *T. canis* devido à espessa casca dos mesmos e à cutícula das larvas de *Ancylostoma* spp. serem mais delgadas e naturalmente menos resistentes.

No presente estudo o formaldeído 7,99% e o hipoclorito de sódio a 0,625% obtiveram total letalidade após uma hora do desafio, tendo um resultado contrário observado por Massara et al (2003), sendo insatisfatório na inibição do desenvolvimento embrionário nos ovos de *Ascaris lumbricoides* na utilização de soluto de formaldeído. Além do mais, Shorb (1937) e Levine (1969) observaram que as larvas nematóides infectantes são mais resistentes a produtos químicos do que as larvas nematóides de vida livre, sendo evidenciado em teste realizado com ácido clorídrico 1-3%, e 1,2-dibromo-3-cloropropano. Sendo ineficazes em larvas infectantes. Provavelmente o tempo de desafio dos tratamentos os estudos supracitados foi inferior realizado nesse estudo.

A amplitude total de larvas vivas de *Ancylostoma* spp. sobre o tratamento de Cloreto de benzalcônio 15 e 30% tiveram um valor aproximado em todos os tempos de avaliação (Tabela 2) contrariando Earl et al (1952) que quanto maior for o número de larvas a ser testada até uma determinada ação do composto, a mais lenta e a ação larvicida.

Ayçiçek (2000) utilizando cloreto de benzalcônio 10% e álcool 70GL não observou eficácia contra ovos embrionados de *T. canis* mesmo expondo estes helmintos por mais de 24 horas à estes desinfetantes. Estes resultados corroboram em parte ao presente estudo que não obteve eficácia com cloreto de benzalcônico mesmo utilizando concentrações superiores (15 e 30%) confirmando a ineficácia ovicida e larvicida tanto de *T. canis* e *Ancylostoma* spp. para este desinfetantes.

No presente estudo todas as amostras utilizadas durante o experimento foram mantidas a uma temperatura constante de $27 \pm 1^\circ\text{C}$, sendo considerada uma temperatura ideal para a viabilidade de larvas infectante de *Ancylostoma* spp., desse modo o único fator influenciou o resultado do experimento foi a ação do tratamento a cada desafio. Já

Trim (1949) verificou que a temperatura influenciou a ação *in vitro* do antihelmíntico que foi constatado ao utilizar hexilresorcinol em larvas de *Ascaris lumbricóide*. Foi relatado que em 20 minutos todas as larvas foram eliminadas, a 20°C e cerca de dois minutos a 37°C.

Trim (1949) verificou que a ação do anti-helmíntico exercer sua ação pela penetração da cutícula da larva de *Ascaris lumbricoides*. A taxa de penetração é mais ou menos proporcional à concentração do fármaco. Corroborando com presente estudo que a letalidade da larva foi eficaz em curto período de tempo nas concentrações mais elevadas de hipoclorito de sódio

No presente estudo, os desinfetantes utilizados não há toxicidade, segundo o fabricante. Hoerlein (1950) apesar ter obtido um resultado de eficácia de 100% ao utilizar no solo brometo de metila aplicando por debaixo de uma cobertura a prova de gás por 72h que estava altamente contaminado com larvas de *Ancylostoma* spp., torna-se perigoso para o operador devido à possibilidade de intoxicação.

Estes resultados mostram, também, a necessidade de se reavaliarem os procedimentos de descontaminação de ambientes quando se tem por objetivo prevenir a infecção por larva L3 de *Ancylostoma* spp.

6. CONCLUSÃO

O hipoclorito de sódio e álcool 70^oGL, com exceção da concentração de hipoclorito de sódio 0,312 %, são desinfetantes eficazes no procedimento de descontaminação de ambiente quando tem por objetivo prevenir a infecção de cães e humanos por larva L3 de *Ancylostoma* spp.

7. REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles al hombre y a los animales 2 nd Washington: Organización Mundial de la Salud, 1986. 989 p.

ACKERT, J.E.; LIGENZOWSKI, F.I. Lethal effects of acetic acid on larvae of *Ancylostoma caninum* in fecal- soil cultures. *Journal of Parasitology*. v.35, n.6, p.11 , 1949.

ANDREWS, J. S., TAYLOR, A. L.; SWANSON, L. E. Fumigation of soil with methyl bromide as a means of destroying infective stages and intermediate hosts of some internal parasites of mammals. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington, Helminthological Society of Washington*, v. 10, p.4-6, 1943.

ANTUNES, M.R. Zoonoses parasitárias. *Revista Brasileira de Medicina*. v.58, n.9, p.661-662, 2001.

FERREIRA, L.F; ARAÚJO, A. Origem dos ancilostomídeos parasitos do homem. In., Confalonieri U (eds) *Paleoparasitologia no Brasil*. PEC/ENSP, Rio de Janeiro, 1988.

ARAÚJO, F. B.; CROCCI, A. J.; RODRIGUES, R. G. C.; AVALHAES, J. S.; MIYOSHI, M. I.; SALGADO, F. P. S.; SILVA, M. A.; PEREIRA, M. L. Contaminação de praças públicas de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, por ovos de *Toxocara* e *Ancylostoma* em fezes de cães. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.32, n.5, p.581-583, 1999.

ARBOS, K. A; FREITAS, R.J.S, STERTZ, S.C., CARVALHO, S.C.L.A. Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. *Ciências Tecnologia Alimentar*, v. 30, n.1, p. 215-220, 2010.

AYÇIÇEK, H.; YARSAN, E.; SARIMEHMETOGLU, H. O.; TANYÜKSEL, M.; GIRGINKARDESLER, N.; ÖZYURT, M. Efficacy of Some Disinfectants on Embryonated Eggs of *Toxocara canis*. *Turkish Journal of Medical Science*, v.31, n.1, p.35-39, 2001.

BALASSIANO, B. C. C. Fatores associados à infecção natural de cães por parasitos gastrintestinais, 2007, 61p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias, Sanidade Animal). Instituto de Veterinária Departamento de Parasitologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

BURROWS, R. B. Comparative morphology of *Ancylostoma tubaeforme* (ZEDER, 1800) and *Ancylostoma caninum* (ERCOLANI, 1859). *Journal of Parasitology*. v. 48, n. 5, p. 715-718, 1962.

CHOWDHURY, A. B., RAY, H. N., BHADURI, N. V. Polysaccharides in the hookworm larvae. *Bulletin of the Calcutta School. Tropical Medicine*. v. 6, p.59, 1958.

CLAPHAM, P. A. Hexyresorcinol as a general vermicide. *Journal Helminthology*. p.10-195, 1932.

CLARK, F.E. *Ancylostoma caninum*: Food Reserves and Changes in Chemical Composition with Age in Third Stage Larvae. *Experimental Parasitology*. v.24, p.1-8,1969.

CORT, W. W., ACKERT, J. E., AUGUSTINE, D. L., AND PAYNE, F. K. Investigations on the control of hookworm disease. II. The description of an apparatus for isolating infective hookworm larvae from soil. *American Journal of Hygiene*. v. 2, p.1-16, 1922.

DONALD, L; AUGUSTINE, B.S. Investigations on the control of hookworm disease. VIII. *American Journal of Higiene*.v. 2, n.2, p.162-171, 1922.

EARL, B.; RITCHIE, E.B; M.D.; WILLIAM C.; KING, M.D. Observations On The Reactions Of The Larvae Of *Ancylostoma canium* and *Ancylostoma braziliense* to various drugs and chemical compounds based on in vitro tests. *The Journal of Investigative Dermatology*. p.337-341,1952.

FALAVIGNA, L. M.; FREITAS, C. B. R.; MELO, G. C.; NISHI, L.; ARAÚJO, S. M.; GUILHERME, A. L. F. Qualidade de hortaliças comercializadas no noroeste do Paraná, Brasil. *Parasitología latinoamericana*, Santiago, v. 60, p. 144-149, 2005.

FERNANDO, M. A. Metabolism of hookworms.I. Observations on the oxidative metabolism of free-living third stage larvae of *Necator americanus*. *Experimental Parasitology*. v.13, p.97-107, 1963.

FORTES, E. *Parasitologia Veterinária* - 4ed. – São Paulo: Ed., Ícone, 2004, 274 – 278p.

FREITAS, M.G. *Helminologia veterinária*. 6Ed. Belo Horizonte: Precisa Editora Gráfica Ltda,1982, 396p.

GORDON, H.M.C.L.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Journal of Commonwealth Science Industry Organization*, v.12, n. 1, p. 50-52, 1939.

GUIMARÃES, A.M; ALVES, E.G.L.; REZENDE, G.F.; RODRIGUES, M.C. Ovos de *Toxocara* spp. e larvas de *Ancylostoma* spp. em praças pública de larvas, MG. *Revista Saúde Pública*.v.39, n.2, 2005.

HOERLEIN, B. F. The evaluation of various chemical agents in the treatment of soil infected with larvae of the dog Hookworm (*Ancylostoma caninum*). *North American Veterinarian*. v.31, p.253- 262, 1950.

HEUKELBA, C. H. J.; HEUKELBA, C.H. F.; OLIVEIRA, F.A.Z. Ectoparasitoses e saúde pública no Brasil: desafios para controle. *Caderno de Saúde Pública*, v. 19, n.5, 2003.

HOFF, N.P; MOTA, R.; GROFF, I. K. A.; HENG, G.E. Cutaneous larva migrans. *Hautarzt*. v.59, p. 622-6, 2008.

JACKSON, F., MILLER, J. Alternative approaches to control—quo vadit?. *Veterinary of parasitology*. v.139, p.371–384, 2006.

KAMIYA, M.; OOI, H. K.; NOMURA, T. The effect of radiation on the viability and migratory ability of second-stage larvae of *Toxocara canis* in mice. *Veterinary of Parasitology*, v.24, n.1, p.87-92, 1987.

KATAGIRI, S.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G. Zoonoses causadas por parasitas intestinais de cães e o problema do diagnóstico. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.74, n.2, p.175-184, 2007.

LAMSON, P. D., WARD, H. W.: Methods of testing the anthelmintic properties of ascaricides. *American Journal of Hygiene*. v. 23, p. 85, 1936.

LEVINE, N.D. Weather, climate, and the bionomics of ruminant nematode larvae. *Advances in veterinary science.*, v.8, p.215-261, 1967.

LEVINE, N.D. Chemical Control of Soil Stages of Animal-Parasitic Nematodes. *Transactions of the American Microscopical Society*, v. 88, N. 1, p.135-141, 1969.

LITTLE, M. D.; HALSEY, A. N.; CLINE, L. B.; KATZ, P. S. *Ancylostoma* larva in muscle fiber of man following cutaneous larva migrans. *American Journal of Medical and Hygiene*. v. 32, n. 4, p. 1285-1288, 1983.

MACIEL, A.S; FREITAS, L.G.; CAMPOS, A.K.; LOPES, E.A.; ARAÚJO, J.V. The biological control of *Ancylostoma* spp. dog infective larvae by *Duddingtonia flagrans* in a soil microcosm. *Veterinary of Parasitology*, v. 173,p 262–270, 2010.

MASSARA, C. L.; FERREIRA, R. S.; GUERRA, H. L.; CARVALHO, O. S. In vitro study on Thiabendazole action on viability of *Ascaris lumbricoides* eggs. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v. 34,p.319-322, 2001.

MASSARA, C.L.; FERREIRA, R.S.; ANDRADE, L.D.; GUERRA, H.L.; CARVALHO, O. S. Atividade de detergentes e desinfetantes sobre a evolução dos ovos de *Ascaris lumbricóide*. Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro. v. 19,n.1,p.335-340, 2003.

MCNICHOLAS, J.; GILBEY, A.; RENNIE, A.; AHMEDZAI, S.; DONO, J.A.; ORMEROD, E. Pet ownership and human health: a brief review of evidence and issues. British Medical Journal, v. 331, n. 6, p. 1252-1254, 2005.

MORGAN, B. B.; HAWKINS, P. A. Veterinary Helminthology. Burgess, Minneapolis, cap.IX, 1949, p.400.

MORRONGO, P.; DÍEZ-MORRONGO, C.; PEDREIRA, J.; DÍEZ-BAÑOS, N.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; PAZ-SILVA, A.; DÍEZ-BAÑOS, P. *Toxocara canis* larvae viability after disinfectant-exposition. Parasitology Research, v.99, p.558-561, 2006.

MUELLER, G. Untersuchungen ueber die Lebensdauer von Askarideneiern in Gartenerde. Zentralblatt Fuer Bakteriologie, Parasitenkand, Infektionskrankheiten I Originale, v.159, p. 377-379, 1953.

NANSEN, P.; GRÆNVOLD, J.; HENRIKSEN, S.A.; WOLSTRUP, J. Interactions between the predacious fungus *Arthrobotrys oligospora* and third-stage larvae of a series of animal-parasitic nematodes. Veterinary of Parasitology, v.26, p.329- 37, 1988.

NEVES, J. Diagnóstico e tratamento das doenças infectuosas e parasitárias. Ed. Guanabara Koogan S.A. 2ª Ed., 1983, 1248 p.

NICOLL, W.M. Observations on the influence of salt and other agents in modifying the larval development of the Hookworms, *Ancylostoma duodenale* and *Necator americanus*. Parasitology, Cambridge (England), cap.IX, 1917, p.157-189.

SAEKI, H.; MASU, H.; YOKOI, H.; YAMAMOTO, M. Long-term survey on intestinal nematode and cestode infections in stray puppies in IBARAKI Prefecture. Journal of Veterinary Medicine Science. v.59, n.8, p.725-726, 1997.

SILVA, N. R.; BROOKER, S.; HOTEZ, P. J.; MONTRESOR, A.; ENGELS, D.; SAVIOLI, L. Soil-transmitted helminth infections: updating the global picture. *Trends Parasitology*. v. 19, n.12, p. 547-551, 2003.

SHORB, D. A. A method of separating infective larvae of *Haemonchus contortus* (Trichostrongylidae) from free-living nematodes. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington, Helminthological Society of Washington*, v.4, p. 52, 1937.

SOULSBY, E. J. L. *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. 7ed., México: Interamericana, 1987. 823p. SOWEMIMO, O.A; ASSALU, S.O. The daily egg production of *Ancylostoma caninum* and the distribution of the worm along the digestive tract of the dog. *Research Journal Parasitology*. V.3,n.3, p.92-97, 2008.

SWANSON, L. E.; TAYLOR, A. L. Control of cattle-parasitic and free-living nematodes by soil fumigation with methyl bromide. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington, Helminthological Society of Washington*, v.10, p.1-3, 1943.

PASSEY, R. F.; FAIRBAIRN, D. The conversion of fat to carbohydrate during embryonation of *Ascaris* eggs. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. v.35, p.511-525, 1957.

PAULINO, R.C; CASTRO, E.A; THOMAZ-SOCCOL, V. Tratamento anaeróbico de esgoto e sua eficiência na redução da viabilidade de ovos de helmintos. *Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v. 34: p.421-428, 2001.

PROCIV, P.; COLLYER, R.L.I.M; Brisbane, K. dogs as a reservoir of zoonotic hookworms. *Medical Journal of Australia*. v. 161, n. 1, p.172- 173, 1994.

PELLON, A.B., TEIXEIRA, I. O inquérito helmintológico escolar em cinco Estados das Regiões: Leste, Sul e Centro Oeste. *Divisão de Organização Sanitária, Curitiba*, 1953.

O'LORCAIN, P. The effect of freezing on the viability of *Toxocara canis* and *Toxocara cati* embryonated eggs. *Journal of Helminthology*. v.69, p.169-171, 1995.

OOI, H. K.; LIN, C. L.; WANG, J. S. Effect of ozone treatment on *Toxocara canis* eggs. *Journal of Veterinary Medical Science*, v.60, p.169-173, 1998

OSHIMA, T. Standarization 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.

TAVARES, P. V. Ação de diferentes desinfetantes na viabilidade e desenvolvimento de ovos e na migração larvar de *Toxocara cati* (SCHRANK, 1788) em camundongos. 2011. 38p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

TRAUB, R.J.; ROBERTSON, I.D.; IRWIN, P.J.; MENCKE, N.; THOMPSON, R.C.A. Canine gastrointestinal parasitic zoonoses in India. *Trends in Parasitology*, v.21, n.1, p.42- 48, 2005.

TRIM, A. R. The kinetics of the penetration of some representative anthelmintics and related compounds into *ascaris lumbricoides* Var Suis. *Parasitology*, v.39, p.281, 1949.

URQUHART, M., ARMOUR, J., DUNCAN, J. L., et al. *Parasitologia Veterinária*. Riode Janeiro. Ed. Guanabara, 1998. 119-120p.

REY, L. *Parasitologia*. Ed. Guanabara, Rio de Janeiro, 1991.

REY, L. *Parasitologia*. 4ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2008. 883 p.

VAN KNAPEN, F.; FRANCHIMONT, J. H. Steam sterilisation of sandpits infected with *Toxocara* eggs. *British Medical Journal*, v.1, p.1320, 1979.

VEROCAI, G.G.; TAVARES, P.V.; RIBEIRO, F. A.; CORREIA, T. R.; SCOTT, F. B. Effects of disinfectants on *Toxocara canis* embryogenesis and larval establishment in mice tissues. *Zoonoses and Public Health*, v.57, n.1, p. 213-216, 2010.

WALKER, N.I. Eosinophilic enteritis in northeastern Australia Pathology, association with *Ancylostoma caninum* and implications, *The American Journal of Surgical Pathology*. v. 19, n. 3, p. 328–337, 1995.

WILSON, P. A. G. Changes in lipid and nitrogen content of *Nippostrongylus brasiliensis* infective larvae aged at constant temperature. *Experimental Parasitology*. v. 16, p.190-194, 1965.

ZANINI, G. M.; GRAEFF-TEIXEIRA, C., 1995 Angiostrogilíase abdominal: profilaxia pela destruição das larvas infectantes em alimentos tratados com sal, vinagre ou Hipoclorito de sódio. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.28, p.389-392, 1995.

ZAR, J.H. *Biostatistical Analysis*. 4a ed, Prentice Hall, New Jersey, 1999.