

UFRRJ

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

DISSERTAÇÃO

**Avaliação Do Desenvolvimento de Ovos de *Ancylostoma
caninum* e *Trichuris vulpis* Submetidos a Baixas
Temperaturas e Infecção Experimental com
Trichuris vulpis em Cães.**

Vivian Suane de Freitas Vieira

2012



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

**AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE OVOS *DE Ancylostoma
caninum E Trichuris vulpis* SUBMETIDOS A BAIXAS TEMPERATURAS
E INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM *Trichuris vulpis* EM CÃES**

VIVIAN SUANE DE FREITAS VIEIRA

Sob a Orientação da Professora
Dr^a Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues

e Co-orientação do Professor
Dr. Fábio Barbour Scott

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

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2012

636.70896

Vieira, Vivian Suane de Freitas, 1983-

V665a

T

Avaliação do desenvolvimento de ovos de *Ancylostoma caninum* e *Trichuris vulpis* submetidos a baixas temperaturas e infecção experimental com *Trichuris vulpis* em cães/
Vivian Suane de Freitas Vieira. - 2012.

101 f.: Il.

Orientador: Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Inclui bibliografia.


1. Cão - Parasito - Teses. 2. Nematoda - Teses. 3. **Trichuridae** - Teses. 4. *Ancylostoma caninum* - Teses. I. Rodrigues, Maria de Lurdes de Azevedo, 1955-. 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

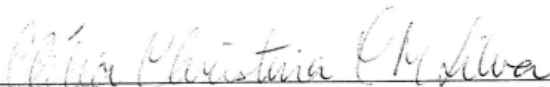
VIVIAN SUANE DE FREITAS VIEIRA

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 Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 29/02/2012.



Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues. Ph.D. UFRRJ
(Orientadora)



Clélia Christina Corrêa de Mello Silva. Dr^a. FIOCRUZ



Hécio Resende Borba. Ph.D. UFRRJ

“Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível, e de repente você estará fazendo o impossível.”

Francisco de Assis

A meu pai, José Eustáquio de Freitas (In memoriam).

Dedico.

É Proibido

*É proibido chorar sem aprender,
Levantar-se um dia sem saber o que fazer
Ter medo de suas lembranças.
É proibido não rir dos problemas
Não lutar pelo que se quer,
Abandonar tudo por medo,
Não transformar sonhos em realidade.
É proibido não demonstrar amor
Fazer com que alguém pague por tuas dívidas e mau-humor.
É proibido deixar os amigos
Não tentar compreender o que viveram juntos
Chamá-los somente quando necessita deles.
É proibido não ser você mesmo diante das pessoas,
Fingir que elas não te importam,
Ser gentil só para que se lembrem de você,
Esquecer aqueles que gostam de você.
É proibido não fazer as coisas por si mesmo,
Não crer em DEUS e fazer seu destino,
Ter medo da vida e de seus compromissos,
Não viver cada dia como se fosse um último suspiro.
É proibido sentir saudades de alguém sem se alegrar,
Esquecer seus olhos, seu sorriso, só porque seus caminhos se
desencontraram,
Esquecer seu passado e pagá-lo com seu presente.
É proibido não tentar compreender as pessoas,
Pensar que as vidas deles valem mais que a sua,
Não saber que cada um tem seu caminho e sua sorte.
É proibido não criar sua história,
Deixar de dar graças a Deus por sua vida,
Não ter um momento para quem necessita de você,
Não compreender que o que a vida te dá, também te tira.
É proibido não buscar a felicidade,
Não viver sua vida com uma atitude positiva,
Não pensar que podemos ser melhores,
Não sentir que sem você este mundo não seria igual.*

Pablo Neruda

AGRADECIMENTOS

A *Deus*, pelo maior dos presentes: a vida! Obrigada por minha saúde que me permite a cada dia ir em busca dos meus sonhos, por estar comigo em todos os momentos e me dar sabedoria para fazer as melhores escolhas para a minha vida.

A minha mãe, *Maria da Conceição de Souza Freitas*, por todo amor e dedicação. Se tento fazer o melhor é por você mãe.

A meu pai, *José Eustáquio de Freitas*, por ter sido e continuar sendo meu exemplo de força e coragem nos momentos difíceis da vida. Obrigada por todos os ensinamentos que tento por em prática sempre.

Ao meu marido e amigo, *Rafael Feydit Vieira*, meu grande incentivador. Saber que posso contar com você me ajuda a superar qualquer dificuldade. Por isso, não importa o que temos na vida, mas sim a quem temos na vida!

A *Prof^a Maria de Lurdes Azevedo Rodrigues*, por ter me aceito em seu laboratório como estagiária e ter me dado essa oportunidade de me tornar sua orientada de mestrado. Agradeço pela orientação, paciência e pelos conselhos que levarei por toda minha vida. A evolução na minha trajetória se deve a sua competência e profissionalismo.

A minha família, ao meu irmão *Vivaldo Freitas*, cunhada *Camila Freitas*, sobrinhas *Vitória e Luíza*, e minhas irmãs *Fabíola, Elaine, tia Neide e tia Zilma*. Obrigada por todo amor. Em especial a minha *Vovó Nady*, não poderia ter tido nessa vida vó mais amorosa e dedicada.

As grandes companheiras de laboratório, *Andrea Saavedra e Karina Godet*, que me acompanharam nessa etapa. No meio de muito trabalho, permitimos o surgimento de uma grande amizade.

Ao amigo *Marcos Sandes Pires*, por toda ajuda na execução prática e sugestões nesse trabalho.

As colegas *Claudia Bezerra e Maristela Peckle*, obrigada pela coleta de sangue. E ao amigo *Fabício Gaudêncio*, pela realização dos hemogramas.

Aos amigos, *Caio Balduino, Fernanda Pestana, Iris Soares, Jaqueline Valim, Juliana Cunha,, Leiziane Araújo, Leonardo Valassari, Luciene Soares e Michele Pinheiro*. Obrigada pela amizade e por todos os momentos inesquecíveis vividos.

As queridas amigas de mestrado *Aldenice Pereira, Aline Falqueto e Isabela Leite*, obrigada pela amizade, força e pelos agradáveis momentos juntas.

A professora *Vivian Nogueira*, pela ajuda dada na necropsia da cadela cinza.

Ao professor *Leonardo Silva*, pelos dados meteorológicos concedidos.

Ao Professor, *José Luís Luque Alejos*, por me incentivar a prosseguir na pesquisa acadêmica.

Aos *animais* envolvidos nesse trabalho, em especial a cadela Cinza, todo meu respeito e gratidão. Não tenho palavras para expressar minha gratidão, sem vocês não seria possível a obtenção dos resultados.

Agradeço ao *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq*, pela concessão da bolsa de pesquisa.

Agradeço a todos os *funcionários do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias*.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente colaboraram para a realização desse trabalho.

BIOGRAFIA

Vivian Suane de Freitas Vieira, filha de José Eustáquio de Freitas e Maria da Conceição de Sousa Freitas, nasceu em 04 de setembro de 1983 na cidade do Rio de Janeiro. Residiu no bairro de Bento Ribeiro, onde concluiu o nível Fundamental na Escola Municipal Conde Afonso Celso em 1997 e nível médio Técnico em Administração de Empresas em 2000 na Escola João Daudt Oliveira - SENAC. Ingressou em 2003 no curso de Zootecnia na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), onde obteve o grau de Bacharel em 2009. Durante o período de graduação foi estagiária em diversos setores do Departamento de Zootecnia e em 2008 ingressou no laboratório de Helminologia Veterinária, sob a orientação da Prof^a Dr^a. Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues. Participou de trabalhos de pesquisa desenvolvidos no laboratório de Helminologia sito à Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz, Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ. Em março de 2010 iniciou o Mestrado no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, na área de concentração em Parasitologia Animal sob a orientação da Professora Dr^a. Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues, sendo bolsista pela CNPq. Durante o período acadêmico registrou-se a participação com envio de trabalhos em congressos e eventos científicos, totalizando 12 publicações em anais de eventos. Nesta data apresenta e defende esta Dissertação como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências. Aprovada para iniciar o Doutorado no CPGCV em 2012.

RESUMO

FREITAS-VIEIRA, Vivian Suane. **Avaliação do Desenvolvimento de Ovos de *Ancylostoma caninum* e *Trichuris vulpis* Submetidos à Baixas Temperaturas e Infecção Experimental Com *Trichuris vulpis* em Cães, 2012.** 101p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

Ancylostoma caninum e *Trichuris vulpis* são nematóides gastrintestinais de cães, possuem ampla distribuição mundial, têm grande importância em Medicina Veterinária. Estudos sobre prevalência mostram que esses nematóides estão presentes em todo o Brasil, em cães domiciliados e errantes. Possuem importância em Saúde Pública, sendo considerados como agentes etiológicos da Síndrome da Larva Migrans Cutânea e Visceral respectivamente. Os cães infectados possuem importante papel na disseminação desses nematóides, principalmente em locais públicos, devido a não remoção das fezes contendo fases de desenvolvimento dos, aumentando a chance de infecção de cães e pessoas, principalmente crianças. O efeito da temperatura sobre o desenvolvimento dos ovos desses geo-helminthos é pouco estudado e pela primeira vez é realizado um estudo para avaliação de ovos após estocagem sob baixas temperaturas. Este trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento de ovos de *A. caninum* e *T. vulpis* mantidos sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C . Fezes estocadas sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ podem ser utilizadas para realização do OPG de *A. caninum* até 10 semanas, grande parte dos ovos permaneceu em fase de gástrula após estoque e a viabilidade de ovos é afetada não ocorrendo desenvolvimento até L₃. Amostras de fezes podem ser utilizadas para avaliação do OPG de *T. vulpis* após estoque a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C por até 12 semanas. Ovos de *T. vulpis* se desenvolvem até ovo larvado após estoque em baixas temperaturas. Doses de 1.000 e 1.500 ovos embrionados de *T. vulpis* geraram infecção em cães e os valores hematológicos permaneciam próximos aos de referência apesar da infecção. Ovos de *T. vulpis* de cães infectados experimentalmente se desenvolveram até ovo larvado após estoque sob baixas temperaturas.

Palavras-chave: *A. caninum*. *T. vulpis*. Cães. Estocagem. Temperatura. Infecção experimental.

ABSTRACT

FREITAS-VIEIRA, Vivian Suane. **Evaluation of the Development of Eggs *Ancylostoma caninum* and *Trichuris vulpis* Subject to Low Temperatures and Experimental Infection in Dogs with *Trichuris vulpis*, 2012.** 101p. Dissertation (Master of Veterinary Science). Veterinary Institute, Department of Veterinary Parasitology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

Ancylostoma caninum and *Trichuris vulpis* are gastrointestinal nematodes of dogs, they have worldwide distribution and are of great importance in veterinary medicine. Prevalence studies show that these nematodes are present in Brazil, domiciled and stray dogs. They have great importance in public health, being considered as etiologic agents of Syndrome Larva Migrans Cutaneous and Visceral, respectively. Dogs infected play an important role in the spread of these nematodes, especially in public places, due to not remove the feces containing phases of development, increasing the chance of infection of dogs and people, mainly children. The effect of temperature on egg development of geo-helminths is rarely studied, it is first carried out a study to assess egg after storage at low temperatures. This study aimed to assess the development of eggs *A. caninum* and *T. vulpis* kept under $\pm 10^{\circ}\text{C}$ and -4°C . Feces stored under $\pm 10^{\circ}\text{C}$ can be used to perform the EPG *A. caninum* up to 10 weeks, most of the eggs remained in stock after gastrula stage, and egg viability is affected not going development to L3. Feces samples can be used to evaluate the OPG *T. vulpis* stock after the $\pm 10^{\circ}\text{C}$ and -4°C for up to 12 weeks. Eggs of *T. vulpis* develop until egg larvae after inventory at low temperatures. Doses of 1,000 and 1,500 embryonated eggs generated *T. vulpis* infection in dogs and haematological indices remained close to the reference in spite of infection. *T. vulpis* eggs experimentally infected dogs developed into larvae after egg inventory at low temperatures

Key words: *A. caninum*. *T. vulpis*. Dogs. Storage. Temperature. Experimental infection.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I:

Tabela 1 - Valores de OPG's semanal de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a -4°C e de fezes recém-coletadas, no período do Outono (25/4 a 20/6)	26
Tabela 2 - Valores de OPG's semanal de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a -4°C , e de fezes recém-coletadas, no período do Inverno (05/7 a 19/9)	27
Tabela 3 - Valores de OPG's semanal de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a -4°C , e de fezes recém-coletadas, no período da Primavera (06/10 à 24//11).....	28
Tabela 4 - Datas de observações das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de <i>A.caninum</i> estocados sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e estimulados a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 30°C no Outono.....	29
Tabela 5 - Datas de observações das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de <i>A.caninum</i> estocados sob -4°C e a estimulados a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 30°C no Outono.	30
Tabela 6 - Datas de observações das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de <i>A.caninum</i> estocados sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a estimulados à $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 30°C no Inverno.....	31
Tabela 7 - Datas de observações das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de <i>A.caninum</i> estocados sob -4°C e a estimulados à $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 30°C no Inverno.....	32
Tabela 8 - Datas de observações das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de <i>A.caninum</i> estocados sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a estimulados à $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 30°C na primavera	33
Tabela 9 - Datas de observações das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de <i>A.caninum</i> estocados sob -4°C e a estimulados à $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 30°C na primavera	34
Tabela 10 -. Recuperação de larvas de terceiro estágio (L_3) de <i>A. caninum</i> de coprocultura de fezes estocadas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C no Outono (25/4 a 20/6).....	35
Tabela 11 - Valor médio de diferentes fases de ovos de <i>A. caninum</i> de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e a 30°C no Outono.....	36
Tabela 12 - Valor médio de diferentes fases de ovos de <i>A. caninum</i> de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e a 30°C no Inverno	37
Tabela 13 - Valor médio de diferentes fases de ovos de <i>A. caninum</i> de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e a 30°C na Primavera.....	38

CAPÍTULO II:

Tabela 1 - Valores de OPG's semanal de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C , e de fezes recém-coletadas, no período do outono	50
Tabela 2 - Valores de OPG's semanal de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C , e de fezes recém-coletadas, no período do Inverno.....	51
Tabela 3 - Valores de OPG's semanal de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C , e de fezes recém-coletadas, no período da Primavera.....	52
Tabela 4 - Datas de observações das fases do desenvolvimento de ovos de <i>T.vulpis</i> recuperados de fezes frescas e mantidos em $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $\pm 25^{\circ}\text{C}$ a partir de 25/05/2010 até a observação de ovos larvados (dados preliminares).....	53
Tabela 5 - Avaliação do desenvolvimento dos ovos de <i>T.vulpis</i> recuperados de fezes frescas e mantidos em $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $\pm 25^{\circ}\text{C}$ a partir de 07/09/2010 até a observação de ovos larvados (dados preliminares).....	54
Tabela 6 - Avaliação do desenvolvimento dos ovos de <i>T. vulpis</i> recuperados de fezes frescas mantidos em $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $\pm 25^{\circ}\text{C}$ a partir de 30/01/2011 até a observação de ovos larvados (dados preliminares).....	54
Tabela 7 - Quantidade de ovos larvados inoculados em cães infectados por <i>T.vulpis</i> e resultado do OPG individual semanal de cães.....	63
Tabela 8 - Valor médio de diferentes fases de ovos de <i>A. caninum</i> de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ no Outono.....	70
Tabela 9 - Valor médio de diferentes fases de ovos de <i>A. caninum</i> de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a 30°C no Outono.....	71
Tabela 10 - Valor médio de diferentes fases de ovos de <i>A. caninum</i> de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ no Inverno.....	72
Tabela 11 - Valor médio de diferentes fases de ovos de <i>A. caninum</i> de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a 30°C no Inverno.....	73
Tabela 12 - Valor médio de diferentes fases de ovos de <i>A. caninum</i> de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ na Primavera.....	74
Tabela 13 - Valor médio de diferentes fases de ovos de <i>A. caninum</i> de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a 30°C na Primavera.....	75
Tabela 14 - Valor médio de diferentes fases de ovos de <i>A. caninum</i> de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a $25\pm^{\circ}\text{C}$ na Primavera (Monoinfecção).....	76
Tabela 15 - Valor médio de diferentes fases de ovos de <i>A. caninum</i> de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a 30°C na Primavera (Monoinfecção).....	77

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

Figura 1- Influência do tempo de estocagem à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e estímulo a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T.vulpis</i> , no período de sete a 63 dias no Outono	55
Figura 2- Influência do tempo de estocagem à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e estímulo a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T.vulpis</i> , no período de sete a 63 dias no Outono.....	56
Figura 3- Influência do tempo de estocagem à temperatura de $- 4^{\circ}\text{C}$ e estímulo a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T.vulpis</i> , no período de sete a 63 dias no Outono.....	56
Figura 4- Influência do tempo de estocagem à temperatura de $- 4^{\circ}\text{C}$ e estímulo a 30°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T.vulpis</i> , no período de sete a 63 dias no Outono.....	57
Figura 5- Influência do tempo de estocagem à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e estímulo a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T.vulpis</i> , no período de sete a 84 dias no Inverno	58
Figura 6- Influência do tempo de estocagem à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e estímulo a 30°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T.vulpis</i> , no período de sete a 84 dias no inverno.....	58
Figura 7- Influência do tempo de estocagem à temperatura de $- 4^{\circ}\text{C}$ e estímulo a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T.vulpis</i> , no período de sete a 84 dias no Inverno	59
Figura 8- Influência do tempo de estocagem à temperatura de $- 4^{\circ}\text{C}$ e estímulo a 30°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T.vulpis</i> , no período de sete a 84 dias no Inverno	59
Figura 9- Influência do tempo de estocagem à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e estímulo a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T.vulpis</i> , no período de sete a 49 dias na Primavera.....	60
Figura 10- Influência do tempo de estocagem à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e estímulo a 30°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T.vulpis</i> , no período de sete a 49 dias na Primavera.....	61
Figura 11- Influência do tempo de estocagem à temperatura de $- 4^{\circ}\text{C}$ e estímulo a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T.vulpis</i> , no período de sete a 49 dias na Primavera.....	61

Figura 12- Influência do tempo de estocagem à temperatura de - 4°C e estímulo a 30°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T.vulpis</i> , no período de sete a 49 dias na Primavera.....	62
Figura 13- Número de hemácias em cães infectados por <i>T.vulpis</i> e controle durante o período pré-patente	64
Figura 14- Volume globular de cães infectados por <i>T.vulpis</i> e controle durante o período pré-patente	64
Figura 15- Concentração de hemoglobina corpuscular média em cães infectados por <i>T. vulpis</i> e controle durante período pré-patente	65
Figura 16- Número de plaquetas em cães infectados por <i>T. vulpis</i> e controle durante o período pré-patente	65
Figura 17- Número de linfócitos de cães infectados por <i>T.vulpis</i> e controle durante o período pré-patente	66
Figura 18- Número de eosinófilos de cães infectados por <i>T.vulpis</i> e controle o período pré-patente	66
Figura 19- Influência do tempo de estocagem à temperatura de ± 10°C e estímulo a ±25°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T.vulpis</i> , provenientes de cães experimentalmente infectados no período de sete a 35dias na Primavera	67
Figura 20- Influência do tempo de estocagem à temperatura de ± 10°C e estímulo a 30°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T. vulpis</i> provenientes de cães experimentalmente infectados, no período de sete a 35 dias na Primavera	68
Figura 21- Influência do tempo de estocagem à temperatura de -4°C e estímulo a ±25°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T.vulpis</i> ,provenientes de cães experimentalmente infectados no período de sete a 35dias na Primavera	68
Figura 22- Influência do tempo de estocagem à temperatura de -4°C e estímulo a 30°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de <i>T. vulpis</i> provenientes de cães experimentalmente infectados, no período de sete a 35 dias na Primavera	69

SUMÁRIO

1 CAPÍTULO I: AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE OVOS DE <i>Ancylostoma caninum</i> SUBMETIDOS À BAIXAS TEMPERATURAS	20
1.1 INTRODUÇÃO	21
1.2 REVISÃO DE LITERATURA	22
1.2.1 Influência da temperatura no desenvolvimento dos ovos	22
1.3 OBJETIVOS	23
1.3.1 Objetivo geral	23
1.3.2 Objetivos específicos	23
1.4 MATERIAL E MÉTODOS	24
1.4.1 Local	24
1.4.2 Animais doadores	24
1.4.3 Delineamento experimental	24
1.4.3.1 Estocagem de amostras de fezes a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $- 4^{\circ}\text{C}$, OPG e recuperação de ovos de <i>A. caninum</i> e avaliação pelo estímulo da temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 30°C	24
1.4.3.2 Avaliação das fases de desenvolvimento (mórula à L ₁) <i>A. caninum</i> das amostras estocadas e classificação	24
1.4.3.3 Recuperação de larvas de terceiro estágio de <i>A. caninum</i> das amostras estocadas	25
1.4.3.4 Análise estatística	25
1.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
1.5.1 Valores de OPG's semanal de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a -4°C , e de fezes recém-coletadas, no período do Outono (25/4 à 20/6).	26
1.5.2 Valores de OPG's semanal de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a -4°C , e de fezes recém-coletadas, no período do Inverno (05/7 à 19/9/11)	27
1.5.3 Valores de OPG's semanal de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a $- 4^{\circ}\text{C}$, e de fezes recém-coletadas, no período da Primavera (06/10 à 24/11/11).	28
1.5.4 Datas de observações, no Outono, das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de <i>A. caninum</i> estocados sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a estimulados à $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 30°C .	29

1.5.5	Datas de observações, no Outono, das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de <i>A.caninum</i> estocados sob - 4°C e a estimulados à ±25°C e 30°C.	29
1.5.6	Datas de observações, no Inverno, das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de <i>A.caninum</i> estocados sob ±10°C e estimulados a ±25°C e 30°C.	31
1.5.7	Datas de observações, no Inverno, das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de <i>A.caninum</i> estocados sob -4°C e a estimulados à ±25°C e 30°C.	32
1.5.8	Datas de observações, na Primavera, das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de <i>A.caninum</i> estocados sob ±10°C e estimulados a ±25°C e 30°C.	33
1.5.9	Datas de observações, na Primavera, das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de <i>A.caninum</i> estocados sob -4°C e a estimulados à ±25°C e 30°C.	34
1.5.10	Recuperação de larvas de terceiro estágio (L ₃) de <i>A. caninum</i> de coprocultura de fezes estocadas a ±10°C e - 4°C no Outono (25/4 a 20/6).	35
1.5.11	Recuperação de larvas de terceiro estágio (L ₃) de <i>A. caninum</i> de coprocultura de fezes estocadas a ±10°C e -4°C ,no Inverno (25/4 à 20/6) e Primavera (06/10 à 24/11/11)	36
1.5.12	Valor médio de diferentes fases de ovos de <i>A. caninum</i> de amostras a ± 10°C e - 4°C mantidos a ±25°C e a 30°C no Outono.	37
1.5.13	Valor médio de diferentes fases de ovos de <i>A. caninum</i> de amostras a ± 10°C e - 4°C mantidos a ±25°C e a 30°C no Inverno.	36
1.5.14	Valor médio de diferentes fases de ovos de <i>A. caninum</i> de amostras a ± 10°C e - 4°C mantidos a ±25°C e a 30°C na Primavera.	38
1.6	CONCLUSÃO	39
1.7	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	40
2.	CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DE OVOS DE <i>Trichuris vulpis</i> EM DIFERENTES TEMPERATURAS E DE INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE CÃES	43
2.1	INTRODUÇÃO	44
2.2	REVISÃO DE LITERATURA	45
2.2.1	<i>Trichuris vulpis</i> (Froelich , 1789)	45
2.2.1.1	Ciclo biológico de <i>T. vulpis</i>	45
2.2.1.2	Período Pré-patente de <i>T.vulpis</i>	45
2.2.2	Perfil hematológico de cães infectados por <i>T.vulpis</i>	45

2.2.3	Frequência de ovos de <i>T. vulpis</i> em praças no Brasil	46
2.2.4	Influência da temperatura no desenvolvimento dos ovos	46
2.3	OBJETIVOS	47
2.3.1	Objetivos gerais	47
2.3.2	Objetivos específicos	47
2.4	MATERIAL E MÉTODOS	48
2.4.1	Animal	48
2.4.2	Local	48
2.4.3	Delineamento experimental	48
2.4.3.1	Estocagem de amostras de fezes à $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $- 4^{\circ}\text{C}$, OPG e recuperação de ovos de <i>T.vulpis</i>	48
2.4.3.2	Avaliação das fases de desenvolvimento de ovos de <i>T. vulpis</i>	49
2.4.3.3	Infecção experimental em cães	49
2.4.3.4	OPG de cães infectados experimentalmente por <i>T.vulpis</i>	49
2.4.3.5	Perfil hematológico de cães infectados	49
2.4.3.6	Avaliação das fases de desenvolvimento de ovos de <i>T. vulpis</i>	49
2.4.3.7	Análise estatística	49
2.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
2.5.1	Avaliação do OPG de amostras de fezes estocadas sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$, $- 4^{\circ}\text{C}$ e recém coletadas em diferentes estações	50
2.5.2	Avaliações preliminares: desenvolvimento dos ovos de <i>T. vulpis</i> em duas diferentes temperaturas	53
2.5.3	Avaliação do desenvolvimento dos ovos de <i>T. vulpis</i> estocados em baixas temperaturas, na Estação do Outono	55
2.5.4	Avaliação do desenvolvimento dos ovos de <i>T. vulpis</i> estocados em baixas temperaturas, na Estação do Inverno	57
2.5.5	Avaliação do desenvolvimento dos ovos de <i>T. vulpis</i> estocados em baixas temperaturas, na Estação da Primavera	60
2.5.6	Infecção experimental em cães	63
2.5.6.1	Perfil hematológico de cães experimentalmente infectados.	63

2.5.7 Avaliação do desenvolvimento dos ovos de <i>T. vulpis</i> provenientes de cão infectado experimentalmente, estocados em baixas temperaturas, na Estação da Primavera	67
2.5.8 Análise estatística da avaliação do desenvolvimento de ovos de <i>T.vulpis</i> (Outono, Inverno, Primavera e Primavera cães com monoinfecção experimental)	70
2.6 CONCLUSÃO	78
2.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
2.8 ANEXOS	82
2.8.1 Produção científica do período acadêmico	82
2.8.2 Tabelas de dados - Capítulo II	84

1 - CAPÍTULO I

AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE OVOS DE *Ancylostoma caninum* SUBMETIDOS À BAIXAS TEMPERATURAS

1.1 INTRODUÇÃO

Os cães jovens são frequentemente acometidos *por Ancylostoma caninum*, nematóide hematófago do intestino delgado, a infecção ocorre por via percutânea e ingestão de larvas (L3) com alimentos e/ou água (SOULSBY, 1987).

Ovos e larvas de *A. caninum* vêm sendo coletadas em amostras de fezes de cães de locais públicos (COELHO, 2007; SILVA FRANCISCO et al., 2008), pelo fato de serem levados pelos proprietários à praças, eliminam fezes e contaminam o solo com várias formas parasitárias (SANTARÉM et al., 2004), constituindo um problema de Saúde Pública, causando a zoonose Larva Migrans Cutânea.

A prevalência em canídeos é alta em países de clima tropical e clima temperado em todo o mundo (GRAMDEMANGE et al., 2006; TRAUB et al., 2008). As fases pré-parasíticas, ovos e larvas desenvolvem-se no ambiente e são dependentes das condições climáticas, sendo a temperatura de 25 a 30°C ideal para desenvolvimento (BALASIGAM, 1964).

No Brasil não existe relatos sobre o desenvolvimento dos ovos em baixas temperaturas. Com o objetivo de conhecer melhor o desenvolvimento de ovos e larvas de *A. caninum* submetidos a baixas temperaturas elaboramos esse estudo.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

Os cães podem ser infectados por diversos helmintos gastrintestinais, tais como, *Ancylostoma* sp., *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis*, *Dipylidium caninum*, e *Taenia* sp. Infecções com endoparasitas causam diferentes sintomas clínicos dependendo da espécie do parasita e carga parasitária. A infecção pode variar de leve distúrbios gastrointestinais, como, anorexia, baixo ganho de peso, perda de peso, anemia, desidratação e até evoluir a óbito (BARUTZKI; SCHAPER., 2003).

Dos nematóides parasitas de cães, *Ancylostoma* sp.; é um dos mais frequentes e com ampla distribuição (KATAGIRI; OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2007).

Alguns nematóides de animais podem afetar naturalmente o homem, porém o ciclo de vida não é finalizado por falta de estímulos adequados ou de outras condições metabólicas, não conseguem evoluir até sua forma adulta (REY, 2001). A Larva Migrans Cutânea (LMC) é conhecida como dermatite serpinginosa ou “bicho geográfico” e é causada pela penetração ativa e migração de larvas de *Ancylostoma* sp. na pele de humanos causando erupção linear e tortuosa na pele , geralmente muito pruriginosa (NUNES et al , 2000 ; PERUCA et al, 2009).

O risco de contaminação humana não está limitado ao âmbito doméstico, pois, frequentemente, os cães são levados por seus proprietários para passear em áreas públicas destinadas à recreação e os parasitados podem defecar nestes locais contaminando o ambiente, favorecendo a infecção (CAPUANO; ROCHA, 2006).

Vários relatos da literatura demonstraram a alta prevalência de ovos e larvas de *A. caninum* (OLIVEIRA-SEQUEIRA et al.,2002) em várias cidades do Brasil (SCAINI et al., 2003; LEITE et al., 2006 , ALMEIDA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009).

1.2.1 Influência da temperatura no desenvolvimento dos ovos de *A. caninum*

A. caninum é o nematóide mais patogênico do intestino delgado de cães tendo grande importância em Medicina veterinária, possui ampla distribuição em todo mundo, sendo encontrado em países de clima temperado e tropical e sua transmissão ocorre por infecção oral e/ou percutânea (DUNN, 1978;SOULSBY, 1987). A temperatura entre 25 a 35°C é favorável para incubação de ovos *A. caninum*, com máxima eclosão de larvas a 25°C e na faixa de 30 a 35°C as larvas são maiores (BALASIGAM , 1964). O desenvolvimento das formas infectantes oscila entre 25 a 30°C, faixa de temperatura ótima para *A. caninum*, sendo necessário aproximadamente uma semana para o desenvolvimento. Em temperaturas mais baixas o desenvolvimento torna-se mais lento, por exemplo, a 15°C o desenvolvimento ocorre em 22 dias e em torno de 9°C ocorre em nove dias (SOULSBY, 1987). Os ovos e larvas de *A. ceylanicum* e *A. tubaeforme* tiveram o desenvolvimento acelerado quando a temperatura foi elevada (MATTHEWS,1985). Kopp (2008) observou uma diminuição de 40% no número de larvas de *A.caninum* viáveis após descongelamento.

Fezes congeladas contendo ovos de *A. caninum* apresentam redução no OPG, independentemente da técnica de diagnóstico e da solução empregada. Os ovos são danificados pelo processo de descongelamento (CRINGOLI et al, 2011).

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo geral

-Avaliar a influência da temperatura sobre as diferentes fases de desenvolvimento de ovos de *A.caninum*.

1.3.2 Objetivos específicos

-Verificar a variação de OPG (ovos por grama de fezes) de amostras estocadas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C .

-Identificar a variação do OPG de animais naturalmente infectados durante as estações do ano.

-Observar as possíveis variações nas diferentes fases de desenvolvimento de ovos de *A. caninum* recuperados de amostras de fezes estocadas à $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C e posteriormente mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 30°C , em diferentes estações do ano.

-Conferir a viabilidade dos ovos de *A.caninum* mantidos sob baixas temperaturas para o desenvolvimento até L₃.

1.4 MATERIAL E MÉTODOS

1.4.1 Local

O estudo foi realizado no Laboratório de Helminologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

1.4.2 Animais doadores

Foram utilizados cães naturalmente infectados por *A. caninum* como doadores de fezes coletadas nas diferentes estações (outono, inverno e primavera) no período de abril a dezembro. Esses animais foram mantidos em baias individuais e foi fornecido água *ad libitum* e ração uma vez ao dia.

1.4.3 Delineamento experimental

- **Estocagem de amostras de fezes a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C , OPG e recuperação de ovos de *A. caninum* e avaliação pelo estímulo da temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 30°C**

Amostras de fezes foram coletadas em recipiente pré-identificados durante cada estação, para obtenção de 720 gramas, após homogeneização uma amostra de quatro gramas foi retirada para avaliação do OPG pela técnica de McMaster (GORDON; WHITLOCK, 1939). Um total de 36 amostras foram submetidas a baixas temperaturas, sendo 18 à refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e 18 sob congelação (-4°C) em duplicata. Semanalmente, uma amostra à $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C dos dois grupos, com cinco gramas cada, foi processada e utilizada para realização do OPG pela técnica de McMaster e recuperação de ovos através da técnica de flutuação (RODRIGUES; HONER, 1985), em que amostras fecais foram homogeneizadas com solução saturada de açúcar, o conteúdo filtrado em peneira contendo gaze para retenção de parte da sujidade e após colocado em recipiente de plástico que possibilita a adesão dos ovos na parte superior, durante aproximadamente 40 minutos, após este tempo o filtrado foi cuidadosamente desprezado e com uma pipeta de Pausteur contendo água, ovos aderidos na parte superior do recipiente foram lavados e mantidos em placas de Petri sem adição de qualquer substância e imediatamente levados ao microscópio de luz, 100 ovos (100%) foram contados e avaliados quanto ao estágio de desenvolvimento. Os ovos recuperados de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C foram mantidos em placas de Petri em meio líquido água a temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e outra amostra à 30°C .

- **Avaliação das fases de desenvolvimento (mórula a L_1) de *A. caninum* das amostras estocadas**

Logo após a recuperação dos ovos de amostras mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C foi realizada a avaliação e contagem dos estágios de desenvolvimento. O mesmo procedimento foi realizado 24 horas após e as larvas (L_1) sem motilidade foram consideradas mortas.

- **Recuperação de larvas de terceiro estágio de *A. caninum* das amostras estocadas**

As larvas de terceiro estágio (L₃) de *A. caninum* recuperadas através da técnica de coprocultura (ROBERTS; O`SULLIVAN, 1950) e a alíquota de 0,2 ml do total do volume recuperado foi colocada em lâmina, levada ao microscópio de luz e quantificadas as larvas.

- **Análise estatística**

Foi utilizado o teste t - Student para os dados paramétricos e Mann-Whitney para os dados não-paramétricos e para a obtenção de valores médios das diferentes fases de desenvolvimento de *A.caninum* durante cada estação. O Programa estatístico utilizado foi o Bioestat versão 5.0.

1.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 pode ser observado valores de OPG de fezes estocadas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $- 4^{\circ}\text{C}$ durante o período do outono. Nota-se que o OPG de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ variou entre 2.850 a 12.800, valores menores e maiores em relação ao OPG inicial da massa fecal antes de ser estocada. O OPG de amostras estocadas a $- 4^{\circ}\text{C}$ variou entre 0 a 300, valores muito baixos quando comparados ao OPG inicial, concordando com Cringonli (2011) que afirma que fezes congeladas contendo ovos de *A.caninum* apresentam redução no OPG e que os ovos são danificados quando amostras são descongeladas. O OPG de fezes recém coletadas variou de 1.500 a 2.300 mostrando uma redução na liberação de ovos de nematóides quando comparado com o OPG do início do estudo.

A justificativa para o valor baixo de OPG a $- 4^{\circ}\text{C}$ pode ser o fato de ovos de *A.caninum* precisarem de um período de tempo maior para flutuarem, visto que a técnica empregada para a contagem de ovos nesse estudo é realizada com até 10 minutos após o processamento da amostra fecal.

Tabela 1. Valores de OPG's semanal de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a -4°C , e de fezes recém-coletadas, no período do Outono (25/4 à 20/6). O OPG inicial foi de 6.100 em 18/4/2011.

Datas	OPG		
	Récem-coletadas	$\pm 10^{\circ}\text{C}$	$- 4^{\circ}\text{C}$
7 d (25/4)	1.800	4.800	300
14 d (02/5)	2.100	12.800	250
21 d (09/5)	1.700	7.600	150
28 d (16/5)	1.500	5.150	200
35 d (23/5)	2.300	4.000	0
42 d (30/5)	2.000	3.800	50
49 d (06/6)	1.900	2.850	0
56 d (13/6)	1.750	3.700	0
63 dias (20/6)	2.200	4.750	0

Nas fezes estocadas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e nas recém coletadas o OPG variou de 900 a 3.050 e de 1.800 a 3.400 respectivamente, valores diferentes do inicial que foi de 2.400. Das amostras estocadas a $- 4^{\circ}\text{C}$ o OPG foi de zero , este fato pode ser explicado pela cristalização que ocorre na casca dos ovos que dificultam sua habilidade de flutuar, como observado por Nielsen (2011) em ovos de *Strongylus* sp. após estoque em congelação (Tabela 2).

Tabela 2 . Valores de OPG's semanal de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a -4°C , e de fezes recém-coletadas, no período do Inverno (05/7 à 19/9/11). O OPG inicial foi de 2.400 em 28/6/2011.

Datas	OPG		
	Récem-coletadas	$\pm 10^{\circ}\text{C}$	$- 4^{\circ}\text{C}$
7 d (05/7)	1.950	3.050	0
14 d (11/7)	2.100	2.100	0
21 d (18/7)	1.800	1.750	0
28 d (25/7)	2.300	1.950	0
35 d (01/8)	2.800	2.200	0
42 d (08/8)	2.800	1.050	0
49 d (15/8)	3.100	1.650	0
56 d (22/8)	3.400	1.750	0
63 d (29/8)	2.900	1.150	0
70 d (05/9)	2.600	1.250	0
77 d (12/9)	2.200	1.700	0
84 d (19/9)	2.500	900	0

Na primavera pode ser observado que o OPG de fezes estocadas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ oscilou entre 1.300 a 2.200, e em recém coletadas variou de 1.500 a 2.300, valores diferentes do inicial que foi de 2.800. Das amostras estocadas a $- 4^{\circ}\text{C}$ o OPG foi zero, este fato pode ser explicado explicado pela cristalização que ocorre na casca dos ovos que dificultam sua habilidade de flutuar, como observado por Nielsen (2011) em ovos de *Strongylus* sp. após estoque em congelação (Tabela 3).

Tabela 3. Valores de OPG's semanal de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a $- 4^{\circ}\text{C}$, e de fezes recém-coletadas, no período da Primavera (06/10 à 24/11/11). O OPG inicial foi de 2.800 em 29/9/2011.

Datas	OPG		
	Récem-coletadas	$\pm 10^{\circ}\text{C}$	$- 4^{\circ}\text{C}$
7 d (06/10)	1.800	2.200	0
14 d (13/10)	2.100	2.000	0
21 d (20/10)	1.700	1.700	0
28 d (27/10)	1.600	1.900	0
35 d (03/11)	1.900	1.800	0
42 d (10/11)	2.300	2.100	0
49 d (17/11)	1.800	1.800	0
56 d (24/11)	1.500	1.700	0
63 d (01/12)	1.700	1.300	0

Somente a partir dos 35 dias foi possível a manutenção a 30°C, de ovos recuperados de amostras estocadas a $\pm 10^\circ\text{C}$. Todos os ovos observados e contados logo após a recuperação encontravam-se na fase de mórula. Aos 35 dias observou-se 34% dos ovos larvados a 25°C em contraste com 15% a 30°C demonstrando que provavelmente a temperatura de 25°C foi mais favorável para esta fase (Tabela 4).

Tabela 4. Datas de observações, no outono, das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de *A.caninum* estocados sob $\pm 10^\circ\text{C}$ e a estimulados a $\pm 25^\circ\text{C}$ e 30°C , em percentagem verificados semanalmente.

Datas	$\pm 10^\circ\text{C} \Rightarrow \pm 25^\circ\text{C}$							$\pm 10^\circ\text{C} \Rightarrow 30^\circ\text{C}$						
	24 h							24 h						
	R	M	G	OL	LV	OI	LM	R	M	G	OL	LV	OI	LM
25/4 (7 d)	M*	0	37	55	8	0	0	-	-	-	-	-	-	-
02/5 (14 d)	M*	0	41	41	18	0	0	-	-	-	-	-	-	-
09/5 (21 d)	M*	0	57	42	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-
16/5 (28 d)	M*	02	55	42	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-
23/5 (35 d)	M*	05	57	34	4	0	0	M*	0	75	15	6	0	4
30/5 (42 d)	M*	12	63	20	5	0	0	M*	0	81	13	4	0	2
06/6 (49 d)	M*	17	66	5	9	0	3	M*	6	56	28	9	0	0
13/6 (56d)	M*	0	100	0	0	0	0	M*	0	98	01	0	0	1
20/6 (63 d)	M*	62	38	0	0	0	0	M*	31	67	0	02	0	0

M*- Ovos classificados logo após a recuperação em fase de mórula.

R - classificação da fase dos ovos imediatamente após a recuperação.

M – Mórula; G – Gástrula; OL – Ovo larvado ;LV – larva viva OI – Ovo inviável; LM – Larva morta.

Ovos recuperados aos 35 dias e mantidos a 30°C.

Somente a partir dos 35 dias foi possível a manutenção a 30°C , de ovos recuperados de amostras estocadas a - 4°C. Na tabela 5 estão demonstrados os resultados do outono a - 4°C. As amostras mantidas a ± 25°C, o desenvolvimento dos ovos nos dias 21 e 28 permaneceu em fase de mórula . Aos 56 dias o desenvolvimento para gástrula alcançou um elevado percentual não se observando desenvolvimento para as fases seguintes, concordando com Balasigam (1964) que observou que os ovos não resistiram ao congelamento quando mantidos de 0°C a - 20°C.

Tabela 5. Datas de observações, no outono, das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de *A. caninum* estocados sob -4°C e a estimulados a ±25°C e 30°C, em percentagem verificados semanalmente.

Datas	- 4°C ⇔ ± 25°C						- 4°C ⇔ 30°C						
	24h						24h						
	M	G	OL	LV	OI	LM	M	G	OL	LV	OI	LM	
25/4 (7 d)	M*	0	89	11	0	0	0	-	-	-	-	-	-
02/5 (14 d)	M*	14	86	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
09/5 (21 d)	M*	100	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
16/5 (28 d)	M*	100	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
23/5 (35 d)	M*	10	90	0	0	0	0	M*	89	11	0	0	0
30/5 (42 d)	M*	9	91	0	0	0	0	M*	18	82	0	0	0
06/6 (49 d)	M*	13	87	0	0	0	0	M*	22	78	0	0	0
13/6 (56 d)	M*	0	100	0	0	0	0	M*	0	100	0	0	0
20/6 (63 d)	M*	73	27	0	0	0	0	M*	50	49	0	0	0

M*- Ovos classificados logo após a recuperação em fase de mórula.

R- - classificação da fase dos ovos imediatamente após a recuperação.

M – Mórula; G – Gástrula; OL – Ovo larvado ;LV – larva viva ; OI – Ovo inviável; LM – Larva morta.

Ovos recuperados aos 35 dias e mantidos a 30°C.

Na tabela 6 observa-se que ovos de *A.caninum* recuperados de amostras armazenadas sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ quando estimulados a temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 30°C , não diferiram quanto ao percentual de desenvolvimento aos sete, 42, 49, 56 e 70 dias pós estoque. Somente aos 28 dias observou-se ovos larvados a 30°C , sendo esta temperatura considerada favorável ao desenvolvimento de ovos de *A.caninum* por Balasigam (1964) e ao desenvolvimento de formas infectantes por Soulsby (1987).

Tabela 6. Datas de observações, no inverno, das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de *A.caninum* estocados sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e estimulados a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 30°C , em percentagem verificados semanalmente.

Datas	$\pm 10^{\circ}\text{C} \Rightarrow \pm 25^{\circ}\text{C}$							$\pm 10^{\circ}\text{C} \Rightarrow 30^{\circ}\text{C}$						
	24h							24h						
	M	G	OL	LV	OI	LM	M	G	OL	LV	OI	LM		
05/7 (7 d)	M*	0	100	0	0	0	0	M*	0	100	0	0	0	0
11/7 (14 d)	M*	36	64	0	0	0	0	M*	16	84	0	0	0	0
18/7 (21 d)	M*	63	37	0	0	0	0	M*	23	77	0	0	0	0
25/7 (28 d)	M*	88	12	0	0	0	0	M*	0	87	13	0	0	0
01/8 (35 d)	M*	73	27	0	0	0	0	M*	59	41	0	0	0	0
08/8 (42 d)	M*	0	100	0	0	0	0	M*	0	100	0	0	0	0
15/8 (49 d)	M*	0	100	0	0	0	0	M*	0	100	0	0	0	0
22/8 (56 d)	M*	100	0	0	0	0	0	M*	100	0	0	0	0	0
29/8 (63 d)	M*	23	77	0	0	0	0	M*	12	88	0	0	0	0
05/9 (70 d)	M*	0	100	0	0	0	0	M*	0	100	0	0	0	0
12/9 (77d)	M*	100	0	0	0	0	0	M*	55	45	0	0	0	0
19/9 (84 d)	M*	95	5	0	0	0	0	M*	78	22	0	0	0	0

M*- Ovos classificados logo após a recuperação em fase de mórula.

R- classificação da fase dos ovos imediatamente após a recuperação M – Mórula; G -Gástrula; OL- Ovo larvado; LV- Larva viva; OI- Ovo inviável; LM - Larva morta.

No inverno observou-se grande variação nas diferentes amostras analisadas e maior percentual na fase de mórula, uma vez que sob congelação a evolução para a fase seguinte foi reduzida ou não ocorre mesmo quando se eleva a temperatura para 25°C, na temperatura de 30°C observou-se elevado número de ovos em gástrula na maioria das amostras, sugerindo que a biologia dos ovos de *A.caninum* foi afetada pela estocagem em baixa temperatura o que também foi citada por Balasigam (1964) (Tabela 7).

Tabela 7. Datas de observações, no inverno, das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de *A.caninum* estocados sob - 4°C e a estimulados a ±25°C e 30°C, em percentagem verificados semanalmente.

Datas	- 4°C ⇔ ± 25°C						- 4°C ⇔ 30°C							
	24 h						24 h							
	M	G	OL	LV	OI	LM	M	G	OL	LV	OI	LM		
05/7 (7 d)	M*	12	88	0	0	0	0	M*	28	72	0	0	0	0
11/7 (14 d)	M*	66	36	0	0	0	0	M*	55	45	0	0	0	0
18/7 (21 d)	M*	61	39	0	0	0	0	M*	0	100	0	0	0	0
25/7 (28 d)	M*	78	22	0	0	0	0	M*	0	100	0	0	0	0
01/8 (35 d)	M*	84	16	0	0	0	0	M*	68	32	0	0	0	0
08/8 (42 d)	M*	0	100	0	0	0	0	M*	0	100	0	0	0	0
15/8 (49 d)	M*	0	100	0	0	0	0	M*	0	100	0	0	0	0
22/8 (56 d)	M*	89	11	0	0	0	0	M*	0	100	0	0	0	0
29/8 (63 d)	M*	36	64	0	0	0	0	M*	43	57	0	0	0	0
05/9 (70 d)	M*	0	100	0	0	0	0	M*	0	100	0	0	0	0
12/9 (77d)	M*	33	67	0	0	0	0	M*	22	78	0	0	0	0
19/9(84 d)	M*	88	12	0	0	0	0	M*	69	31	0	0	0	0

M*- Ovos classificados logo após a recuperação em fase de mórula.

R- classificação da fase dos ovos imediatamente após a recuperação

M – Mórula; G – Gástrula; OL – Ovo larvado; LV- Larva viva ; OI – Ovo inviável; LM – Larva morta.

Observou-se que grande percentual dos ovos permaneceu em fase de mórula e aos 7 dias ocorreu desenvolvimento de ovo larvado a 25°C. À temperatura de 30°C, elevado percentual de ovos permaneceu em fase de mórula, e de 3 a 10% para gástrula. Os resultados revelam que neste período não ocorreu o estímulo para o processo de desenvolvimento, mesmo após os ovos terem sido submetidos a baixas temperaturas (Tabela 8).

Tabela 8. Datas de observações na primavera, das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de *A.caninum* estocados sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a estimulados a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 30°C , em percentagem verificados semanalmente.

Datas	$\pm 10^{\circ}\text{C} \Rightarrow \pm 25^{\circ}\text{C}$							$\pm 10^{\circ}\text{C} \Rightarrow 30^{\circ}\text{C}$						
	24 h							24 h						
	M	G	OL	LV	OI	LM	M	G	OL	LV	OI	LM		
06/10 (7 d)	M*	93	6	1	0	0	0	M*	90	10	0	0	0	0
13/10 (14 d)	M*	92	7	1	0	0	0	M*	97	3	0	0	0	0
20/10 (21 d)	M*	61	39	0	0	0	0	M*	100	0	0	0	0	0
27/10 (28 d)	M*	100	0	0	0	0	0	M*	97	3	0	0	0	0
03/11 (35 d)	M*	100	0	0	0	0	0	M*	90	10	0	0	0	0
10/11 (42 d)	M*	86	14	0	0	0	0	M*	90	10	0	0	0	0
17/11 (49 d)	M*	88	12	0	0	0	0	M*	90	10	0	0	0	0
24/11 (56 d)	M*	80	20	0	0	0	0	M*	90	10	0	0	0	0
01/12 (63 d)	M*	84	16	0	0	0	0	M*	87	13	0	0	0	0

M*- Ovos classificados logo após a recuperação em fase de mórula.

M – Mórula; G – Gástrula; OL – Ovo larvado; OI – Ovo inviável; LM – Larva morta.

À temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$, de 50 a 100% dos ovos permaneceram em fase de mórula, com o desenvolvimento máximo de evolução para gástrula aos 35 dias. E dos ovos mantidos a 30°C poucos evoluíram para gástrula, com o máximo de 27% aos sete dias (Tabela 9).

Tabela 9. Datas de observações na primavera das diferentes fases de desenvolvimento de ovos e larvas de *A.caninum* estocados sob -4°C e a estimulados a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 30°C , em percentagem verificados semanalmente.

Datas	$-4^{\circ}\text{C} \Rightarrow \pm 25^{\circ}\text{C}$							$-4^{\circ}\text{C} \Rightarrow 30^{\circ}\text{C}$						
	24 h							24 h						
	M	G	OL	LV	OI	LM	M	G	OL	LV	OI	LM		
06/10 (7 d)	M*	68	32	0	0	0	0	M*	73	27	0	0	0	0
13/10 (14 d)	M*	60	40	0	0	0	0	M*	76	24	0	0	0	0
20/10 (21 d)	M*	67	33	0	0	0	0	M*	95	5	0	0	0	0
27/10 (28 d)	M*	100	0	0	0	0	0	M*	100	0	0	0	0	0
03/11 (35 d)	M*	25	75	0	0	0	0	M*	80	20	0	0	0	0
10/11 (42 d)	M*	90	10	0	0	0	0	M*	96	4	0	0	0	0
17/11 (49 d)	M*	83	17	0	0	0	0	M*	81	19	0	0	0	0
24/11 (56 d)	M*	50	50	0	0	0	0	M*	91	9	0	0	0	0
01/12 (63 d)	M*	61	39	0	0	0	0	M*	88	12	0	0	0	0

M*- Ovos classificados logo após a recuperação em fase de mórula.

M – Mórula; G – Gástrula; OL – Ovo larvado; OI – Ovo inviável; LM – Larva morta.

As L₃ recuperadas de fezes a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ por 7 a 14 dias apresentaram números elevados (225 e 450) quando comparados com os demais períodos (Tabela 5). Comprovando que em amostras a $- 4^{\circ}\text{C}$ a congelação interfere na biologia dos ovos não permitindo seu desenvolvimento até L₃. Estes resultados estão de acordo com Kopp (2008) que observou uma diminuição de 40% de larvas viáveis após o descongelamento de amostras de fezes.

Tabela 10. Recuperação de larvas de terceiro estágio (L₃) de *A. caninum* de coprocultura de fezes estocadas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $- 4^{\circ}\text{C}$ no Outono (25/4 a 20/6).

Datas Outono	$\pm 10^{\circ}\text{C}$	$- 4^{\circ}\text{C}$
7 d (25/4)	225	zero
14 d (02/5)	450	zero
21 d (09/5)	60	zero
28 d (16/5)	10	zero
35 d (23/5)	05	zero
42 d (30/5)	10	zero
49 d (06/6)	20	zero
56 d (13/6)	10	zero
63 d (20/6)	zero	zero

- Recuperação de larvas de terceiro estágio (L₃) de *A. caninum* de coprocultura de fezes estocadas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $- 4^{\circ}\text{C}$,no Inverno (25/4 à 20/6) e Primavera (06/10 à 24/11/11).

Observou-se que não houve recuperação de L₃ de *A. caninum* no período do inverno e da primavera em amostras estocadas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $- 4^{\circ}\text{C}$. Nestes períodos, ovos estocados a baixas temperaturas tiveram a viabilidade afetada não se desenvolvendo até L₃. Estes resultados concordam com os de KOPP (2008) que observou redução da viabilidade de L₃ oriundas de ovos congelados.

- Análise Estatística da avaliação de ovos de *A. caninum* no Outono, Inverno e Primavera

Nas tabelas 11 (Outono) e 12 (Inverno) observou-se grande percentual de evolução para a fase de gástrula quando os ovos foram mantidos sob refrigeração e congelação colocados 25° e 30°C (P>0,05) e o máximo de 26,6 % de ovos larvados (P< 0,05). As demais fases ocorreram percentual mínimo ou o desenvolvimento cessou. Os resultados deste estudo demonstraram que os ovos não sobrevivem bem à congelação mas podem ser avaliados por número de ovos por grama de fezes (OPG) quando mantidos sob ± 10°C por até 9 semanas. Resultados semelhantes foram observados por Cringoli et al (2011) que observou que ovos sofrem danos nas membranas da casca.

Tabela 11. Valor médio de diferentes fases de ovos de *A. caninum* de amostras a ± 10°C e - 4°C mantidos a ±25°C e a 30°C no Outono.

Fases de desenvolvimento	± 25°C		30°C	
	± 10°C	- 4°C	± 10°C	- 4°C
	X*±DP	X*±DP	X*±DP	X*±DP
Mórula	10,9 ^a ± 20,1	35,4 ^a ± 42,2	7,6 ^a ± 13,4*	35,8 ^a ± 34,7*
Gástrula	57,1 ^a ± 19,3	63,3 ^a ± 41,7	75,4 ^a ± 15,7*	64,0 ^a ± 34,8*
Ovo larvado	26,6 ^a ± 20,8	1,2 ^a ± 3,7	11,4 ^a ± 11,5	0,0 ^b ± 0,0
Larva viva	5,1 ^a ± 5,9	0,0 ^b ± 0,0	4,2 ^a ± 3,5	0,0 ^b ± 0,0
Ovo inviável	0,0 ^a ± 0,0	0,0 ^b ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Larva morta	0,3 ^a ± 1,0	0,0 ^a ± 0,0	1,4 ^a ± 1,7	0,2 ^a ± 0,4

^aValores seguidos de mesma letra, na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do Mann-Whitney a 5% de significância (p<0,05). ^{*a}Valores seguidos de mesma letra na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste t Student a 5% de significância (p<0,05). M= Média; D.P= Desvio-padrão.

Tabela 12 . Valor médio de diferentes fases de ovos de *A. caninum* de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e a 30°C no Inverno.

Fases de desenvolvimento	$\pm 25^{\circ}\text{C}$		30°C	
	$\pm 10^{\circ}\text{C}$	-4°C	$\pm 10^{\circ}\text{C}$	-4°C
	X^{\pm}DP	X^{\pm}DP	X^{\pm}DP	X^{\pm}DP
Mórula	$48,2^{\text{a}} \pm 42,7^*$	$45,4^{\text{a}} \pm 36,2^*$	$28,6^{\text{a}} \pm 35,3$	$23,8^{\text{a}} \pm 28,2$
Gástrula	$51,8^{\text{a}} \pm 42,7^*$	$54,6^{\text{a}} \pm 36,2^*$	$70,3^{\text{a}} \pm 34,5$	$76,3^{\text{a}} \pm 28,2$
Ovo larvado	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$1,1^{\text{a}} \pm 3,8$	$0,0^{\text{a}} \pm 0,0$
Larva viva	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$
Ovo inviável	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$
Larva morta	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$

^aValores seguidos de mesma letra, na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste Mann-Whitney a 5% de significância ($p < 0,05$). ^{*}Valores seguidos de mesma letra na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste t Student a 5% de significância ($p < 0,05$). M= Média; D.P= Desvio-padrão.

Na tabela 13 (Primavera) observou-se que grande percentual dos ovos permaneceram em fase de mórula que variou de 67,1 % (- 4°C) e 87,1% (± 10°C) mantidos a ± 25°C (P< 0,05). e 86,7% (- 4°C) e 92,3 % (± 10°C) (P>0,05). Na fase de gástrula variou de 12,7 % (± 10°C) a 32,9 % (- 4°C) mantidos a ± 25°C (P< 0,05) e a 30°C de 7,7 % (± 10°C) a 13,3% (- 4°C) (P>0,05). Notou-se pequeno percentual de ovo larvado somente mantidos a ± 25°C .

Tabela 13 . Valor médio de diferentes fases de ovos de *A. caninum* de amostras a ± 10°C e - 4°C mantidos a ±25°C e a 30°C na Primavera.

Fases de desenvolvimento	± 25°C		30°C	
	± 10°C	- 4°C	± 10°C	- 4°C
	X*±DP	X*±DP	X*±DP	X*±DP
Mórula	87,1 ^a ± 11,9 [*]	67,1 ^b ± 22,4 [*]	92,3 ^a ± 4,4	86,7 ^a ± 9,6
Gástrula	12,7 ^b ± 12,0 [*]	32,9 ^a ± 22,4 [*]	7,7 ^a ± 4,4	13,3 ^a ± 9,6
Ovo larvado	0,2 ^a ± 0,4	0,0 ^a ± 0,0	0,1 ^a ± 0,3	0,0 ^a ± 0,0
Larva viva	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Ovo inviável	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Larva morta	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

^aValores seguidos de mesma letra, na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste Mann-Whitney a 5% de significância (p<0,05). ^{*}Valores seguidos de mesma letra na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste t Student a 5% de significância (p<0,05). M= Média; D.P= Desvio-padrão.

1.6 CONCLUSÃO

- 1- As amostras de fezes contendo ovos de *A. caninum* podem ser avaliadas para OPG por até 10 semanas quando estocadas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e ovos mantidos a $- 4^{\circ}\text{C}$ não resistem.
- 2- Ovos de *A. caninum* permaneceram em fase de gástrula durante o período de estudo.
- 3- Ovos de *A. caninum* recuperados no outono evoluíram até L₃ após estoque a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ aos sete e 14 dias do outono.

1.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A.B.P.F; SOUSA, V.R.F; DALCIN, L; JUSTINO, C.H.S. Contaminação por fezes caninas das praças públicas de Cuiabá, Mato grosso. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science.**, São Paulo, v. 44, n.2, p. 132-136, 2007.

BALASINGAM, E. Comparative studies on the effect o temperature on free-living stages of *Placoconus lotoris*, *Dochmoides stenocephala*, and *Ancylostoma caninum*. **Canadian Journal of Zoology**, v. 42, 1964.

BARUTZKI; SCHAPER, R. Endoparasites in dogs and cats in Germany 1999-2002. **Parasitology Research**, v. 90, supl. 3, p.S148- S150, 2003.

CAPUANO, D.M; ROCHA, G.M. Ocorrência de parasitas com potencial zoonótico em fezes de cães coletadas em áreas públicas do município de Ribeirão Preto, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia** , v. 9, n.1, p. 81-86, 2006.

COELHO W.A.C.; SAKAMOTO, S.M.; SUASSUNA, A.C.D.; AHID, S.M.M.; ASSUNÇÃO, R.H.M. Larvas de ancilostomatídeos em diferentes ambientes do estado do Rio Grande do Norte. **Caatinga** (Mossoró,Brasil), v.20, n.3, p.80-82, 2007.

CRINGOLI, G; RINALDI, L; MAURELLI, M.P; MORGOGNONE, MUSELLA; UTZINGER, J. *Ancylostoma caninum*: Calibration and comparasion of diagnostic accuracy of flotation in tube, McMaster and FLOTAC in faecal samples of dogs. **Experimental Parasitology**, v.128, p. 32-37, 2011.

GORDON, H. Mcl.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of Council for Scientific and Industrial Research in Australia**, v. 12, n. 1, p. 50-52, 1939.

GRANDEMANGE, E.; CLAEREBOUT. E.; GENCHI, C.; FRANC, M. Field evaluation of the efficacy and the safety of a combination of oxantel/pyrantel/praziquantel in the treatment of naturally acquired gastrointestinal nematode and/or cestode infestation in dogs in Europe. **Veterinary Parasitology**, v.145, n.1-2, 94-99, 2007.

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

KOPP, S.R; KOTZE, A.C; McCARTHY, J.S; MORTON, J.M; COLEMAN, G.T. Strategies for the storage of *Ancylostoma caninum* third-stage larvae. **Journal Parasitology**, v. 94, n.3, p. 755-756, 2008.

LEITE, L.C; BANDEIRA, C.R; CIRIO, S.M; LUZ, E; DINIZ, J.M.F; LEITE, S.C; LUNELLI, D; WEBER, S; COELLI, C.R.V.R. Ocorrência de ovos de *Ancylostoma* spp. e *Trichuris* spp. em fezes de cães em Meia-Praia, Itapema, Santa Catarina, Brasil. **Estudos de Biologia**, v.28, n. 65, p.105-110, 2006.

MATTHEWS, B.E. The influence of temperature and osmotic stress on the development and eclosion of hookworm eggs. **Journal of helminthology** ,v.59, p. 217-224,1985 .

NIELSEN, M.K; VIDYASHANKAR,A.N.; ANDERSEN, U.V.; DELISI K.; PILEGAARD K.; Kaplan R.M. Effects of fecal collection and storage factors on strongylid egg counts in horses. **Veterinary Parasitology** , v.167, 55–61,2010.

NUNES, C. M; PENA, F.C; NEGRELLI, G. B. Ocorrência de larva migrans na areia de áreas de lazer das escolas municipais de ensino infantil, Araçatuba, SP, Brasil. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v.34, n.6, p.656-658, 2000.

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.

OLIVEIRA, V.S.F; MELO, D.P.G.; FERNANDES, P.R.; SCHULZE, C.M.B.; GUIMARÃES, M.S.; SILVA, A.C. Ocorrência de helmintos gastrintestinais em cães errantes na cidade de Goiânia-Goiás. **Revista de Patologia Tropical**, v. 38, n.4, p.279-283, 2009.

PERUCA, L.C.B.; LANGONI, H.L.; UCHEIS, S.B. Larva migrans visceral e cutânea como zoonoses: Revisão de literatura. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n. 4, p.601-616, 2009.

REY, L. Bases da parasitologia médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 349p.

ROBERTS, H.S.; O'SULLIVAN, P.S. Methods for egg counts and larval cultures for *Strongyles* infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agriculture Research**, v. 1, n. 1, p. 99-102, 1950.

RODRIGUES, M.L.A.; HONER, M.R. The collection and identification of first stage larvae of bovine gastrointestinal nematodes: modification of the Whitlock technique (1959). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 5, n. 1, p.1-3. 1985.

SANTARÉM,V.A.; GIUFFRIDA, R.; ZANIN, G.A. Larva migrans cutânea: ocorrência de casos humanos e identificação de larvas de *Ancylostoma* spp. em parque público do município de Taciba, São Paulo. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v.37, n.2, p.179-181, mar. 2004.

SCAINI,C.J; TOLEDO, R.N; LOVATEL, R; DIONELLO, M.A; GATTI, F.A; SUSIN, L; SIGNORINI, V.R.M. Contaminação ambiental por ovos e larvas de helmintos em fezes de cães na area central do Balneário Cassino, Rio Grande do Sul. **Revista da sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n.5, p. 617-619, 2003.

SILVA FRANCISCO, M.M.; CARVALHO SILVA, R.; VALENTE DE FIGUEIREDO, D.L.; SOUZA, J.N.; DIAS RAMALHO, P.C.; CAETANO, A.L. Prevalência de ovos e larvas de *Ancylostoma* spp. e de *Toxocara* spp. em praças públicas da cidade de Anápolis-GO. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. XII, Nº. 1, 2008.

SOULSBY, E.J.L. Parasitología y enfermedades parasitarias em los animales domésticos. **Intramericana**, Mexico, 823p.1987.

TRAUB, R.J.; INPANKAEW, T.; SUTTHIKOMCHAI, C.; SUKTHANA, Y.; THOMPSON, R.C. PCR-based coprodiagnostic tools reveal dogs as reservoirs of zoonotic ancylostomiasis caused by *Ancylostoma ceylanicum* in temple communities in Bangkok. **Veterinary Parasitology**, v. 155, p.67-73, 2008.

VAN WYK, J.A.; VAN WYK, L. Freezing of sheep faeces invalidates *Haemonchus contortus* faecal egg counts by the McMaster technique. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.69(4), p.299-304, 2002.

VELHO, P.E.N.F.; FARIA, A.V.; CINTRA, M.L.; SOUZA, E.M.; MORAES, A.M. Larva Migrans : A case report and review. **Revista do Instituto de Medicina tropical de São Paulo**, v.45, n.3, p.167-171, 2003.

2 CAPÍTULO II

AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DE OVOS DE *Trichuris vulpis* EM DIFERENTES TEMPERATURAS E DE INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE CÃES

2.1 INTRODUÇÃO

Cães são os hospedeiros definitivos de *Trichuris vulpis*, um nematóide gastrintestinal, que causa a doença conhecida como tricuriase que pode causar sintomas, tais como, anorexia, baixo ganho de peso, perda de peso, anemia, desidratação e até evoluir a óbito, dependendo da carga parasitária do animal (BARUTZKI;SCHAPER, 2003).

T.vulpis, vulgarmente conhecido como verme chicote caracteriza-se por um ciclo de vida direto e pela resistência de seus ovos, que podem permanecer infectantes no ambiente por muitos anos (VENCO et al., 2011).

Nas últimas décadas uma série de estudos sobre a epidemiologia de parasitas de cães vem sendo realizados em diferentes países; como Alemanha, Argentina e Nigéria (BARUTZKI, SCHAPER, 2003; FONTANARROSA et al, 2006; UGBOMOIKO et al, 2008).

O contato com fezes ou solo que contenham ovos embrionados de *T. vulpis*, serve como fonte de infecção e possivelmente o desenvolvimento da Síndrome Larva Migrans Visceral, antes só atribuída ao *Toxocara canis*. Os sintomas clínicos são dependentes da severidade da infecção e da extensão dos tecidos envolvidos. Estudos da morfologia e imunoeletroforético do nematóide confirmaram caso de Larva Migrans Visceral causada por *T. vulpis* (MASUDA et al., 1987).

No Brasil, são poucos os estudos sobre a biologia de *Trichuris vulpis* envolvendo desenvolvimento e sobrevivência de ovos em baixas temperaturas e infecção experimental em cães adultos com diferentes números de ovos embrionados. Desta forma com o objetivo de contribuir para o conhecimento sobre *T.vulpis* elaboramos este estudo.

A elucidação sobre aspectos da biologia, incluindo o período pré-patente, são necessários para criar estratégias de controle, com isso, será possível reduzir a infecção de *T.vulpis*, tendo em vista que, o nematóide tem ampla distribuição mundial e grande importância em Medicina Veterinária e Saúde pública.

2.2 REVISÃO DE LITERATURA

2.2.1 *Trichuris vulpis* (Froelich, 1789)

Trichuris vulpis é um nematóide que habita o intestino grosso de canídeos silvestres, tais como, chacais, lobos e raposas e de cães domésticos (KIRKOVA et al, 2006) . É um geohelminto com ciclo de vida direto e seus hospedeiros tornam-se infectados com a ingestão de ovos contendo a larva infectante. O efeito patogênico de *T. vulpis* sobre seus hospedeiros está totalmente elucidado (KIRKOVA; DINEV, 2005).

São pequenos nematóides que compreendem 4,5 a 7,5 cm e a sua cauda possui um quarto do comprimento de todo o corpo (BOWMAN et al, 2002).

Ovos de *T. vulpis*, têm sido encontrados em amostras de terra de parques e em fezes de cães em outros ambientes públicos (DUNN et al., 2002), logo, a contaminação ambiental por fezes de animais infectados é o principal fator de disseminação deste nematóide. Os ovos do de *Trichuris* são formados por três camadas distintas favorecendo a resistência a fatores ambientais (FILLIPIS; NEVES, 2010), por muitos anos, o que aumenta a taxa de infecção , dificultando o controle da tricuriase (TRAVERSA, 2011).

2.2.2 Ciclo biológico de *T. vulpis*

Os cães se infectam ao ingerir ovos larvados com a L₁ (forma infectante) no ambiente, no intestino delgado eclodem as L₁ que penetram na mucosa onde sofrem três mudas, se direcionam para o lúmen e se fixam com sua extremidade anterior mais fina na mucosa, e atingem a maturidade sexual em 30-107 dias (KIRKOVA; DINEV, 2005).

2.2.3 Período Pré-patente de *T.vulpis*

O período pré-patente foi determinado após infecção experimental em sete cães, variando entre 10 a 12 semanas, com média de 11 semanas (RUBIN, 1954). Em estudos realizados por Kirkova et al (2006), o período pré-patente variou entre 14 a 16 semanas.

2.2.4 Perfil hematológico de cães infectados por *T.vulpis*

Em cães infectados, elevados valores de hemoglobina e hemoglobina corpuscular média foram observadas entre 60 e 207 dias pós - infecção, diminuição do Volume corpuscular médio entre os dias 15 e 35 e nenhuma alteração no volume globular, valores de índice de hemoglobina e morfologia das células vermelhas do sangue. Além disso, uma leucocitose com eosinofilia, neutrofilia (elevação dos neutrófilos), linfocitopenia e aprimorados taxa de sedimentação eritrocítica foram encontrados (KIRKOVA ; PETKOV; GOUNDASHEVA, 2005).

2.2.5 Frequência de ovos de *T. vulpis* em praças no Brasil

Vários estudos vêm sendo realizados com o objetivo de se conhecer a frequência de *T. vulpis* no Brasil, destacando-se:

- Rio Grande do Sul, em Balneário Cassino, 237 amostras coletadas, sendo 9,7% positivas para *T. vulpis* (SCAINI et al, 2003).
- São Paulo, em Ribeirão Preto, 331 pools de fezes, tendo 15,7% de amostras positivas para *T. vulpis* (CAPUANO; ROCHA, 2006).
- Santa Catarina, em Itapema, 150 amostras fecais de cães foram coletadas em Meia-Praia, observou-se três (2 %) amostras positivas para *Trichuris* spp. (LEITE et al., 2006).
- São Paulo, em Araçatuba em 65 cães eutanaziados, treze (20%) cães albergavam de 1 a 29 espécimes de *T. vulpis* (BRESCIANI et al., 2008).
- Góias, em Goiânia, 201 amostras fecais, observou-se que duas (1%) por *T. vulpis* (OLIVEIRA et al., 2009).
- Rio de Janeiro, 204 amostras de fezes, cinco amostras foram positivas para *T. vulpis* (2,5%) (VASCONCELLOS et al., 2006).

O conhecimento da prevalência e incidência dos parasitas de animais domésticos que possuem caráter zoonótico é fundamental para o planejamento e elaboração de medidas profiláticas, visando tanto o bem-estar e a sanidade do animal quanto a saúde pública (BRENER et al., 2005).

A implementação de medidas preventivas de controle, como prevenção da defecação em áreas públicas, controle de cães errantes, promoção de leis protetoras de áreas públicas, além de tratamento periódico de cães levariam a diminuição da atual situação (ALMEIDA et al, 2007).

2.2.6 Influência da temperatura no desenvolvimento dos ovos

A temperatura de 4,4°C a 5,7° C não ocorreu desenvolvimento de ovos, mas quando transferidos para 33,3°C a 38,8° C as L₁ logo se desenvolveram. A 25,4°C a 32,2°C e 33,3°C à 38,8°C rápido desenvolvimento da larva foi observado com formação de L₁ em nove a dez dias . A temperatura de 44,4°C não foi letal, mas foram necessários 19 dias para a formação de L₁. A 48,3° C não ocorreu evolução até L₁ e os efeitos foram letais em 12 dias (RUBIN, 1954).

Os ovos alcançam o estágio infectante em três semanas, em condições favoráveis, contudo, o desenvolvimento pode ser prolongado em baixas temperaturas, como entre 6 a 20°C, pois o desenvolvimento está relacionado com a composição do solo e da temperatura (SOULSBY, 1982).

Foi observado que, mesmo quando ovos *T. vulpis* são expostos a temperaturas extremas a viabilidade do ovo não é afetada (TRAVERSA, 2011).

Em estudos sobre a flutuação sazonal em prevalência de nematóides gastrintestinais de cães com potencial zoonótico, *T. vulpis* se mostrou prevalente nas diferentes estações exceto no outono, estação na qual se mostrou menos prevalente, indicando que o parasita se adapta a diferentes temperaturas (ANDRESIUK, 2007).

2.3 OBJETIVOS

2.3.1 Objetivo geral

- Avaliar a influência da temperatura sobre as diferentes fases de desenvolvimento de ovos de *T.vulpis* de cães naturalmente e experimentalmente infectados.

2.3.2 Objetivos específicos

- Verificar o OPG de amostras de fezes estocadas sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$, -4°C e recém coletadas em diferentes estações;
- Observar o desenvolvimento dos ovos de *T.vulpis* estocados sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C e posteriormente mantidos à $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 30°C , em diferentes estações do ano;
- Investigar se a quantidade de 500, 1.000 e 1.500 de ovos de *T.vulpis* é capaz de estabelecer infecção em animais livres de nematóides;
- Verificar o OPG individual de cães experimentalmente infectados para o conhecimento da carga parasitária em relação à quantidade de ovos inoculados e para o conhecimento do tempo de duração da infecção;
- Investigar o perfil hematológico para notar as possíveis alterações sanguíneas causadas pela infecção experimental de *T.vulpis*;
- Observar o desenvolvimento de ovos de *T.vulpis* provenientes de fezes de cães experimentalmente infectados para saber se existe diferença quando comparados com cães naturalmente infectados.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

2.4.1 Local

O estudo foi realizado no Laboratório de Helminologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

2.4.2 Animal

2.4.3 Doador

Foi utilizado cão naturalmente infectado por *T. vulpis* como doador de fezes, coletadas no outono e inverno de 2010 e verão de 2011 e nas diferentes estações do ano de 2011 (outono, inverno e primavera) no período de abril a dezembro. Esse animal foi mantido em baia individual, sendo fornecido água *ad libitum* e ração uma vez ao dia.

2.4.4 Infecção experimental

Cães (n=4) que viviam em baias de alvenaria e apresentavam boas condições de saúde, pesando entre 17 a 20 Kg, tinham livre acesso à água e ração, foram cedidas pelo Laboratório de Hemoparasitos e vetores da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Duas semanas antes da infecção, as cadelas foram separadas em gaiolas metálicas para a coleta de fezes individuais e administrado vermífugo oral de amplo espectro composto por Pamoato de Pirantel, Pamoato de Oxantel e Prazinquantel (Petzi Plus) suspensão dose única de acordo com o peso do animal para eliminação de helmintos gastrintestinais. Foi realizado exame hematológico e constatado que animais não estavam infectados com hemoparasitos. Duas semanas após a vermifugação foi realizada coleta de fezes individuais e constatado que animais estavam livres de helmintos gastrintestinais (OPG zero).

2.4.5 Delineamento experimental

O objetivo do trabalho foi avaliar os estágios de desenvolvimento de ovos de *T. vulpis* e a influência da temperatura sobre os estágios de desenvolvimento de ovos de *T. vulpis* de cão naturalmente infectado.

2.4.6 Estocagem de amostras de fezes à $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $- 4^{\circ}\text{C}$, OPG e recuperação de ovos de *T. vulpis*

Amostras de fezes foram coletadas em recipientes pré-identificados durante cada estação para obtenção de 720 gramas, após homogeneização, uma amostra de quatro gramas foi retirada para avaliação do OPG pela técnica de McMaster (GORDON; WHITLOCK, 1939). Um total de 36 amostras, com 15 gramas cada, foram submetidas a baixas temperaturas, sendo 18 mantidas sob refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e 18 sob congelamento (-4°C), em duplicata. Semanalmente, uma amostra mantida a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e outra a -4°C foi processada e realizados o OPG e a recuperação de ovos através da técnica de flutuação (RODRIGUES;

HONER, 1985). Os ovos recuperados de cada amostra foram colocados em placa de Petri e imediatamente levados ao microscópio de luz, e 100 ovos foram contados e avaliados quanto ao estágio de desenvolvimento. Os ovos recuperados de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C foram mantidos em placas de Petri à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) e outra amostra a 30°C (BOD).

2.4.7 Avaliação das fases de desenvolvimento de ovos de *T. vulpis*

Imediatamente após a recuperação dos ovos foi realizada a avaliação das fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis*, e após três, sete, dez, 15, 20, 25 e 30 dias (observações) os ovos foram novamente avaliados e classificados conforme seu estágio de desenvolvimento.

2.4.8 Infecção experimental em cães

Ovos de *T. vulpis* recuperados de fezes de cão naturalmente infectado foram mantidos em meio aquoso sem adição de qualquer substância em temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) até a observação da larva infectante. Três animais foram infectados via oral com quantidade de 500, 1.000 e 1.500 ovos embrionados de *T. vulpis* respectivamente com auxílio de pipeta de Pasteur, um cão permaneceu como controle. A idade dos ovos inoculados em cães variou entre 18 a 35 dias após o desenvolvimento da larva.

2.4.9 OPG de cães infectados experimentalmente por *T. vulpis*

A partir da sexta semana exames coprológicos foram realizados por pool de fezes através da técnica de McMaster (GORDON; WHITLOCK, 1939) com a finalidade de observar a eliminação de ovos. E a partir da 11^a semana os animais foram separados em baias individuais e o OPG passou a ser individualizado para estimar a carga parasitária em relação à quantidade de ovos de *T. vulpis* inoculados, e conhecer a duração da infecção.

2.4.9.10 Perfil hematológico de cães infectados

Foram realizados hemogramas durante uma, três, seis, nove, doze e quinze semanas pós-infecção com o objetivo de verificar possíveis alterações causadas pela infecção experimental de *T. vulpis*.

2.4.10.11 Avaliação das fases de desenvolvimento de ovos de *T. vulpis* de cães experimentalmente infectados

Imediatamente após a recuperação dos ovos foi realizada a avaliação das fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis*, e após três, sete, dez, 15, 20, 25 e 30 dias (observações) os ovos foram novamente avaliados e classificados conforme seu estágio de desenvolvimento.

2.4.10.12 Análise estatística

Foi utilizado o teste de Mann-Whitney e t – Student para obtenção de valores médios das diferentes fases de desenvolvimento de *T. vulpis* durante cada estação. O Programa estatístico utilizado foi o Bioestat versão 5.0.

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.5.1 Avaliações de OPG de amostras de fezes estocadas sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$, $- 4^{\circ}\text{C}$ e recém coletadas em diferentes estações

Observou-se que nas fezes mantidas a $- 4^{\circ}\text{C}$ o valor para OPG foi mais elevado, e que houve uma acentuada variação nesses valores para as fezes frescas.

Tabela 1. Valores de OPG's semanal de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a $- 4^{\circ}\text{C}$, e de fezes recém-coletadas, no período do Outono. O OPG inicial foi de 5.200 em 18/4/2011.

Data	OPG		
	Recém-coletadas	$\pm 10^{\circ}\text{C}$	$- 4^{\circ}\text{C}$
25/4 (7d)	9.100	8.550	6.650
02/5 (14d)	4.200	3.050	7.300
09/5 (21d)	9.150	7.200	7.850
16/5 (28d)	4.650	6.500	6.400
24/5 (35d)	1.500	5.500	9.550
31/5 (42 d)	1.750	4.150	7.400
07/6 (49d)	2.800	3.500	5.300
13/6 (56d)	1.900	5.350	10.650
20/6 (65d)	3.150	7.100	8.650

Observou-se que nas fezes mantidas a - 4°C o valor para OPG foi mais elevado. Nos OPG's de fezes frescas do inverno observou-se que ocorreu variação durante toda a estação com picos em final de julho e início de agosto o que pode estar relacionado com as condições climáticas, devido à temperatura ser mais baixa (no período seco de abril a setembro).

Tabela 2 Valores de OPG's semanal de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a - 4°C, e de fezes recém-coletadas, no período do Inverno. O OPG inicial foi de 2.350 em 28/7/2011.

Datas	OPG		
	Recém-coletadas	$\pm 10^{\circ}\text{C}$	-4°C
7 dias (05/7)	1.650	3.450	2.850
14 dias (11/7)	1.600	3.600	4.700
21 dias (18/7)	1.950	4.150	3.700
28 dias (25/7)	3.800	3.200	4.700
35 dias (01/8)	3.800	3.200	2.900
42 dias (08/8)	1.900	3.800	2.800
49 dias (15/8)	1.700	1.700	4.850
56 dias (22/8)	2.100	1.850	3.500
65 dias (29/8)	2.000	4.150	3.000
72 dias (05/9)	2.900	2.350	3.500
79 dias (12/9)	2.400	2.850	3.650
86 dias (19/9)	2.000	2.100	3.750

Observou-se que os valores de OPG de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ oscilou de 2.000 a 3.000 e o das amostras a $- 4^{\circ}\text{C}$ variou de 1.900 a 3.300. Nos OPG's de fezes frescas da primavera o OPG variou de 1.700 a 2.300.

Tabela 3 Valores de OPG's semanal de fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a $- 4^{\circ}\text{C}$, e de fezes recém-coletadas, no período da Primavera. O OPG inicial foi de 3.100 em 29/10/2011.

Datas	OPG		
	$\pm 10^{\circ}\text{C}$	-4°C	Recém coletadas
7 dias (06/10)	2.900	2.700	2.100
14 dias (13/10)	3.000	3.300	1.800
21 dias (20/10)	2.800	2.900	1.900
28 dias (27/10)	2.000	1.900	1.700
35 dias (03/11)	2.500	2.300	1.900
42 dias (10/11)	2.900	2.700	2.300.
49 dias (17/11)	2.700	2.100	1.800

2.5.2 Avaliações preliminares: desenvolvimento dos ovos em duas diferentes temperaturas

Na tabela 4 estão apresentados os resultados sobre a avaliação de ovos recuperados e mantidos em $\pm 25^{\circ}\text{C}$, foi observado o desenvolvimento de larva em 26 dias, enquanto que os mantidos sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ não ocorre desenvolvimento.

Tabela 4. Datas de observações das fases do desenvolvimento de ovos de *T.vulpis* recuperados de fezes frescas e mantidos em $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $\pm 25^{\circ}\text{C}$ a partir de 25/05/2010 até a observação de ovos larvados.

Data	$\pm 25^{\circ}\text{C}$	$\pm 10^{\circ}\text{C}$
28/5 (3 d)	Mórula	Unicelulares
31/5 (6 d)	Mórula	Unicelulares
07/6 (13 d)	Mórula	Unicelulares
10/6 (16 d)	Mórula	Unicelulares
17/6 (23 d)	Gástrula	Unicelulares
21/6 (26 d)	Ovos larvados	Unicelulares

Na tabela 5 observa-se que ovos recuperados e mantidos em $\pm 25^{\circ}\text{C}$ foi notado o desenvolvimento de larva em 29 dias, enquanto que os mantidos sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ não ocorre desenvolvimento.

Tabela 5 . Avaliação do desenvolvimento dos ovos de *T.vulpis* recuperados de fezes frescas e mantidos em $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $\pm 25^{\circ}\text{C}$ a partir de 07/09/2010 até a observação de ovos larvados.

Datas	$\pm 25^{\circ}\text{C}$	$\pm 10^{\circ}\text{C}$
13/9 (6d)	Mórula	Unicelulares
17/9 (10d)	Mórula	Unicelulares
20/9 (13d)	Mórula	Unicelulares
22/9 (15d)	Mórula	Unicelulares
24/9 (17d)	Gástrula	Unicelulares
28/9 (20d)	Gástrula	Unicelulares
07/10 (29d)	100% ovos larvados	Unicelulares

Observou-se que ovos recuperados e mantidos em $\pm 25^{\circ}\text{C}$ foi observado o desenvolvimento de larva em 11 dias, mais rápido quando comparados a outras observações, mostrando que a temperatura tem influência no desenvolvimento da larva, confirmando com Rubin (1954), enquanto que os mantidos sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ não ocorreu desenvolvimento (tabela 6).

Tabela 6 . Avaliação do desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis* recuperados de fezes frescas mantidos em $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $\pm 25^{\circ}\text{C}$ a partir de 30/01/2011 até a observação de ovos larvados (dados preliminares).

Data	$\pm 25^{\circ}\text{C}$	$\pm 10^{\circ}\text{C}$
Dia 01/02 (2d)	Mórula	Unicelulares
Dia 03/02 (4d)	Mórula	Unicelulares
Dia 07/02 (8d)	Gástrula	Unicelulares
Dia 09/02 (10d)	Gástrula formação nítida da larva	Unicelulares
Dia 10/02 (11d)	100 % dos ovos larvados	Unicelulares

2.5.3 Avaliação do desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis* estocados em baixas temperaturas, na Estação do Outono

- Amostras estocadas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$

Observou os resultados de ovos mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$, aos 30 dias após cada recuperação, nota-se que grande parte dos ovos não embrionaram e apenas na última observação houve 100% dos ovos larvaram, no período o percentual de ovos larvados variou entre 15 a 100%. Pode-se afirmar que a temperatura não estimulou o desenvolvimento de larvas após estoque das amostras sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ mesmo estando os ovos mantidos na faixa de temperatura favorável para embrionamento citada por Rubin (1954) (tabela de dados em anexo).

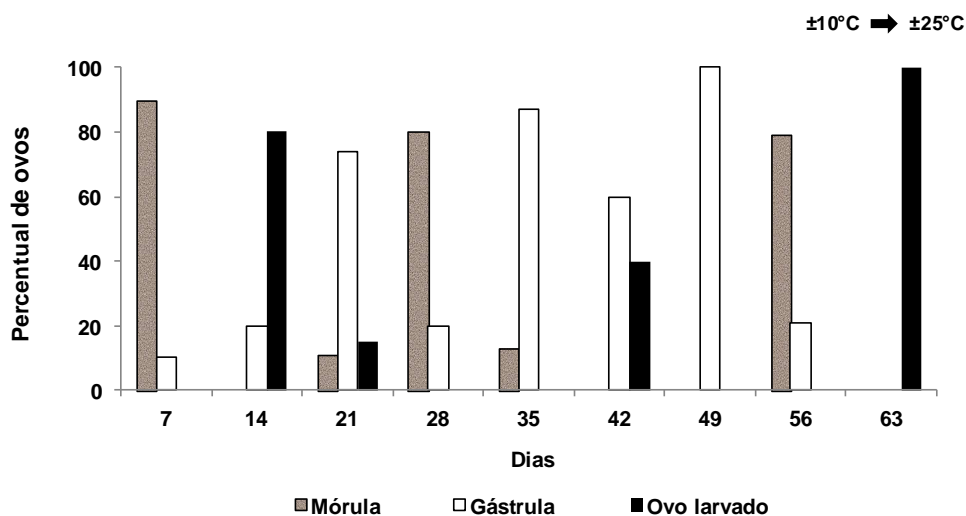


Figura 1. Influência do tempo de estocagem à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ (refrigeração) e estímulo a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis*, no período de sete a 63 dias no Outono.

Observou-se os resultados de ovos mantidos a 30°C , aos 30 dias após cada recuperação, o percentual de ovos embrionados variou de 0 a 100%. Observa-se número de ovos larvados aos 30 dias foi maior quando comparado aos mantidos à $\pm 25^{\circ}\text{C}$, mostrando que a 30°C houve um estímulo ao desenvolvimento da larva após o estoque de amostras de fezes à $\pm 10^{\circ}\text{C}$. Esta temperatura está de acordo com a temperatura favorável ao desenvolvimento de larvas citada por Rubin (1954) (tabela de dados em anexo).

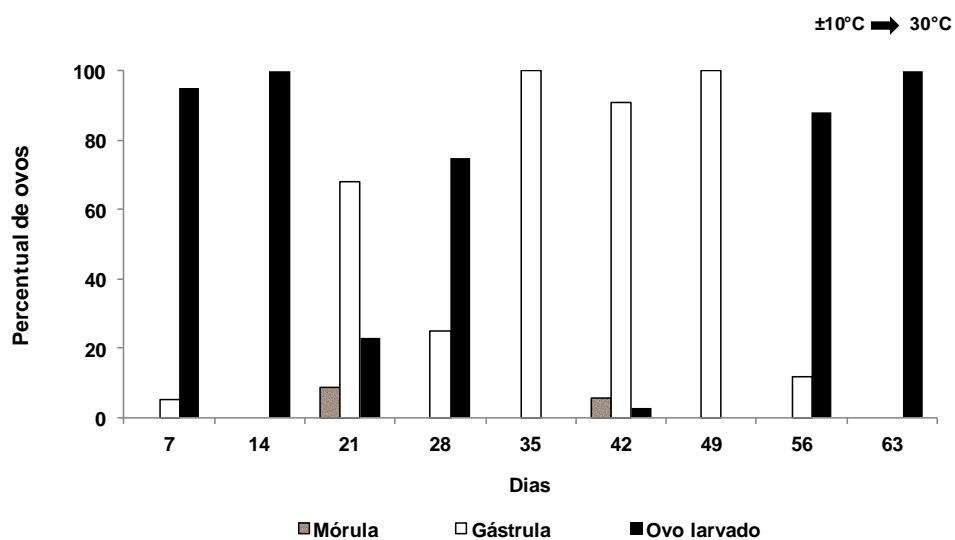


Figura 2. Influência do tempo de estocagem à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ (refrigeração) e estímulo a 30°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis*, no período de sete a 63 dias no Outono.

- **Amostras estocadas à -4°C**

Observou-se os resultados de ovos mantidos à $\pm 25^{\circ}\text{C}$, aos 30 dias após cada recuperação, a taxa de embrionamento dos ovos foi de 0 a 61%. Nota-se que à $\pm 25^{\circ}\text{C}$ o estímulo ao desenvolvimento foi baixo visando que apenas quatro observações obtiveram ovos larvado, não sendo a temperatura capaz de estimular ovos larvados (tabela de dados em anexo).

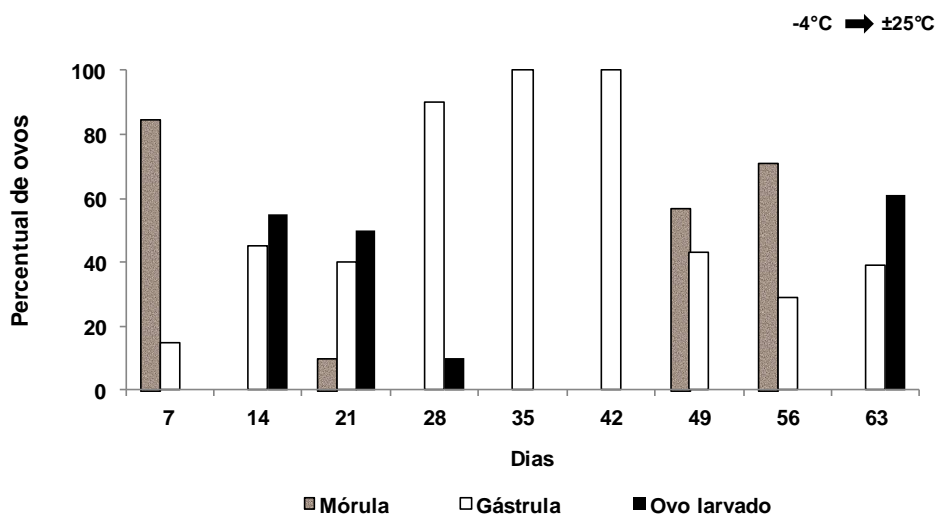


Figura 3. Influência do tempo de estocagem à temperatura de -4°C e estímulo a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis*, no período de sete a 63 dias no Outono.

Observou-se os resultados de ovos mantidos a 30°C, aos 30 dias após cada recuperação, variou de 25 a 100% a taxa de embrionamento, com destaque para sete observações que tiveram taxa de embrionamento entre 61 a 100%, afirmando que esta temperatura tem maior influência no desenvolvimento da larva em ovos estocados a -4°C (tabela de dados em anexo).

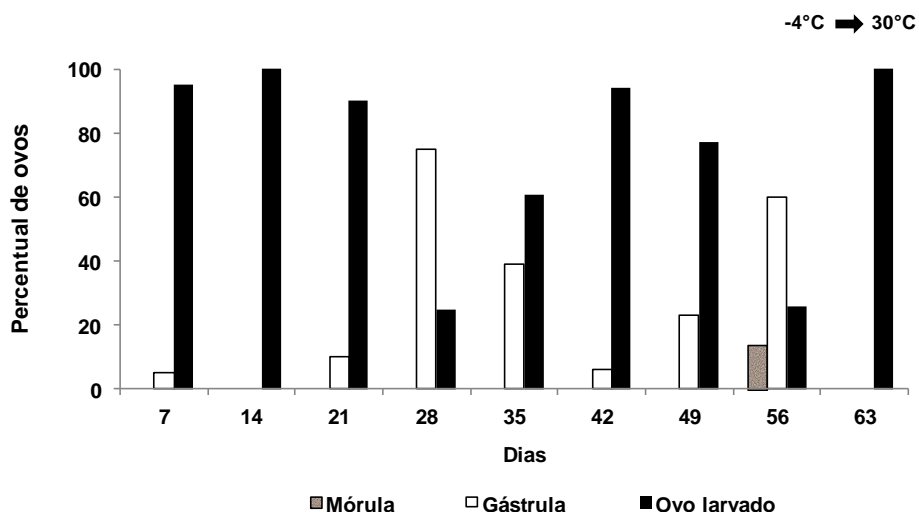


Figura 4. Influência do tempo de estocagem à temperatura de -4°C e estímulo a 30°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis*, no período de sete a 63 dias no Outono.

2.5.4 Avaliação do desenvolvimento dos ovos de *T.vulpis* estocados em baixas temperaturas, no Inverno

- Amostras estocadas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$

Observou-se os resultados de ovos mantidos a 25°C, aos 30 dias após cada recuperação, o percentual de embrionamento de ovos foi entre 3 a 100%. Com destaque para apenas duas observações que não foi registrada a presença de ovos larvados. Nota-se que houve um estímulo maior ao desenvolvimento de larvas quando comparados ao período do outono (tabela de dados em anexo).

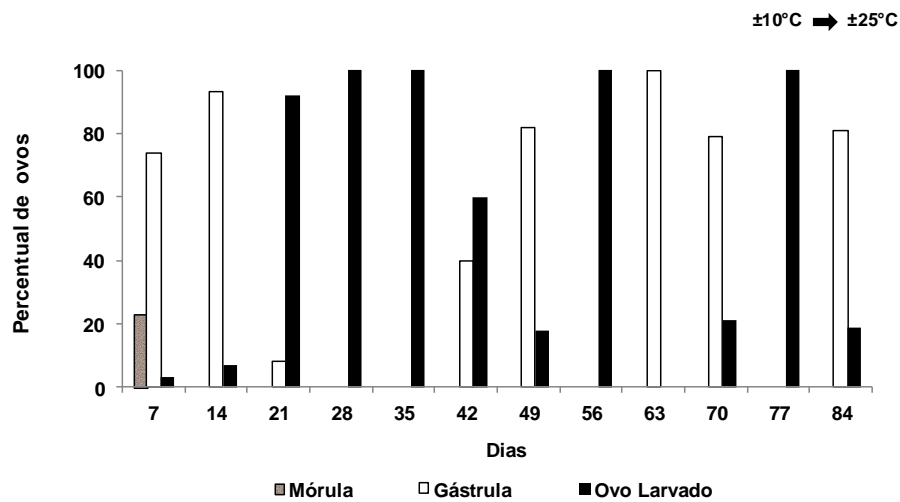


Figura 5. Influência do tempo de estocagem à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e estímulo a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis*, no período de sete a 84 dias no Inverno.

Observou-se os resultados de ovos mantidos a 30°C , aos 30 dias após cada recuperação, o percentual de ovos embrionados variou de 65 a 100%. Das doze observações realizadas, nove tiveram 100% de ovos embrionados. A temperatura de 30°C está entre a faixa favorável ao desenvolvimento da larva citada por Rubin (1954) estimulou em grande parte os ovos desse período (tabela de dados em anexo).

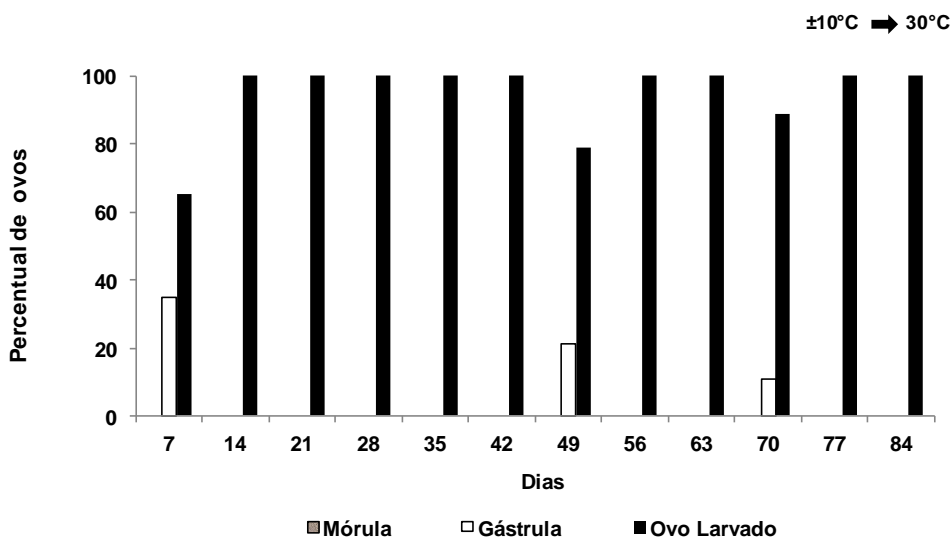


Figura 6. Influência do tempo de estocagem à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e estímulo a 30°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis*, no período de sete a 84 dias no Inverno.

- **Amostras estocadas a -4°C**

Notou-se que entre as doze observações realizadas, quatro não tiveram ovos larvados e em oito observações a taxa de ovos larvados variou de 2 a 100%, sendo que somente uma observação alcançou 100% de ovos larvados (tabela de dados em anexo).

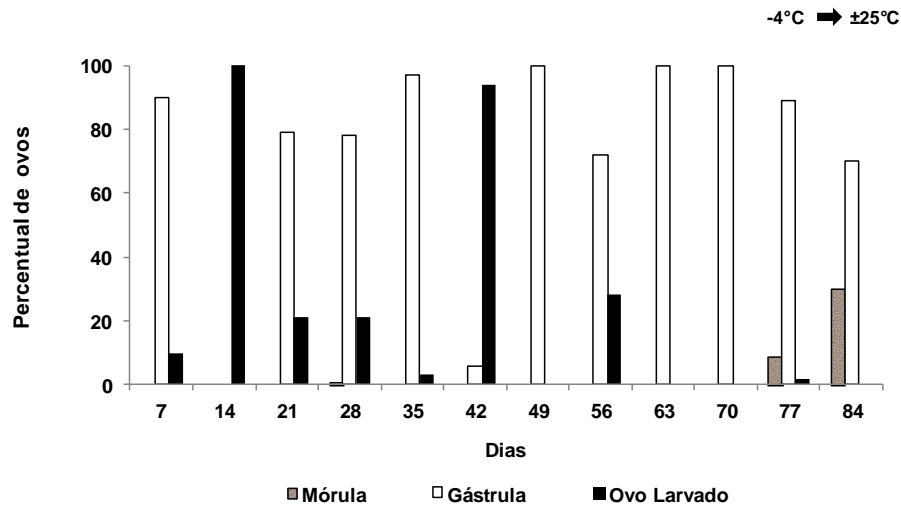


Figura 7. Influência do tempo de estocagem à temperatura de -4°C e estímulo a ±25°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis*, no período de sete a 84 dias no Inverno.

Observou-se os resultados de ovos mantidos a 30°C, a taxa de ovos embrionados variou entre 20 a 100%, apenas em três observações não foi observada a presença de ovos larvados. Percebeu-se que a 30°C a taxa de embrionamento dos ovos foi maior que em ovos mantidos a ±25°C (tabela de dados em anexo).

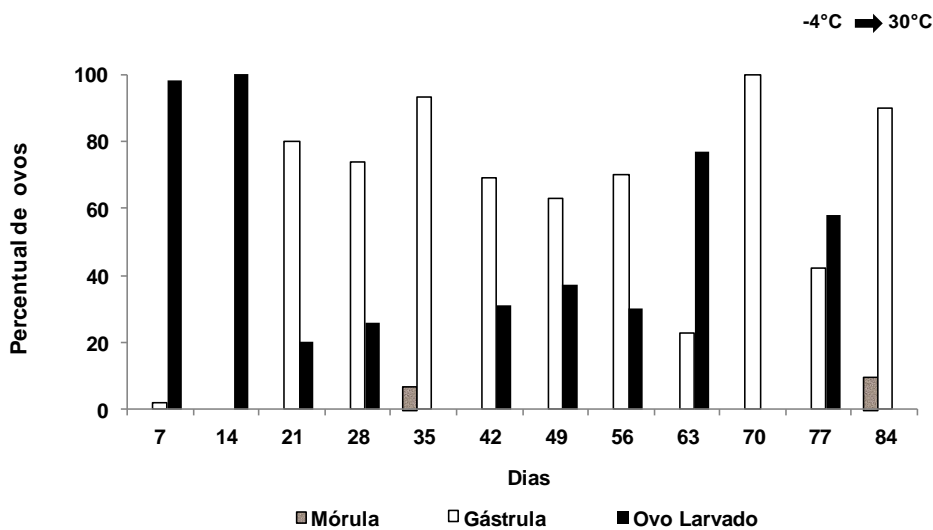


Figura 8. Influência do tempo de estocagem à temperatura de -4°C e estímulo a 30°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis*, no período de sete a 84 dias no Inverno.

2.5.5 Avaliação do desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis* estocados em baixas temperaturas, na Primavera.

- Amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$

Observou-se um elevado percentual de ovos larvados aos 30 dias para os ovos mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$. Este resultado demonstra que a temperatura estimulou o desenvolvimento de larvas conforme citado por Rubin (1954) (tabela de dados em anexo).

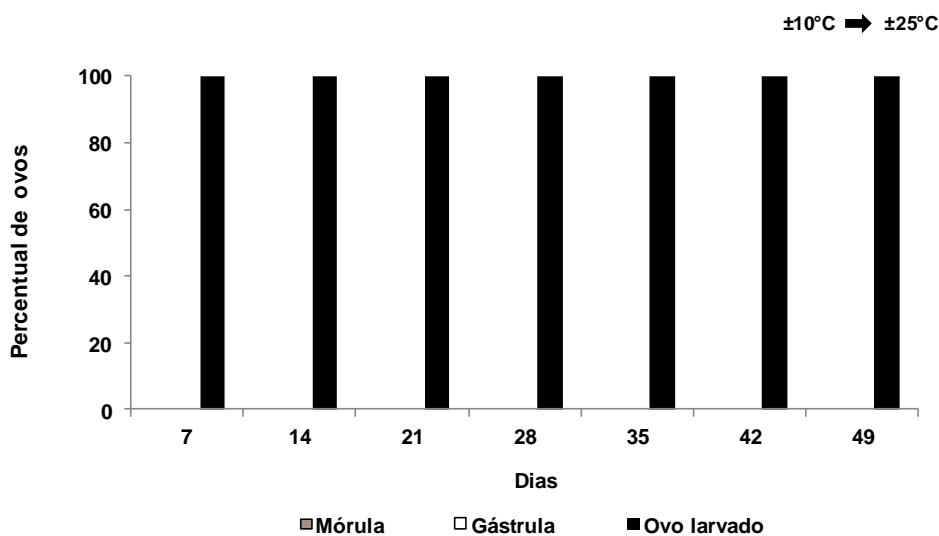


Figura 9. Influência do tempo de estocagem à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e estímulo a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis*, no período de sete a 49 dias na Primavera.

Nos ovos mantidos a 30°C , notou-se que todos larvaram aos 20 dias, destacando que o estímulo de 30°C diminui o tempo requerido para embrionamento dos ovos neste período. Esta temperatura é favorável ao desenvolvimento conforme verificado anteriormente por Rubin (1954) (tabela de dados em anexo).

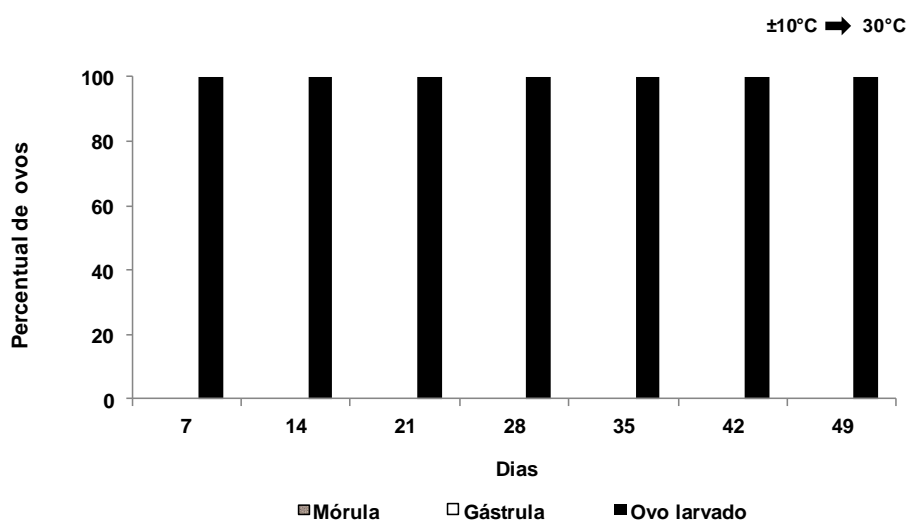


Figura 10. Influência do tempo de estocagem à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e estímulo a 30°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis*, no período de sete a 49 dias na Primavera.

- Amostras a -4°C

Observou-se que ovos mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ após estoque sob baixas temperaturas alcançou 100% de ovos larvados aos 25 dias após recuperação. Este resultado revela que o estímulo da temperatura observada foi favorável ao desenvolvimento de L_1 em ovos de *T. vulpis* (tabela de dados em anexo).

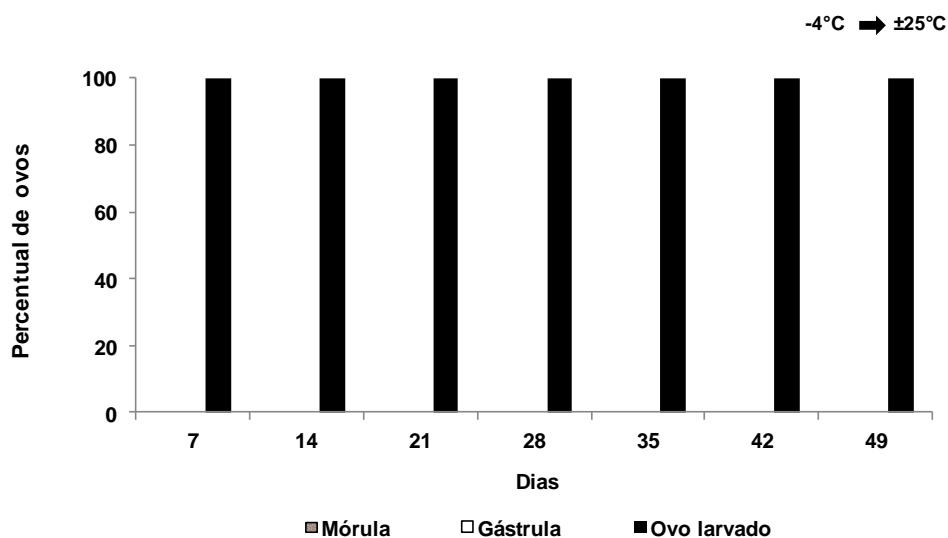


Figura 11. Influência do tempo de estocagem à temperatura de -4°C e estímulo a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis*, no período de sete a 49 dias na Primavera.

Em ovos mantidos a 30°C , também foi notado que 100% de todos os recuperados no período atingiram 100% de ovos larvados, demonstrando que a faixa de temperatura observada foi capaz de estimular o desenvolvimento dos ovos após serem submetidos a baixas temperaturas (tabela de dados em anexo).

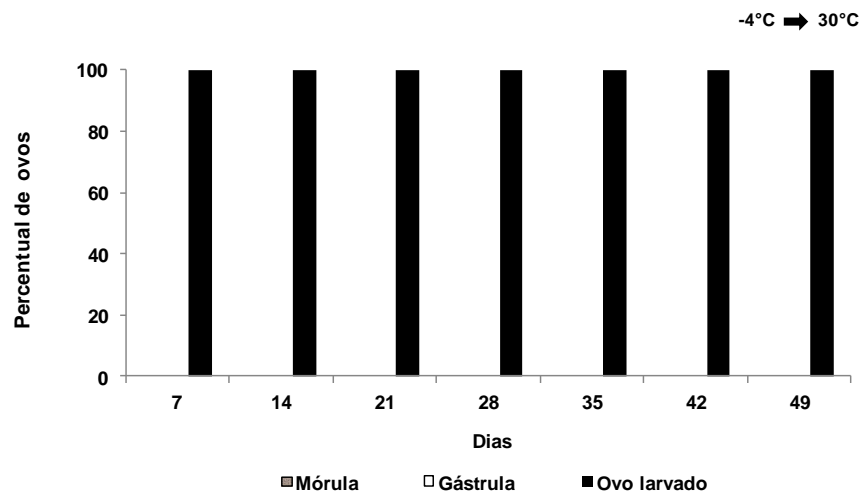


Figura 12. Influência do tempo de estocagem à temperatura de -4°C (congelamento) e estímulo a 30°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis*, no período de sete a 49 dias na Primavera.

2.5.6 Infecção experimental em cães

Na 11^a semana (79 dias) observou-se a eliminação de ovos de *T.vulpis* nas fezes de dois cães e a partir daí OPG passou a ser individual.

Tabela 7- Quantidade de ovos larvados inoculados em cães infectados por *T.vulpis* e resultado do OPG individual semanal de cães.

Cães	Número de ovos larvados	OPG									
		11 ^a	12 ^a	13 ^a	14 ^a	18 ^a	19 ^a	20 ^a	24 ^a	28 ^a	30 ^a
1	500	-	-	-	-	#	#	#	#	#	#
2	1.000	3.000	17.150	13.150	5.650	1.550	5.750	2.500	2.950	2.750	2.900
3	1.500	50	50	150	100	50	100	0	150	150	100

Neste estudo o período pré-patente estabeleceu-se a partir da 11^a semana, concordando com a faixa de tempo encontrada por Rubin (1954), que foi de 10 a 11,5 semanas, mas discordando do período, mais longo 3 semanas, descrito por Kirkova (2006) que estabeleceu o período de 15 a 16 semanas. Este fato pode ser explicado pelas variações climáticas que influenciam o desenvolvimento dos animais e dos parasitos e das diferenças individuais de cada animal, em várias regiões do mundo. Nos cães inoculados com 1.000 e 1.500 ovos de *T. vulpis* observou-se eliminação de ovos a partir da 11^a semana pós-infecção e o OPG variou de 17.150 a 1.550 (cão 2) e de 50 a 150 (cão 3). (Tabela 1). O cão infectado com 500 ovos não eliminou ovos de *T.vulpis* até a 14^a semana e ocorreu o óbito do animal sem relação com a infecção, necropsia foi realizada e nenhum *T. vulpis* adulto foi encontrado no intestino grosso e ceco do cão. Uma única fêmea de *T. vulpis* pode eliminar até 2.000 ovos por dia (Levine, 1980) e Reinecke (1983) considera infecção suave até 5.000 OPG; moderada de 5.000 a 25.000 e severa acima de 25.000 ovos. Desta forma consideramos a infecção obtida no presente estudo como baixa de acordo com Reinecke (1983).

2.5.6.1 Perfil hematológico de cães experimentalmente infectados

- **Número de hemácias**

Nos animais infectados ocorreu variação de 5.000 a 7.800 estando dentro dos valores de referência, com destaque para a redução na 3^a semana do cão infectado com 1.000 ovos de *T.vulpis*. Comparando com os valores de referência observou-se que apesar desta variação os valores estão dentro da faixa de referência que é de 5,5-8,5 μ L (BRUNO et al., 2006).

O aumento do número de hemácias também foi observado em estudos realizados por Kirkova (2005).

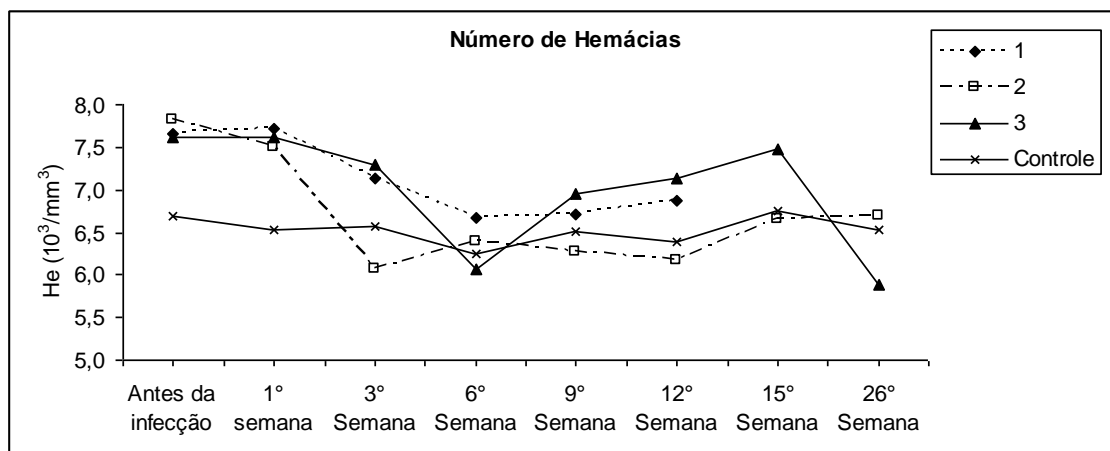


Figura 13. Número de hemácias em cães infectados por *T.vulpis* e controle durante o período pré-patente.

- **Volume globular**

Os valores para o volume globular dos cães infectados diminuiu com o tempo de infecção, com destaque para a queda acentuada no cão infectado com 1.500 ovos de *T.vulpis* na sexta semana e aumento progressivo entre a 9ª e 15ª semana e queda brusca na 26ª semana.

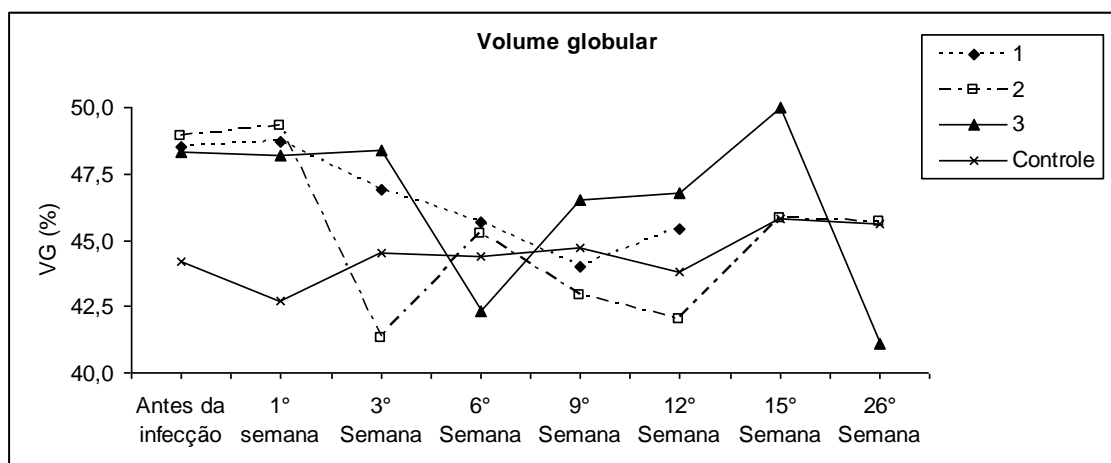


Figura 14. Volume globular de cães infectados por *T.vulpis* e controle durante o período pré-patente.

- **Concentração de hemoglobina corpuscular média**

A partir da 3ª semana os valores de concentração de hemoglobina corpuscular média houve pouca alteração e os valores de cães infectados e cão controle foram próximos. O valor de referência para cães é de 32 a 36 (g/dL). Os cães apresentaram valores na faixa do valor da partir da 2ª semana pós-infecção. Na avaliação hematológica realizada por Kirkova et al.(2005) observou uma diminuição na concentração de hemoglobina corpuscular média entre os dias 15 e 35 dias pós-infecção.

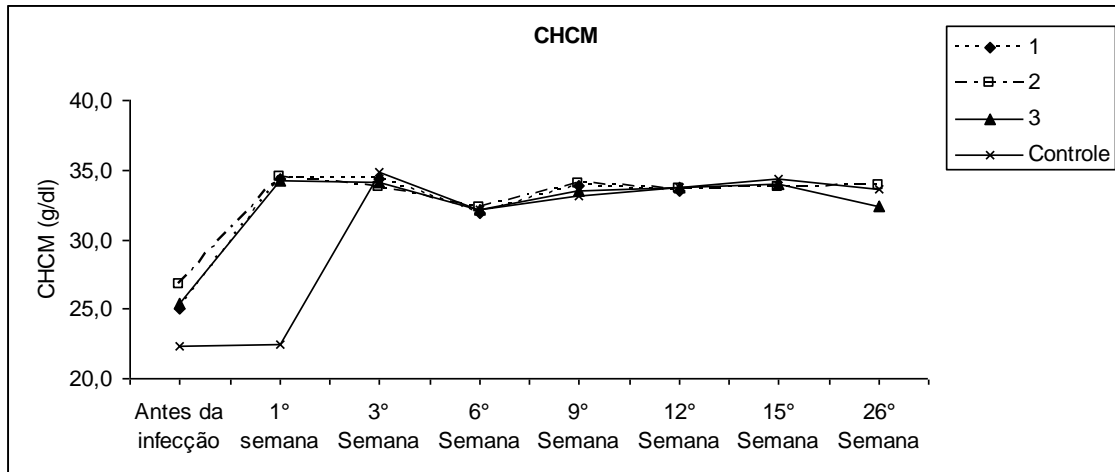


Figura 15. Concentração de hemoglobina corpuscular média em cães infectados por *T. vulpis* e controle durante período pré-patente.

- **Número de Plaquetas**

Os cães apresentaram variação nos valores de plaquetas dentro da faixa de referência de 200.000 a 500.000 μL (BRUNO et al., 2006). Na 3ª semana, cão infectado com 1.000 ovos apresentou queda brusca apresentando 193.000 plaquetas, número menor que os de referência. Nas demais análises, constatou-se a recuperação no número de plaquetas que se dentro dos valores de referência.

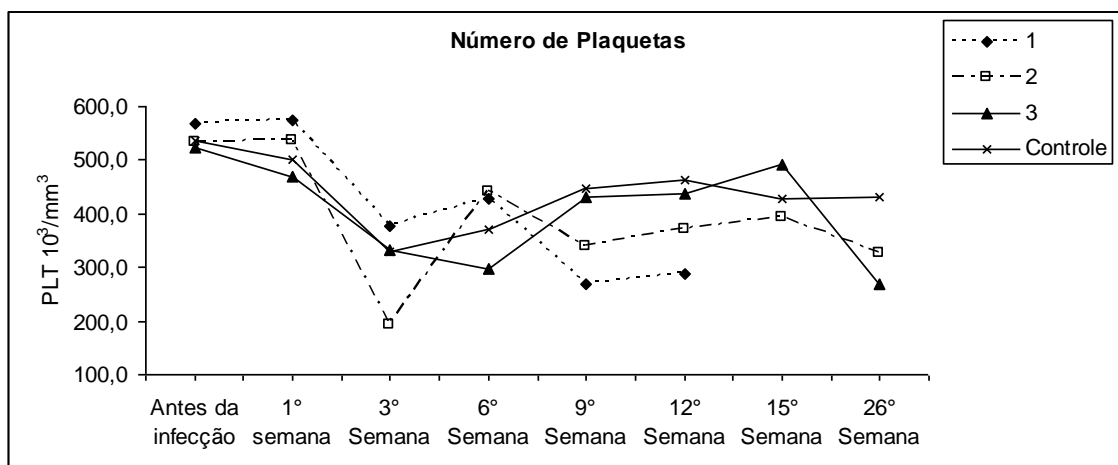


Figura 16. Número de plaquetas em cães infectados por *T. vulpis* e controle durante o período pré-patente.

- **Número de Linfócitos**

Na 26ª semana no cão que foi infectado com 1.500 ovos de *T.vulpis*, ultrapassando a faixa do ideal enquanto nos outros cães infectados e controle os valores pouco variaram permanecendo na faixa de referência para cães que é de 1.000 a 4.800 mm^3 .

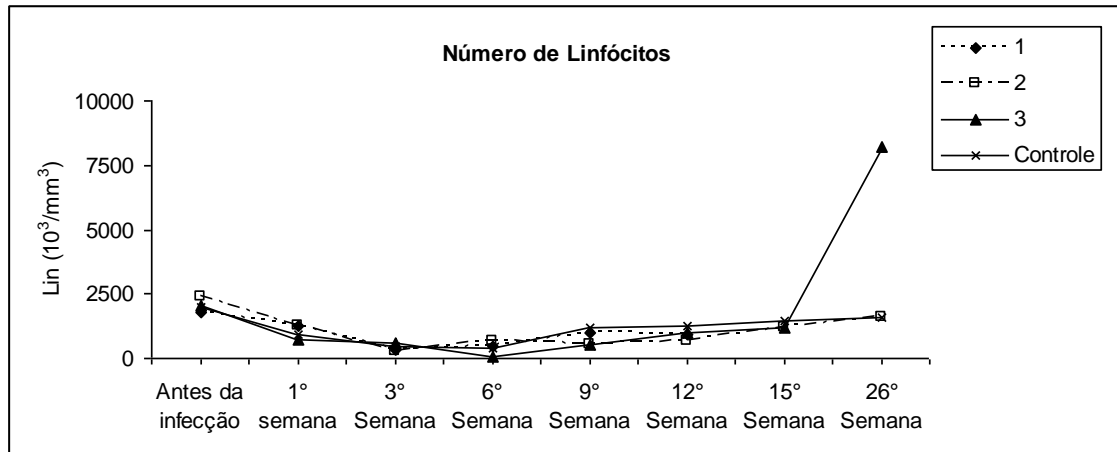


Figura 17. Número de linfócitos de cães infectados por *T. vulpis* e controle durante o período pré-patente.

- **Número de eosinófilos**

O número de eosinófilos do cão com maior dose de ovos de *T.vulpis* apresentou grande aumento até a 6ª semana e depois desse período ocorreu ligeira queda no número de eosinófilos. Enquanto que os cães infectados com 500 e 1.000 ovos respectivamente mantiveram-se na faixa de valores de referência. O cão controle também apresentou um aumento no número de eosinófilos entre a 6ª e 12ª semana pós-infecção. O número de eosinófilos ideal é de 100 -1.250 mm^3 . No estudo realizado por Kirkova também foi notado o aumento de eosinófilos em cães infectados.

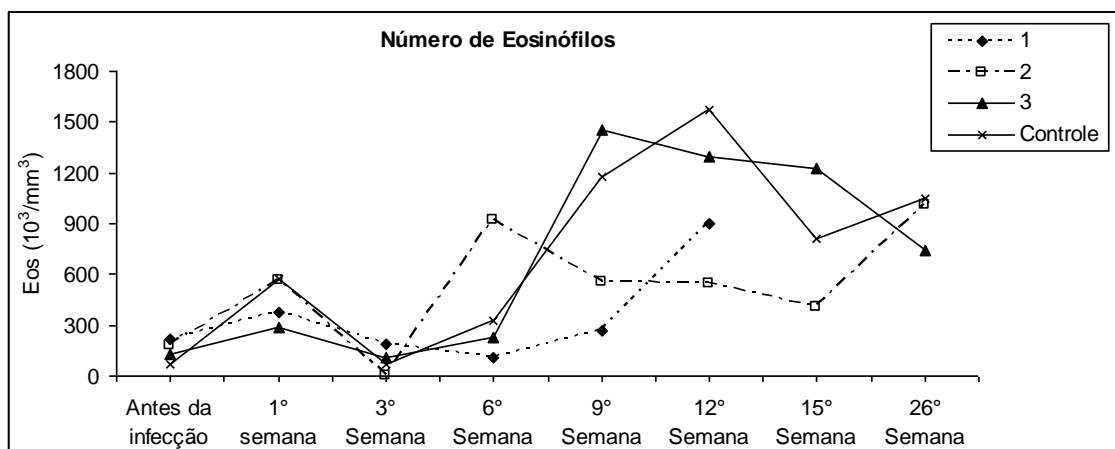


Figura 18. Número de eosinófilos de cães infectados por *T.vulpis* e controle durante o período pré-patente.

Os experimentos relatados em Kirkova (2005) referem-se à dose de 10.000 ovos/kg/peso não podendo ser comparado com os do presente estudo, onde se tentou reproduzir o modelo de infecção mais próximo do que ocorre naturalmente.

2.5.7 Avaliação do desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis* estocados em baixas temperaturas obtidos de cão com monoinfecção experimental na Primavera.

- **Amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$**

Em ovos recuperados de amostras de fezes de cão experimentalmente infectado, nota-se que após estoque sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$, 100% dos ovos mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$, apresentaram-se larvados aos 25 dias. Observou-se que não existe diferença quando comparados ao desenvolvimento de ovos de cães naturalmente infectados (tabela de dados em anexo).

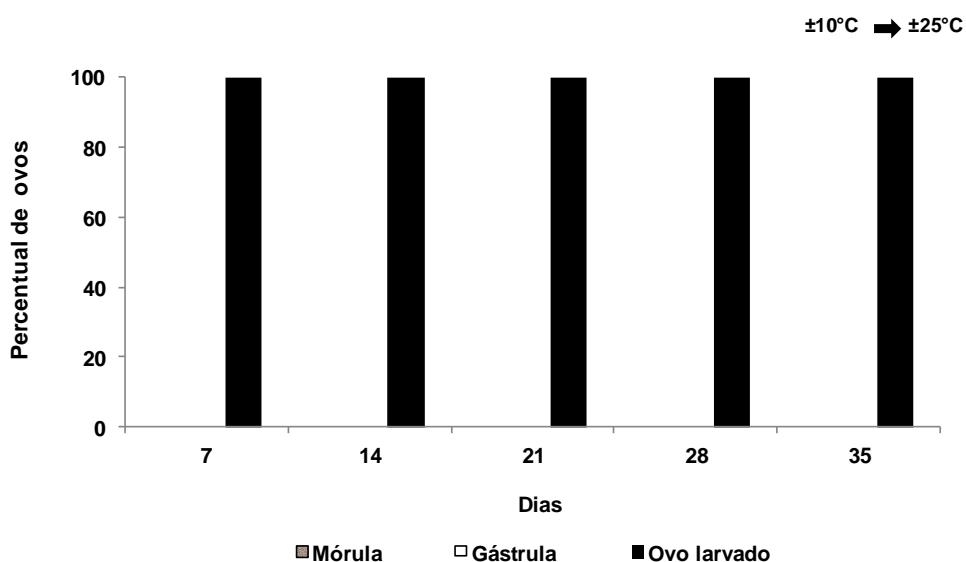


Figura 19. Influência do tempo de estocagem à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ (refrigeração) e estímulo a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis* provenientes de cães experimentalmente infectados, no período de sete a 35 dias na Primavera.

Observou-se que os ovos mantidos a 30°C após recuperação, apresentaram L_1 formada aos 20 dias, demonstrando que esta temperatura estimulou mais rapidamente a formação de larva de *T. vulpis*. Esta temperatura é favorável ao desenvolvimento conforme observado por Rubin (1954) (tabela de dados em anexo).

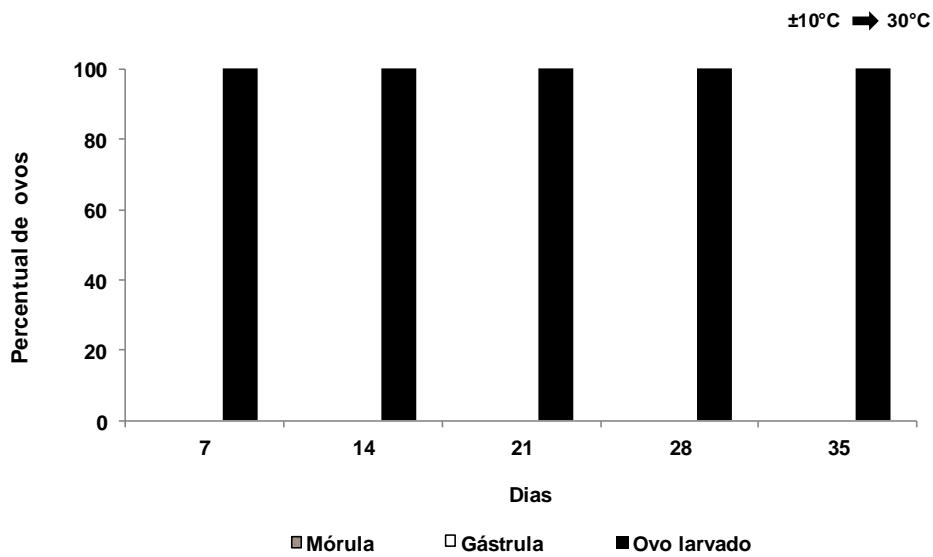


Figura 20. Influência do tempo de estocagem à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ (refrigeração) e estímulo a 30°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis* provenientes de cães experimentalmente infectados, no período de sete a 35 dias na Primavera.

- **Amostras a -4°C**

Notou-se que em ovos mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$, o percentual de ovos larvados variou de 72 a 100% aos 30 dias após recuperação, mesmo os ovos estando mantidos em temperatura favorável ao desenvolvimento de L_1 (tabela de dados em anexo).

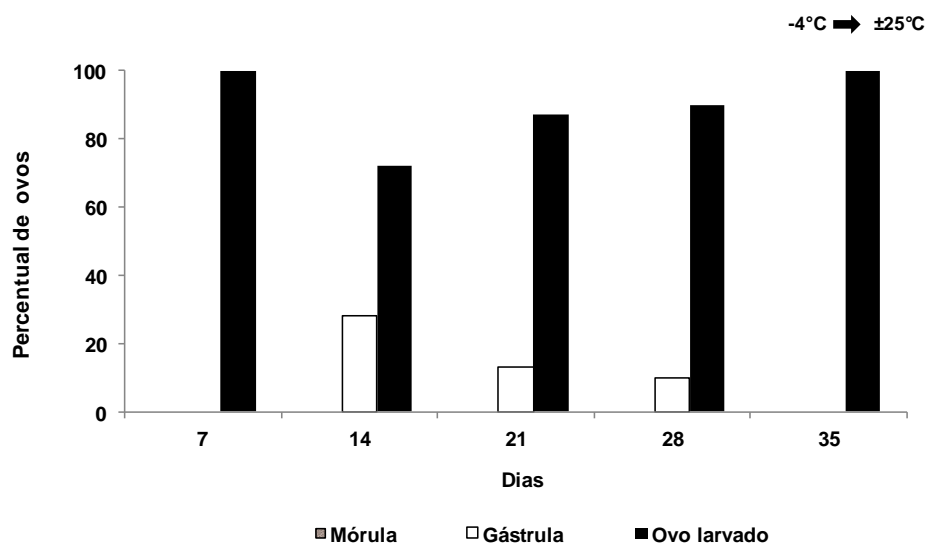


Figura 21. Influência do tempo de estocagem à temperatura de -4°C e estímulo a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis* provenientes de cães experimentalmente infectados, no período de sete a 35 dias na Primavera.

Observou-se que todos os ovos recuperados no período mantidos a 30°C atingiram 100% dos ovos larvados aos 30 dias (tabela de dados em anexo).

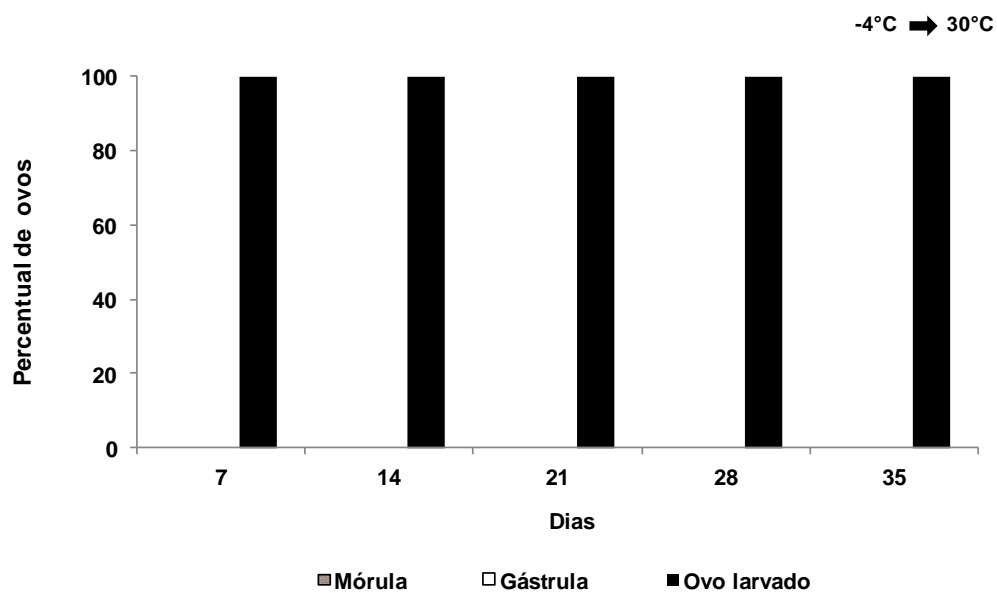


Figura 22. Influência do tempo de estocagem à temperatura de -4°C (congelamento) e estímulo a 30°C sobre as fases de desenvolvimento dos ovos de *T. vulpis* provenientes de cães experimentalmente infectados, no período de sete a 35 dias na Primavera.

2.5.8 Análise estatística da avaliação do desenvolvimento de ovos de *T.vulpis* (Outono, Inverno, Primavera e Primavera cães com monoinfecção experimental)

Na tabela 8 (Outono) observa-se que aos 7 dias a fase de mórula variou de 54,9 % (- 4°C) a 100% (- 10°C) (P<0,05) e diminuição gradativa desta fase e elevação para a fase de gástrula nas temperatura de ± 10°C e - 4°C (P>0,05). Ovos larvados foi observado aos 25 dias em abas as temperaturas (P>0,05). Na tabela 9 (Outono) notou-se aos 7 dias presença de mórula , que variou de 45,8% (- 4°C) a 46,1% (± 10°C) (P>0,05) e gástrula 9,4% (± 10°C) a 9,8 % (- 4°C) e observou-se a presença de ovos larvados aos 10 dias e aumento gradativo até aos 30 dias (P>0,05).

Tabela 8 . Valor médio de diferentes fases de ovos de *T.vulpis* de amostras a ± 10°C e - 4°C mantidos a ±25°C no Outono.

Dias	± 25°C					
	Mórula		Gástrula		Ovo larvado	
	(10°C)	(- 4°C)	(10°C)	(- 4°C)	(10°C)	(- 4°C)
	X*±DP	X*±DP	X*±DP	X*±DP	X*±DP	X*±DP
3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
7	100,0 ^a ± 0,0	54,9 ^b ± 52,1	0,0 ^a ± 0,0	0,7 ^a ± 2,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
10	95,1 ^a ± 10,0	91,3 ^a ± 10,1	4,9 ^a ± 10,0	8,7 ^a ± 10,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
15	80,3 ^a ± 27,4	81,7 ^a ± 24,2	19,7 ^a ± 27,4	18,3 ^a ± 24,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
20	54,6 ^a ± 35,5	68,4 ^a ± 25,1	45,4 ^a ± 35,5	31,6 ^a ± 25,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
25	39,8 ^a ± 35,2	44,4 ^a ± 30,2	49,9 ^a ± 35,7 [*]	55,1 ^a ± 30,0 [*]	10,3 ^a ± 31,0	0,4 ^a ± 1,3
30	30,3 ^a ± 39,9	24,8 ^a ± 35,5	43,6 ^a ± 36,9	55,7 ^a ± 32,2	26,1 ^a ± 38,9	19,6 ^a ± 27,2

^aValores seguidos de mesma letra, na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do Mann-Whitney a 5% de significância (p<0,05). ^{*a}Valores seguidos de mesma letra na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste t Student a 5% de significância (p<0,05). M= Média; D.P= Desvio-padrão.

Tabela 9. Valor médio de diferentes fases de ovos de *T.vulpis* de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a 30°C no Outono.

Dias	30°C					
	Mórula		Gástrula		Ovo larvado	
	(10°C)	(-4°C)	(10°C)	(-4°C)	(10°C)	(-4°C)
	X* \pm DP	X* \pm DP	X* \pm DP	X* \pm DP	X* \pm DP	X* \pm DP
3	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
7	59,6 ^a \pm 40,0	80,3 ^a \pm 28,	9,4 ^a \pm 25,5	9,8 ^a \pm 25,5	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
10	46,1 ^a \pm 49,8*	45,8 ^a \pm 49,5*1	26,0 ^a \pm 28,2	18,4 ^a \pm 28,4	11,6 ^a \pm 33,2	0,1 ^a \pm 0,3
15	39,8 ^a \pm 41,7	30,6 ^a \pm 36,5	48,7 ^a \pm 43,0*	38,7 ^a \pm 35,7*	16,7 ^a \pm 33,2	30,8 ^a \pm 44,5
20	12,7 ^a \pm 17,7	5,1 ^a \pm 10,3	50,6 ^a \pm 37,4*	38,9 ^a \pm 33,6*	36,8 ^a \pm 41,9*	56,0 ^a \pm 39,0*
25	3,0 ^a \pm 4,2	5,1 ^a \pm 10,3	54,1 ^a \pm 41,4*	32,1 ^a \pm 34,5*	42,9 ^a \pm 43,3*	56,6 ^a \pm 39,5*
30	1,7 ^a \pm 3,4	1,6 ^a \pm 4,7	44,6 ^a \pm 44,5*	24,2 ^a \pm 27,7*	53,8 ^a \pm 46,0*	74,2 ^a \pm 30,5*

^aValores seguidos de mesma letra, na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do Mann-Whitney a 5% de significância ($p < 0,05$). *^a Valores seguidos de mesma letra na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste t Student a 5% de significância ($p < 0,05$). M= Média; D.P= Desvio-padrão.

Na tabela 10 observou-se a presença de mórula até aos 30 dias nas duas temperaturas de estocagem ($\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C) ($P > 0,05$). A fase de gástrula aos 7 dias variou de 10,4% (-4°C) a 21% ($\pm 10^{\circ}\text{C}$). A presença de ovo larvado foi notada aos 15 dias com percentual que variou de 15,8% (-4°C) e 51,7% ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) ($P > 0,05$) e aos 30 dias variou de 15,8% (-4°C) a 51,7% ($\pm 10^{\circ}\text{C}$). Na tabela 11 (Inverno) observou-se o mesmo percentual de 83,3% ($P > 0,05$) para mórula em ambas temperaturas. E elevação para a fase de gástrula. Aumento gradual no percentual de ovos larvados foi notado dos 7 aos 30 dias, valores de 39,8% (-4°C) e 94,4% ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) ($P < 0,05$).

Tabela 10 . Valor médio de diferentes fases de ovos de *T.vulpis* de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $- 4^{\circ}\text{C}$ mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ no Inverno.

Dias	$\pm 25^{\circ}\text{C}$					
	Mórula		Gástrula		Ovo larvado	
	10°C	$- 4^{\circ}\text{C}$	10°C	$- 4^{\circ}\text{C}$	10°C	$- 4^{\circ}\text{C}$
	X* \pm DP	X* \pm DP	X* \pm DP	X* \pm DP	X* \pm DP	X* \pm DP
3	83,3 ^a \pm 38,9	83,3 ^a \pm 38,9	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
7	96,3 ^a \pm 7,1	95,0 ^a \pm 11,8	3,8 ^a \pm 7,1	5,0 ^a \pm 11,8	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
10	70,3 ^a \pm 24,5	75,7 ^a \pm 28,5	29,7 ^a \pm 24,5	24,3 ^a \pm 28,5	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
15	40,8 ^a \pm 33,1*	61,3 ^a \pm 35,5*	57,2 ^a \pm 31,5*	37,6 ^a \pm 34,0*	2,0 ^a \pm 5,8	1,1 ^a \pm 3,8
20	14,5 ^a \pm 27,9	29,3 ^a \pm 29,6	66,7 ^a \pm 35,6*	68,3 ^a \pm 27,7*	18,8 ^a \pm 32,9	2,3 ^a \pm 5,6
25	6,8 ^a \pm 16,1	14,7 ^a \pm 23,2	56,6 ^a \pm 39,3	74,1 ^a \pm 29,4	36,7 ^a \pm 42,7	11,3 ^a \pm 26,0
30	1,9 ^a \pm 6,6	3,3 ^a \pm 8,8	46,4 ^a \pm 42,1	73,4 ^a \pm 34,6	51,7 ^a \pm 43,9	15,8 ^b \pm 28,3

^aValores seguidos de mesma letra, na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste Mann-Whitney a 5% de significância ($p < 0,05$). *^aValores seguidos de mesma letra na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste t Student a 5% de significância ($p < 0,05$). M= Média; D.P= Desvio-padrão.

Tabela 11. Valor médio de diferentes fases de ovos de *T.vulpis* de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a 30°C no Inverno.

Dias	30°C					
	Mórula		Gástrula		Ovo larvado	
	10°C	-4°C	10°C	-4°C	10°C	-4°C
	$X^* \pm \text{DP}$	$X^* \pm \text{DP}$	$X^* \pm \text{DP}$	$X^* \pm \text{DP}$	$X^* \pm \text{DP}$	$X^* \pm \text{DP}$
3	$83,3^a \pm 38,9$	$83,3^a \pm 38,9$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$
7	$78,3^a \pm 24,9$	$89,6^a \pm 18,6$	$21,0^a \pm 23,2$	$10,4^a \pm 18,6$	$0,7^a \pm 2,3$	$0,0^a \pm 0,0$
10	$42,3^a \pm 44,6$	$63,0^a \pm 39,9$	$28,7^a \pm 29,1$	$32,4^a \pm 33,3$	$29,1^a \pm 36,3$	$4,6^a \pm 12,0$
15	$11,5^b \pm 26,9$	$45,6^a \pm 39,1$	$33,9^a \pm 30,4^*$	$45,8^a \pm 31,2^*$	$54,6^a \pm 39,7$	$7,7^b \pm 13,3$
20	$5,0^b \pm 17,3$	$22,3^a \pm 27,9$	$19,3^a \pm 25,4^*$	$60,3^b \pm 19,6^*$	$75,7^a \pm 33,9$	$17,4^b \pm 18,6$
25	$0,0^a \pm 0,0$	$8,9^a \pm 19,0$	$14,7^a \pm 23,4$	$68,6^b \pm 24,0$	$85,3^a \pm 23,4$	$22,5^b \pm 20,5$
30	$0,0^a \pm 0,0$	$1,4^a \pm 3,4$	$5,6^a \pm 11,3$	$58,8^b \pm 34,4$	$94,4^a \pm 11,3$	$39,8^b \pm 36,0$

^aValores seguidos de mesma letra, na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste Mann-Whitney a 5% de significância ($p < 0,05$). ^{*a}Valores seguidos de mesma letra na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste t Student a 5% de significância ($p < 0,05$). M= Média; D.P= Desvio-padrão.

Na tabela 12 (Primavera) 100% dos ovos em fase de mórula aos 3 dias ($P > 0,05$). A fase de gástrula aumentou alcançando aos 15 dias 52,3% (-4°C) e 65,1% ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) ($P < 0,05$). Ovo larvado foi notado aos 20 dias ($P > 0,05$) e alcançando 100% em ambas temperaturas ($P > 0,05$). Na tabela 13 (Primavera) 100% em fase de mórula aos 3 dias ($P > 0,05$) com aumento gradual para a fase de gástrula com percentuais que variou entre 43,6 (-4°C) e 72,8% ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) aos 10 dias. Notado a presença de ovo larvado aos 10 dias para amostras recuperadas de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ ($P > 0,05$) e aos 25 dias notou-se 100% ($P > 0,05$) de ambas temperaturas.

Tabela 12. Valor médio de diferentes fases de ovos de *T.vulpis* de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ na Primavera.

Dias	$\pm 25^{\circ}\text{C}$					
	Mórula		Gástrula		Ovo larvado	
	10°C	-4°C	10°C	-4°C	10°C	-4°C
	$X^{*}\pm\text{DP}$	$X^{*}\pm\text{DP}$	$X^{*}\pm\text{DP}$	$X^{*}\pm\text{DP}$	$X^{*}\pm\text{DP}$	$X^{*}\pm\text{DP}$
3	$100,0^{\text{a}} \pm 0,0$	$100,0^{\text{a}} \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$
7	$99,6^{\text{a}} \pm 1,0$	$82,3^{\text{b}} \pm 4,2$	$0,4^{\text{a}} \pm 1,0$	$17,7^{\text{b}} \pm 4,2$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$
10	$85,6^{\text{a}} \pm 5,0^{*}$	$66,6^{\text{b}} \pm 16,3^{*}$	$14,4^{\text{a}} \pm 5,0^{*}$	$33,4^{\text{b}} \pm 16,3^{*}$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$
15	$34,9^{\text{a}} \pm 7,6^{*}$	$47,7^{\text{b}} \pm 9,4^{*}$	$65,1^{\text{a}} \pm 7,6^{*}$	$52,3^{\text{b}} \pm 9,4^{*}$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$
20	$0,0^{\text{a}} \pm 0,0$	$4,7^{\text{a}} \pm 11,4$	$28,7^{\text{a}} \pm 25,9$	$12,0^{\text{a}} \pm 29,4$	$71,3^{\text{a}} \pm 25,9$	$83,3^{\text{a}} \pm 40,3$
25	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$10,9^{\text{a}} \pm 28,7$	$0,0^{\text{a}} \pm 0,0$	$89,1^{\text{a}} \pm 28,7$	$100,0^{\text{a}} \pm 0,0$
30	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$100,0^{\text{a}} \pm 0,0$	$100,0^{\text{a}} \pm 0,0$

^aValores seguidos de mesma letra, na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste Mann-Whitney a 5% de significância ($p < 0,05$). ^{*a}Valores seguidos de mesma letra na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste t Student a 5% de significância ($p < 0,05$). M= Média; D.P= Desvio-padrão.

Tabela 13 . Valor médio de diferentes fases de ovos de *T.vulpis* de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C mantidos a 30°C na Primavera.

Dias	30°C					
	Mórula		Gástrula		Ovo larvado	
	10°C	- 4°C	10°C	- 4°C	10°C	- 4°C
	X* \pm DP	X* \pm DP	X* \pm DP	X* \pm DP	X* \pm DP	X* \pm DP
3	100,0 ^a \pm 0,0	100,0 ^a \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
7	81,4 ^a \pm 29,7	90,0 ^a \pm 3,1	18,6 ^a \pm 29,7	10,0 ^a \pm 3,1	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
10	10,9 ^a \pm 6,8*	56,4 ^b \pm 4,5*	72,8 ^a \pm 29,0	43,6 ^b \pm 4,5	16,4 ^a \pm 33,5	0,0 ^a \pm 0,0
15	5,1 ^a \pm 5,8*	36,4 ^b \pm 4,0*	55,6 ^a \pm 36,6*	63,6 ^a \pm 4,0*	39,7 ^a \pm 41,7	0,0 ^a \pm 0,0
20	0,0 ^a \pm 0,0	1,1 ^a \pm 2,0	0,0 ^a \pm 0,0	9,4 ^a \pm 15,4	100,0 ^a \pm 0,0	89,4 ^a \pm 16,8
25	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	100,0 ^a \pm 0,0	100,0 ^a \pm 0,0
30	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	100,0 ^a \pm 0,0	100,0 ^a \pm 0,0

^aValores seguidos de mesma letra, na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste Mann-Whitney a 5% de significância ($p < 0,05$). ^{*}Valores seguidos de mesma letra na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste t Student a 5% de significância ($p < 0,05$). M= Média; D.P= Desvio-padrão.

Na tabela 14 (Primavera - cão infecção experimental) observa-se 100% dos ovos em fase de mórula aos 3 dias ($P > 0,05$) . Aos 20 dias observou-se que a fase de gástrula atingiu 14,6 % ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e 59% (-4°C) ($P < 0,05$) e de ovo larvado 35,4% (-4°C) e 85% ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) ($P < 0,05$) e aos 30 dias alcançou o máximo de 89,8% (-4°C) e 100% ($\pm 10^{\circ}\text{C}$). Na tabela 15 observa-se aos 3 dias 100% dos ovos em fase de mórula ($P > 0,05$). Elevação para a fase gástrula aos 10 dias que variou de 13,2% (-4°C) a 64,2% ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) ($P < 0,05$). Aos 30 dias foi observado que em ambas temperaturas de estocagem , ovos atingiram 100% de embrionamento ($P > 0,05$).

Tabela 14 . Valor médio de diferentes fases de ovos de *T.vulpis* de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $- 4^{\circ}\text{C}$ mantidos a 25°C na Primavera.(Monoinfecção)

Dias	25°C					
	Mórula		Gástrula		Ovo larvado	
	10°C	- 4°C	10°C	- 4°C	10°C	- 4°C
	X* \pm EP	X* \pm EP	X* \pm EP	X* \pm EP	X* \pm EP	X* \pm EP
3	100,0 ^a \pm 0,0	100,0 ^a \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
7	99,2 ^a \pm 1,3*	95,8 ^a \pm 3,1*	0,8 ^a \pm 1,3*	4,2 ^a \pm 3,1*	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
10	80,4 ^a \pm 4,5*	89,4 ^b \pm 2,7*	19,6 ^a \pm 4,5*	10,6 ^b \pm 2,7*	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
15	31,0 ^a \pm 4,3*	49,4 ^b \pm 5,4*	69,0 ^a \pm 4,3*	50,6 ^b \pm 5,4*	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
20	0,4 ^a \pm 0,9	5,6 ^a \pm 12,5	14,6 ^a \pm 12,1*	59,0 ^b \pm 18,7*	85,0 ^a \pm 11,9*	35,4 ^b \pm 26,3*
25	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 ^a \pm 0,0	20,0 ^a \pm 19,2	100,0 ^a \pm 0,0	82,0 ^a \pm 18,0
30	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 ^a \pm 0,0	10,2 ^a \pm 11,5	100,0 ^a \pm 0,0	89,8 ^a \pm 11,5

^aValores seguidos de mesma letra na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste Mann-Whitney a 5% de significância (p<0,05). ^{*}Valores seguidos de mesma letra na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste t Student a 5% de significância (p<0,05). M= Média; D.P= Desvio-padrão.

Tabela 15 . Valor médio de diferentes fases de ovos de *T.vulpis* de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $- 4^{\circ}\text{C}$ mantidos a 30°C na Primavera (Monoinfecção)

Dias	30°C					
	Mórula		Gástrula		Ovo larvado	
	10°C	$- 4^{\circ}\text{C}$	10°C	$- 4^{\circ}\text{C}$	10°C	$- 4^{\circ}\text{C}$
	$X^{*}\pm\text{EP}$	$X^{*}\pm\text{EP}$	$X^{*}\pm\text{EP}$	$X^{*}\pm\text{EP}$	$X^{*}\pm\text{EP}$	$X^{*}\pm\text{EP}$
3	$100,0^{\text{a}} \pm 0,0$	$100,0^{\text{a}} \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$
7	$81,8^{\text{a}} \pm 7,6^{*}$	$94,4^{\text{b}} \pm 5,0^{*}$	$18,2^{\text{a}} \pm 7,6^{*}$	$5,6^{\text{b}} \pm 5,0^{*}$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$
10	$13,0^{\text{a}} \pm 9,3^{*}$	$84,8^{\text{b}} \pm 7,0^{*}$	$64,2^{\text{a}} \pm 31,9$	$13,2^{\text{b}} \pm 5,9^{*}$	$22,8^{\text{a}} \pm 39,0$	$0,0^{\text{a}} \pm 0,0$
15	$3,8^{\text{a}} \pm 8,5$	$19,0^{\text{a}} \pm 11,6$	$39,4^{\text{a}} \pm 29,2$	$42,8^{\text{a}} \pm 27,3$	$56,8^{\text{a}} \pm 36,3$	$28,2^{\text{a}} \pm 29,4$
20	$0,0^{\text{a}} \pm 0,0$	$7,0^{\text{b}} \pm 5,1$	$0,0^{\text{a}} \pm 0,0$	$17,8^{\text{a}} \pm 12,5$	$100,0^{\text{a}} \pm 0,0$	$75,2^{\text{b}} \pm 17,6$
25	$0,0^{\text{a}} \pm 0,0$	$1,0^{\text{a}} \pm 1,4$	$0,0 \pm 0,0$	$5,2 \pm 7,1$	$100,0^{\text{a}} \pm 0,0$	$93,4^{\text{a}} \pm 8,5$
30	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$100,0^{\text{a}} \pm 0,0$	$100,0^{\text{a}} \pm 0,0$

^aValores seguidos de mesma letra na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste Mann-Whitney a 5% de significância ($p < 0,05$). ^{*a}Valores seguidos de mesma letra na mesma linha, em cada tratamento, não diferem significativamente através do teste t Student a 5% de significância ($p < 0,05$). M= Média; D.P= Desvio-padrão.

A faixa de temperatura ideal para o desenvolvimento dos ovos de *T.vulpis* é de $25,4$ a $38,8^{\circ}\text{C}$ (Rubin, 1954), faixa de temperatura de manutenção para observação das fases de desenvolvimento deste estudo , após estoque a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $- 4^{\circ}\text{C}$.e Pela primeira vez se avalia a resistência de ovos de *T.vulpis* a baixas temperaturas.

4 CONCLUSÃO

- 1- Amostras de fezes contendo ovos de *T.vulpis* podem ser estocadas para a ± 10 e $- 4^{\circ}\text{C}$ para realização do OPG por até 12 semanas.
- 2- Ovos de *T. vulpis* se desenvolvem após estoque em baixas temperaturas.
- 3- As doses de 1.000 e 1.500 ovos larvados de *T.vulpis* foram capazes de infectar os animais.
- 4- Os cães permaneceram infectados durante o período do estudo.
- 5- O perfil hematológico não sofreu alteração com a infecção.
- 6- Os ovos se desenvolvem nas faixas de temperatura observadas após estoque sob ± 10 e $- 4^{\circ}\text{C}$, demonstrando que os ovos de *T.vulpis* resistem a baixas temperaturas.

2.7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A.B.P.F.; SOUSA, V.R.F.; DALCIN, L.; JUSTINO, C.H.S. Contaminação por fezes caninas das praças públicas de Cuiabá, Mato grosso. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 44, n.2, p. 132-136, 2007.

ANDRESIUK, V; SARDELLA, N; DENEGRI, G. Seasonal fluctuations in prevalence of dog intestinal parasites in public squares of Mar Del Plata city, Argentina and its risk for humans. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 39, p. 221-224, 2007.

BARUTZKI; SCHAPER, R. Endoparasites in dogs and cats in Germany 1999-2002. **Parasitology Research**, v. 90, supl. 3, p.S148- S150, 2003.

BOWMAN, D.D; HENDRIX, C.M.; LINDSAY, D.S.; BARR, S.C. **Feline Clinical Parasitology**. Iowa: Iowa State University Press, p. 469, 2002.

BRENER, B; LISBOA, L.; MATTOS, D.P.B.G; ARASHIRO, E.K.N; MILLAR, P.R; SUDRÉ, A.P; DUQUE, V. Frequência de enteroparasitas em amostras fecais de cães e gatos dos municípios do Rio de Janeiro e Niterói. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.12, n.1/3, p.102-105, 2005.

BRESCIANI, K.D.S; ISHIZAKI, M.N.; KANETO, C.N; MONTANO, T.R.P.; PERRI, S.H.V; VASCONCELOS, R.O.; DO NASCIMENTO, A.A. Frequência e intensidade parasitária de helmintos gastrintestinais em cães na área urbana do município de Araçatuba, SP. **ARS VETERINÁRIA, Jabotical**, SP, v.24, n.3, p.181-185, 2008.

BRUNO, G.B.; MENEZES, V.A.; BRUNO^C, J.A.; ALMEIDA, M.W.; VIANA, G.S.B. Avaliações hematológicas e bioquímicas do sangue de cães submetidos a pulpotomias com cimento de antibiótico. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 35, n.3, p.125-133, 2006.

CAPUANO, D.M; ROCHA, G.M. Ocorrência de parasitas com potencial zoonótico em fezes de cães coletadas em áreas públicas do município de Ribeirão Preto, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 9, n.1, p. 81-86, 2006.

DUNN, J.J; COLUMBUS, S.T; ALDEEN, W.E.; DAVIS, M.; CARROLL, K.C. *Trichuris vulpis* recovered from a patient with chronic diarrhea and five dogs. **Journal Clinical Microbiology**, v. 40, p. 2703-2704, 2002.

FILLIPIS, T; NEVES, D.P. Parasitologia básica. Belo Horizonte, Minas Gerais, Coopmed, p. 494, 2010.

FONTANARROSA, M.F; VEZZANI, D.; BASABE, J.; EIRAS, D.F. Na 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, p.283-295, 2006.

KIRKOVA, Z; PETKOV, P.; GOUNDASHEVA, D. Clinical and haematological studies in dogs, experimentally infected with *Trichuris vulpis*. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 8, No 2, 141-148, 2005.

KIRKOVA, Z; DINEV, I. Morphological changes in the intestine of dogs, experimentally infected with *Trichuris vulpis*. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 8, nº 4, p. 239-243, 2005.

KIRKOVA, Z; GEORGIEVA, D; RAYCHEV, E. Study on the prevalence of Trichuriasis in different categories of dogs and wild carnivores. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 9, nº 2, 141-147, 2006.

LEITE, L.C; BANDEIRA, C.R; CIRIO, S.M; LUZ, E; DINIZ, J.M.F; LEITE, S.C; LUNELLI, D; WEBER, S; COELLI, C.R.V.R. Ocorrência de ovos de *Ancylostoma* spp. e *Trichuris* spp. em fezes de cães em Meia-Praia, Itapema, Santa Catarina, Brasil. **Estudos de Biologia**, v.28, n. 65, p.105-110, 2006.

LEWVINE, N. **Nematode parasites of Domestic Animals and of man**. Burgess Publis Company. 477p, 1980.

MASUDA Y.; KISHIMOTO T.; ITO H.; TSUJI M., Visceral Larva Migrans caused by *Trichuris vulpis* presenting as a pulmonary mass, **Thorax**, v.42, p.990-991, 1987.

OLIVEIRA, V.S.F; MELO, D.P.G.; FERNANDES, P.R.; SCHULZE, C.M.B.; GUIMARÃES, M.S.; SILVA, A.C. Ocorrência de helmintos gastrintestinais em cães errantes na cidade de Goiânia-Goiás. **Revista de Patologia Tropical**, v. 38, n.4, p.279-283, 2009.

REINECKE, R K.. **Veterinary Helminthology**. Durban, Butterworths. p., 392, 1983.

ROBERTS, H. S.; O'SULLIVAN, P. S. Methods for egg counts and larval cultures for Strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agriculture Research**, v. 1, n. 1, p. 99-102, 1950.

RODRIGUES, M. L. A.; HONER, M. R. The collection and identification of first stage larvae of bovine gastrointestinal nematodes: modification of the Whitlock technique (1959). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 5, n. 1, p.1-3. 1985.

RUBIN, R. Studies on the common whipworm of the dog, *Trichuris vulpis*. **Cornell Vet**, v. 44, n.1, p. 36-49, 1954.

SCAINI, C.J; TOLEDO, R.N; LOVATEL, R; DIONELLO, M.A; GATTI, F.A; SUSIN, L; SIGNORINI, V.R.M. Contaminação ambiental por ovos e larvas de helmintos em fezes de cães na área central do Balneário Cassino, Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 5, p. 617-619, 2003.

SOULSBY, E.J.L. **Parasitología y enfermedades parasitarias em los animales domésticos**. Mexico: Intramericana, 1987, 823p.

TRAVERSA, D. Are we paying too attention to cardio-pulmonary nematodes and neglecting old-fashioned worms like *Trichuris vulpis*? **Parasites & Vectors**, v.4: 32, 2011.

UGBOMOIKO, U.S.; ARIZA, L.; HEUKELBACH, J. Parasites of importance for human health in Nigerian dogs: high prevalence and limited knowledge of pet owners. **BMC Veterinary Research** , v. 49, n.4, p.1-9, 2008.

VASCONCELLOS, M.C; BARROS, J.S.L; OLIVEIRA, C.S. Parasitas gastrintestinais em cães institucionalizados no Rio de Janeiro, RJ. **Revista de Saúde Pública**, v.40, n. 2, p.321-323, 2006.

VENCO, L; VALENTI, V; GENCHI, M; GRANDI, G. A dog with Pseudo-Addison Disease Associated with *Trichuris vulpis* infection. **Journal of Parasitology Research**, v. 2011 (2011), Article ID 682039, 3 pages doi:10.1155/2011/682039.

2.8 - ANEXOS

2.8.1 - Produção científica do período acadêmico

A- Resumos expandidos enviados para Jornada de Iniciação Científica – UFRRJ:

1- SAAVEDRA, A.F; FIGUEIREDO, K.G **FREITAS VIEIRA, V.S**; RODRIGUES, M.L.A. Avaliação do desenvolvimento dos ovos de *Trichuris vulpis* em diferentes temperaturas sob condições de laboratório. In: XXI Jornada de Iniciação Científica da UFRRJ, 07 a 11 de novembro de 2011. (Apresentação sob a forma de apresentação oral).

2- FIGUEIREDO, K.G ; SAAVEDRA, A.F.; **FREITAS VIEIRA, V.S**; RODRIGUES, M.L.A. Frequência de helmintos gastrintestinais de eqüinos em diferentes Regiões do Estado do Rio de Janeiro, avaliação das células intestinais e mensuração de ciatostomíneos. **In:** XXI Jornada de Iniciação Científica da UFRRJ, 07 a 11 de novembro de 2011. (Apresentação em forma de pôster).

3- SAAVEDRA, A.F; **FREITAS VIEIRA, V.S.**; SCOTT, F.B.; RODRIGUES, M.L.A. *Trichuris vulpis*: Avaliação da frequência e da carga parasitária de cães da raça Beagle em canil experimental da UFRRJ. In: XX Jornada Científica da UFRRJ. UFRRJ, Seropédica, Rio de Janeiro, 2010. (**Apresentação em forma de pôster**).

4- FIGUEIREDO, K.G; VALIM, J; **FREITAS VIEIRA, V.S**; RODRIGUES, M.L.A. Frequência de nematóides estrogilídeos e avaliação morfologia das larvas infectantes de ciatostomíneos em eqüinos, provenientes de diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro. In : XX Jornada Científica da UFRRJ. UFRRJ, Seropédica, Rio de Janeiro, 2010. (**Apresentação em forma de pôster**).

B- Resumos enviados para Fórum de Pós-Graduação da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

1- **FREITAS VIEIRA, V.S**; RODRIGUES, M.L.A; SCOTT, F.B. Aspectos Zoonóticos de *Trichuris vulpis*: infecção experimental em camundongos (*Mus musculus*) e estudo morfométrico. In: V Fórum de Pós-Graduação da UFRRJ, UFRRJ, Seropédica, 2010. (**Apresentação em forma de pôster**).

2-FREITAS VIEIRA, V.S.; SCOTT, F.B.; RODRIGUES, M.L.A. Avaliação do Desenvolvimento de Ovos de *Ancylostoma caninum* submetidos a baixas temperaturas. In: VI Fórum da Pós-Graduação da universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 22 a 24 de novembro de 2011. (Apresentação sob forma de pôster).

C – Resumos enviados para o XVI Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2010.

1-FIGUEIREDO, K.G; SAAVEDRA,A.F; VALIM, J.R.A; **FREITAS VIEIRA, V.S;** RODRIGUES, M.L.A. Frequência de nematóides strongilídeos e avaliação da morfologia das larvas infectantes de ciatostomíneos em equinos provenientes de diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro. In: XVI Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, 2010. (Apresentação em forma de pôster).

2-**FREITAS VIEIRA, V.S;** TAVARES, P.V; SANTOS, C.N; SCOTT, F.B; RODRIGUES, M.L.A. Avaliação do desenvolvimento de ovos de *Trichuris vulpis* em diferentes temperaturas.In: XVI Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Campo Grande, Mato Grosso do Sul,Brasil,2010. (Apresentação em forma de pôster).

3- SANTOS, C.N.; SOUZA, L.S.; **FREITAS, V.S.V.;** RIBEIRO, C.D.U.; LUSTRINO, D.; A.F.; PINHEIRO, J.; RODRIGUES, M.L.A. Ciatostomíneos (Nematoda-Cyathostominae): Avaliação da reserva de glicogênio em larvas infectantes com diferentes tempos de vida, Rio de Janeiro, Brasil. In: XVI Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária. 2010. (Apresentação sob a forma de pôster).

D- Resumos enviados para outros congressos

1- RODRIGUES, M.L.A; **FREITAS, V.V.S;** SOARES, I.A. The frequency of strongylid Nematodes of horses from different regions of the state of Rio de Janeiro, Brazil and evaluation of the Cyathostomins L₃ morphology. In: WAAVP 2009, 2009, Calgary World Association for the advancement of Veterinary Parasitology 2009. 2009. (Apresentação em forma de pôster).

2-**FREITAS, V.V.S;** SOARES, I.A; RODRIGUES, M.L.A. Frequência de nematóides strongilídeos em cavalos proveniente de três regiões do Estado do Rio de Janeiro, Brasil e avaliação da morfologia das larvas infectantes. In: Zootec 2009, Águas de Lindóia, São Paulo, 2009. (Apresentação em forma de pôster).

3- SANTOS, C.N; SOUZA, L.S; **FREITAS VIEIRA, V.S.;** LUSTRINO, D; SILVA, J.P.; RODRIGUES, M.L.A. Avaliação da depleção energética em larvas infectantes de ciatostomíneos (Nematoda-Cyathostominae) de equinos, em clima tropical, RJ, Brasil. In: XIV Congresso Português de Parasitologia. 2010. (Apresentação sob a forma de apresentação oral).

2.8.2 - CAPÍTULO II

TABELAS.....	Pag.
1- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ no período de 25/4 a 20/6 (Outono) (Fig. 1).....	91
2- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a 30°C no período de 25/4 a 20/6 (Outono) (Fig. 2).....	92
3- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> recuperados de amostras a -4°C e mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ no período de 25/4 a 20/6 (Outono) (Fig. 3).....	93
4- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> recuperados de amostras a -4°C e mantidos a 30°C no período de 25/4 a 20/6 (Outono) (Fig. 4).....	94
5- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ no período de 05/7 a 19/7 (Inverno) (Fig.5)	95
6- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a 30°C no período de 05/7 a 19/7 (Inverno) (Fig. 6)	96
7- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> recuperados de amostras a -4°C e mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ no período de 05/7 a 19/7 (Inverno) (Fig. 7)	97
8- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> recuperados de amostras a -4°C e mantidos a 30°C no período de 05/7 a 19/7 (Inverno) (Fig. 8)	98
9- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ no período de 06 /10 a 19/12 (Primavera) (Fig. 9)	99

10- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a 30°C no período de 06 /10 a 19/12 (Primavera) (Fig. 10)	100
11- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> recuperados de amostras a -4°C e mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ no período de 06 /10 a 19/12 (Primavera) (Fig. 11)	101
12- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> recuperados de amostras a -4°C e mantidos a 30°C no período de 06 /10 a 19/12 (Primavera) (Fig. 12)	102
13- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> de cão infectado experimentalmente recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ no período de 06 /10 a 17/11 (Primavera) (Fig. 19)	103
14- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> de cão infectado experimentalmente recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a 30°C no período de 06 /10 a 17/11 (Primavera) (Fig. 20)	104
15- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> de cão infectado experimentalmente recuperados de amostras a $- 4^{\circ}\text{C}$ e mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ no período de 06 /10 a 17/11 (Primavera) (Fig. 21)	105
16- Resultados da avaliação dos ovos de <i>T.vulpis</i> de cão infectado experimentalmente recuperados de amostras a $- 4^{\circ}\text{C}$ e mantidos a 30°C no período de 06 /10 a 17/11 (Primavera) (Fig. 22)	106

Tabela 1 - Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ no período de 25/4 a 20/6 (Outono)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	$\pm 25^{\circ}\text{C}$																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
25/4	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	96	4	0	94	6	0	94	6	0	90	10	0	90	10	0
02/5	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	100	0	0	95	5	0	92	8	0	73	27	0	0	20	80
09/5	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	86	14	0	19	81	0	11	74	15
16/5	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	90	10	0	89	11	0	10	90	0	9	91	0	80	20	0
23/5	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	70	30	0	20	80	0	20	80	0	16	84	0	13	87	0
30/5	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	100	0	0	88	12	0	20	80	0	13	87	0	0	60	40
06/6	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	100	0	0	97	3	0	34	66	0	56	44	0	0	100	0
13/6	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	100	0	0	92	8	0	90	10	0	82	18	0	79	21	0
20/6	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	100	0	0	48	52	0	45	55	0	0	7	93	0	0	100

Tabela 2 - Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a 30°C no período de 25/4 a 20/6 (Outono)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	30°C																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
25/4	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	95	5	0	95	5	0	10	35	55	0	15	85	0	5	95
02/5	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	0	30	70	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
09/5	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	55	30	15	6	76	18	9	68	23
16/5	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	97	3	0	81	19	0	25	70	5	12	68	20	0	25	75
23/5	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	70	30	0	16	84	0	8	92	0	3	97	0	0	100	0
30/5	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	85	15	0	45	51	4	11	89	0	6	91	3	6	91	3
06/6	1 Cél.	0	0	0	23	77	0	8	92	0	6	94	0	5	95	0	0	100	0	0	100	0
13/6	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	61	39	0	15	85	0	0	42	58	0	40	60	0	12	88
20/6	1 Cél.	0	0	0	92	8	0	20	80	0	0	100	0	0	2	98	0	0	100	0	0	100

Tabela 3 - Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* recuperados de amostras a - 4°C e mantidos a ±25°C no período de 25/4 a 20/6 (Outono)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	±25°C																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
25/4	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	97	3	0	95	5	0	95	5	0	85	15	0	85	15	0
02/5	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	93	7	0	93	7	0	80	20	0	19	81	0	0	45	55
09/5	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	68	32	0	26	74	0	10	40	50
16/5	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	91	9	0	90	10	0	40	60	0	40	60	0	0	90	10
23/5	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	70	30	0	20	80	0	15	85	0	0	100	0	0	100	0
30/5	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	100	0	0	93	7	0	77	23	0	42	58	0	0	100	0
06/6	1 Cél.	0	0	0	94	6	0	90	10	0	78	22	0	76	24	0	74	26	0	57	43	0
13/6	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	81	19	0	80	20	0	86	14	0	84	16	0	71	29	0
20/6	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	100	0	0	86	14	0	79	21	0	30	66	4	0	39	61

Tabela 4 - Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* recuperados de amostras a -4°C e mantidos a 30°C no período de 25/4 a 20/6 (Outono)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	30°C																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
25/4	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	90	10	0	15	0	85	0	10	90	0	5	95	0	5	95
02/5	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	90	10	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
09/5	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	78	17	5	0	14	86	0	10	90
16/5	1 Cél.	0	0	0	0	0	0	87	13	0	80	20	0	30	60	10	26	6	12	0	75	25
23/5	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	61	39	0	16	84	0	0	55	45	0	40	60	0	39	61
30/5	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	100	0	0	13	87	0	0	86	14	0	74	26	0	6	94
06/6	1 Cél.	0	0	0	23	77	0	89	1	0	39	53	8	25	65	10	0	85	15	0	23	77
13/6	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	94	6	0	27	73	0	28	68	4	20	65	15	14	60	26
20/6	1 Cél.	0	0	0	89	11	0	12	87	1	0	16	84	0	0	100	0	0	100	0	0	100

Tabela 5 - Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ no período de 05/7 a 19/7 (Inverno)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	$\pm 25^{\circ}\text{C}$																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
05/7	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	96	4	0	87	13	0	64	36	0	0	100	0	23	74	3
11/7	1 Cél.	100	0	0	91	9	0	88	12	0	83	17	0	81	19	0	48	52	0	0	93	7
18/7	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	100	0	0	89	11	0	0	21	79	0	16	84	0	8	92
25/7	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	69	31	0	4	92	4	0	10	90	0	0	100	0	0	100
01/8	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	84	16	0	57	43	0	0	100	0	0	33	67	0	0	100
08/8	1 Cél.	0	0	0	76	24	0	19	81	0	10	90	0	0	100	0	0	100	0	0	40	60
15/8	1 Cél.	100	0	0	93	7	0	79	21	0	21	79	0	17	83	0	0	89	11	0	82	18
22/8	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	87	13	0	41	59	0	0	81	19	0	20	80	0	0	100
29/8	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	76	24	0	61	39	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0
05/9	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	57	43	0	9	91	0	0	100	0	0	92	8	0	79	0
12/9	1 Cél.	100	0	0	95	5	0	41	59	0	10	70	20	0	62	38	0	10	90	0	0	100
19/9	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	48	52	0	18	82	0	12	88	0	33	67	0	0	81	19

Tabela 6 - Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a 30°C no período de 05/7 a 19/7 (Inverno)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	30°C																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
05/7	1 Cél.	100	0	0	97	3	0	97	3	0	66	34	0	0	83	17	0	78	22	0	35	65
11/7	1 Cél.	100	0	0	80	20	0	76	24	0	72	28	0	60	38	2	0	19	81	0	0	100
18/7	1 Cél.	100	0	0	98	2	0	95	5	0	0	88	12	0	0	100	0	0	100	0	0	100
25/7	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	88	12	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
01/8	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	100	0	0	0	70	30	0	28	72	0	23	77	0	0	100
08/8	1 Cél.	0	0	0	20	72	8	0	32	68	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
15/8	1 Cél.	100	0	0	78	22	0	30	30	40	0	40	60	0	38	62	0	33	67	0	21	79
22/8	1 Cél.	0	0	0	0	18	82	0	49	51	0	21	79	0	10	90	0	0	100	0	0	100
29/8	1 Cél.	100	0	0	86	14	0	0	87	13	0	76	24	0	0	100	0	0	100	0	0	100
05/9	1 Cél.	100	0	0	38	62	0	21	79	0	0	39	61	0	30	70	0	23	77	0	11	89
12/9	1 Cél.	100	0	0	78	22	0	0	8	92	0	3	97	0	0	100	0	0	100	0	0	100
19/9	1 Cél.	100	0	0	83	17	0	0	15	85	0	8	92	0	5	95	0	0	100	0	0	100

Tabela 7- Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* recuperados de amostras a -4°C e mantidos a ±25°C no período de 05/7 a 19/7 (Inverno)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	±25°C																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
05/7	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	59	41	0	55	45	0	0	90	10
11/7	1 Cél.	100	0	0	98	2	0	96	4	0	92	8	0	89	11	0	0	9	91	0	0	100
18/7	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	0	89	11	0	88	12	0	79	21
25/7	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	41	59	0	10	77	13	3	80	17	3	80	17	1	78	21
01/8	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	82	18	0	60	40	0	12	88	0	0	100	0	0	97	3
08/8	1 Cél.	0	0	0	85	15	0	26	74	0	20	80	0	15	85	0	0	85	0	0	6	94
15/8	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	34	66	0	5	95	0	0	100	0
22/8	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	94	6	0	90	10	0	72	28	0	65	35	0	0	72	28
29/8	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	92	8	0	74	26	0	0	100	0	-0	100	0	0	100	0
05/9	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	90	10	0	20	80	0	9	91	0	0	100	0	0	100	0
12/9	1 Cél.	100	0	0	97	3	0	52	48	0	40	60	0	29	71	0	18	82	0	9	89	2
19/9	1 Cél.	100	0	0	60	40	0	35	65	0	30	70	0	30	70	0	30	70	0	30	70	0

Tabela 8 - Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* recuperados de amostras a - 4°C e mantidos a 30°C no período de 05/7 a 19/7 (Inverno)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	30°C																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
05/7	1 Cél.	100	0	0	92	8	0	92	8	0	59	31	8	7	40	53	0	36	64	0	2	98
11/7	1 Cél.	100	0	0	95	5	0	83	17	0	80	20	0	70	38	2	67	16	17	0	0	100
18/7	1 Cél.	100	0	0	96	4	0	92	8	0	90	10	0	0	81	19	0	81	19	0	80	20
25/7	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	92	8	0	0	86	14	0	81	19	0	80	20	0	74	26
01/8	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	100	0	0	55	45	0	28	72	0	13	87	0	7	93	0
08/8	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	89	11	0	83	17	0	30	52	18	10	68	22	0	69	31
15/8	1 Cél.	100	0	0	89	11	0	80	20	0	80	20	0	40	60	0	0	88	12	0	63	37
22/8	1 Cél.	0	0	0	100	0	0	0	85	15	0	83	17	0	80	20	0	75	25	0	70	30
29/8	1 Cél.	100	0	0	97	3	0	23	77	0	0	92	8	0	70	30	0	59	41	0	23	77
05/9	1 Cél.	100	0	0	33	67	0	17	83	0	15	75	0	14	76	0	7	93	0	0	100	0
12/9	1 Cél.	100	0	0	83	17	0	0	60	40	0	55	45	0	52	48	0	50	50	0	42	58
19/9	1 Cél.	100	0	0	90	10	0	88	12	0	85	15	0	78	28	0	10	90	0	10	90	0

Tabela 9 - Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ no período de 06 /10 a 19/12 (Primavera)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	$\pm 25^{\circ}\text{C}$																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
06/10	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	82	18	0	33	67	0	0	81	19	0	76	24	0	0	100
13/10	1 Cél.	100	0	0	97	3	0	91	9	0	26	74	0	0	8	92	0	0	100	0	0	100
20/10	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	79	21	0	28	72	0	0	25	75	0	0	100	0	0	100
27/10	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	83	17	0	31	69	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100
03/11	1 Cél.	100	0	0	99	1	0	86	14	0	37	63	0	0	31	69	0	0	100	0	0	100
10/11	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	93	7	0	42	58	0	0	27	73	0	0	100	0	0	100
17/11	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	85	15	0	47	53	0	0	29	71	0	10	90	0	4	96

Tabela 10 - Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a 30°C no período de 06 /10 a 19/12 (Primavera)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	30°C																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
06/10	1 Cél.	100	0	0	40	60	0	-	8	92	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
13/10	1 Cél.	100	0	0	26	74	0	8	53	39	0	16	84	0	0	100	0	0	100	0	0	100
20/10	1 Cél.	100	0	0	67	33	0	3	97	0	0	53	47	0	0	100	0	0	100	0	0	100
27/10	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	11	89	0	3	53	44	0	0	100	0	0	100	0	0	100
03/11	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	16	84	0	14	86	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100
10/11	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	19	81	0	8	92	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100
17/11	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	13	87	0	11	89	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100

Tabela 11 - Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* recuperados de amostras a -4°C e mantidos a ±25 °C no período de 06 /10 a 19/12 (Primavera)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	±25°C																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
06/10	1 Cél.	100	0	0	76	24	0	33	67	0	33	67	0	28	72	0	0	0	100	0	0	100
13/10	1 Cél.	100	0	0	86	14	0	82	18	0	42	58	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100
20/10	1 Cél.	100	0	0	89	11	0	80	20	0	46	54	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100
27/10	1 Cél.	100	0	0	79	21	0	68	32	0	43	57	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100
03/11	1 Cél.	100	0	0	83	17	0	71	29	0	53	47	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100
10/11	1 Cél.	100	0	0	85	15	0	77	23	0	59	41	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100
17/11	1 Cél.	100	0	0	78	22	0	69	31	0	58	42	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100

Tabela 12 - Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* recuperados de amostras a -4°C e mantidos a 30 °C no período de 06 /10 a 19/12 (Primavera)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	30 °C																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
06/10	1 Cél.	100	0	0	88	12	0	49	51	0	32	68	0	03	42	55	0	0	100	0	0	100
13/10	1 Cél.	100	0	0	93	7	0	57	43	0	39	61	0	0	11	89	0	0	100	0	0	100
20/10	1 Cél.	100	0	0	89	11	0	51	49	0	41	59	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100
27/10	1 Cél.	100	0	0	86	14	0	56	44	0	38	62	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100
03/11	1 Cél.	100	0	0	91	9	0	63	37	0	40	60	0	05	13	82	0	0	100	0	0	100
10/11	1 Cél.	100	0	0	93	7	0	58	42	0	31	69	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100
17/11	1 Cél.	100	0	0	87	13	0	61	39	0	34	66	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100

Tabela 13 - Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* de cão infectado experimentalmente recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ no período de 06 /10 a 17/11 (Primavera)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	$\pm 25^{\circ}\text{C}$																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
25/10	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	80	20	0	33	67	0	0	11	89	0	0	100	0	0	100
01/11	1 Cél.	100	0	0	97	3	0	74	26	0	26	74	0	2	8	90	0	0	100	0	0	100
08/11	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	79	21	0	28	72	0	0	25	75	0	0	100	0	0	100
15 /11	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	83	17	0	31	69	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100
22/11	1 Cél.	100	0	0	99	1	0	86	14	0	37	63	0	0	29	71	0	0	100	0	0	100

Tabela 14 - Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* de cão infectado experimentalmente recuperados de amostras a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e mantidos a 30°C no período de 06 /10 a 17/11 (Primavera)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	30°C																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
25/10	1 Cél.	100	0	0	73	27	0	-0	10	90	0	5	95	0	0	100	0	0	100	0	0	100
01/11	1 Cél.	100	0	0	89	11	0	13	63	24	0	20	80	0	0	100	0	0	100	0	0	100
08/11	1 Cél.	100	0	0	75	25	0	11	89	0	0	50	50	0	0	100	0	0	100	0	0	100
15 /11	1 Cél.	100	0	0	83	17	0	15	85	0	0	41	59	0	0	100	0	0	100	0	0	100
22/11	1 Cél.	100	0	0	89	11	0	26	74	0	19	81	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100

Tabela 15 - Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* de cão infectado experimentalmente recuperados de amostras a -4°C e mantidos a ±25°C no período de 06 /10 a 17/11 (Primavera)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	±25°C																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
25/10	1 Cél.	100	0	0	99	1	0	88	12	0	43	57	0	28	72	0	0	0	100	0	0	100
01/11	1 Cél.	100	0	0	94	6	0	93	7	0	52	48	0	0	67	33	0	42	58	0	28	72
08/11	1 Cél.	100	0	0	95	5	0	89	11	0	46	54	0	0	78	22	0	33	77	0	13	87
15/11	1 Cél.	100	0	0	92	8	0	86	14	0	57	43	0	0	41	59	0	25	75	0	10	90
22/11	1 Cél.	100	0	0	99	1	0	91	9	0	49	51	0	0	37	63	0	0	100	0	0	100

Tabela 16 - Resultados da avaliação dos ovos de *T.vulpis* de cão infectado experimentalmente recuperados de amostras a -4°C e mantidos a ±30°C no período de 06 /10 a 17/11 (Primavera)

Datas de observações	Fase de recuperação dos ovos	30°C																				
		3 d			7 d			10 d			15 d			20 d			25 d			30 d		
		M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL	M	G	OL
25/10	1 Cél.	100	0	0	94	6	0	80	20	0	23	25	52	7	21	72	0	0	100	0	0	100
01/11	1 Cél.	100	0	0	99	1	0	96	4	0	30	70	0	14	34	52	2	13	85	0	0	100
08/11	1 Cél.	100	0	0	100	0	0	78	12	0	17	19	64	9	21	70	3	13	84	0	0	100
15/11	1 Cél.	100	0	0	89	11	0	84	16	0	0	75	25	0	0	100	0	0	100	0	0	100
22/11	1 Cél.	100	0	0	90	10	0	86	14	0	25	25	0	05	13	82	0	0	100	0	0	100