

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

TESE

ESTRUTURA DA COMUNIDADE DE HELMINTOS
PARASITOS EM *RATTUS NORVEGICUS* (RODENTIA:
MURIDAE) NO MUNICÍPIO DE SÃO GONÇALO, ESTADO
DO RIO DE JANEIRO, BRASIL, COM ÊNFASE NO
PARASITISMO POR *ANGIOSTRONGYLUS CANTONENSIS*
(NEMATODA: ANGIOSTRONGYLIDAE)

RAQUEL DE OLIVEIRA SIMÕES

2014



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

**Estrutura da comunidade de helmintos parasitos em *Rattus norvegicus*
(Rodentia: Muridae) no município de São Gonçalo, Estado do Rio de
Janeiro, Brasil com ênfase no parasitismo por *Angiostrongylus*
cantonensis (Nematoda: Angiostrongylidae)**

RAQUEL DE OLIVEIRA SIMÕES

Sob a Orientação do Professor
Dr. José Luis Fernando Luque Alejos

e Co-orientação do Professor
Dr. Arnaldo Maldonado Júnior

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor em**
Ciências Veterinárias, no curso de
Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias, Área de Concentração
em Parasitologia Veterinária.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2014

636.089696

S593e

T

Simões, Raquel de Oliveira, 1983-

Estrutura da comunidade de helmintos parasitos em *Rattus norvegicus* (Rodentia: Muridae) no município de São Gonçalo, Estado do Rio de Janeiro, Brasil com ênfase no parasitismo por *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Angiostrongylidae) / Raquel de Oliveira Simões. - 2014.

138 f.: il.

Orientador: José Luis Fernando Luque Alejos.

Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, 2014.

Bibliografia: f. 71-81.

1. Parasitologia veterinária - Teses. 2. Rato - Parasito - São Gonçalo (RJ) - Teses. 3. Helminto - São Gonçalo (RJ) - Teses. 4. Nematoda - São Gonçalo (RJ) - Teses. 5. *Rattus norvegicus* - Teses. I. Luque Alejos, José Luis Fernando, 1962-. 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

RAQUEL DE OLIVEIRA SIMÕES

Tese submetida ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Parasitologia Veterinária, como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, em Ciências Veterinárias.

TESE APROVADA EM 13/02/2014

José Luis Fernando Luque Alejos. Ph.D. UFRRJ
(Orientador)

Anderson Dias Cezar Ph.D. UCB

Luis Cláudio Muniz. Ph.D. FIOCRUZ

Mara Cíntia Kiefer. Ph.D. UFF

Nilza Nunes Felizardo. Ph.D. UFF

Dedico a minha família e amigos por todo apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

- A realização deste trabalho foi possível devido ao amparo intelectual, logístico, financeiro e emocional que recebi de pessoas muito especiais ao longo destes quatro anos de doutoramento. A elas devoto meus sinceros agradecimentos pelo auxílio na execução deste projeto.

- Ao Dr. José Luis Fernando Luque Alejos por estar sempre pronto a tirar minhas dúvidas, dando conselhos, sendo amigo, pela demonstração de otimismo e confiança na minha capacidade. Obrigada por ter me ensinado um pouco do muito que sabes.

-Ao Dr. Arnaldo Maldonado Júnior pela motivação, apoio, conselhos, paciência nos momentos de stress, companheirismo no trabalho e grande amizade.

- A Mayara, Juliana Ferraz, Michele, Viviane, Douglas, Neto, Juberlan, André, Paula Pimentel, Jeiel, Fernando, Camila, Juliana São Luiz e Susana que me ajudaram durante os 2 anos de coleta, sem vocês não conseguiria realizar o trabalho. Todos foram muito importantes.

- A Dra. Natalie Olifiers e Dra. Rosana Gentile que me auxiliaram nas metodologias estatísticas.

- A Dra. Marta Júlia Faro que prontamente aceitou revisar minha tese.

-Ao Rodrigo Méxas do Serviço de Imagens/IOC-FIOCRUZ, por me auxiliar na confecção das pranchas.

- A todos os estudantes e pesquisadores integrantes do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, pois também de alguma forma me ajudaram, tornando menos árduas as horas difíceis, obrigada.

- Ao meu marido, Rafael Simões, por sempre me incentivar, apoiar e por ter tido paciência nas horas de “stress”.

- Aos meus pais, Hércules e Loide, pelo amor concedido, pelo apoio e confiança depositados nestes anos de estudos.

- Aos meus sogros, Leila e Ronan, que cuidaram do meu filho enquanto estava trabalhando e escrevendo a tese.

- Ao Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios-IOC/FIOCRUZ por me dar todo apoio e logística para realização das coletas.

- Ao CNPq, CAPES, FIOCRUZ-IOC pelo financiamento do projeto.

- Ao CNPq pelo suporte financeiro durante a realização do curso.

Os caminhos da sabedoria
são caminhos agradáveis,
e todas as suas veredas são paz.
Provérbios 3:17

BIOGRAFIA

Raquel de Oliveira Simões, filha de José Hércules de Oliveira e Loide Pinheiro de Oliveira, nasceu dia 10 de Julho de 1983, na cidade do Rio de Janeiro, onde cursou o ensino fundamental e médio no Colégio Pentágono.

Ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) em 2001. Recebeu o título de Médica Veterinária em 2006. Durante a graduação, realizou Iniciação Científica no Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios localizado na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), sob a orientação do Dr. Arnaldo Maldonado Júnior. Em 2007 ingressou no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração Parasitologia Veterinária (UFRRJ), recebendo auxílio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Defendeu a dissertação intitulada “Biodiversidade dos helmintos parasitos dos roedores simpátricos, *Oligoryzomys nigripes* E *Akodon* spp. (Rodentia: Sigmodontinae), na Mata Atlântica, Teresópolis, RJ, Brasil” no ano de 2009, sob orientação do Dr. José Luis Fernando Luque Alejos e Dr. Arnaldo Maldonado Júnior.

Em 2010 iniciou o doutoramento no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração Parasitologia Veterinária (UFRRJ), sob orientação do Dr. Arnaldo Maldonado Júnior e Dr. José Luís Luque, com auxílio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Neste período, realizou visita científica ao *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), *Center for Global Health* (CGH), *Division of Parasitic Diseases and Malaria* (DPDM), Atlanta, Georgia, EUA (2011), onde recebeu treinamento em biologia molecular no diagnóstico da angiostrongilíase, sob a supervisão do Dr. Alexandre José da Silva. Até o momento, possui 17 artigos publicados, e um capítulo de livro.

RESUMO

SIMÕES, Raquel de Oliveira. **Estrutura da comunidade de helmintos parasitos em *Rattus norvegicus* (Rodentia: Muridae) no município de São Gonçalo, Estado do Rio de Janeiro, Brasil com ênfase no parasitismo por *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Angiostrongylidae)** 2014. 159p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Estado do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2014.

O objetivo geral deste trabalho foi descrever a composição e a estrutura da comunidade helmíntica do roedor sinantrópico *Rattus norvegicus* oriundo do bairro de Trindade localizado no município de São Gonçalo, Rio de Janeiro, Brasil. Os objetivos específicos foram (1) realizar a identificação específica dos helmintos gastrointestinais coletados, (2) determinar as influências dos fatores abióticos: temperatura, pluviosidade; fatores bióticos: idade e sexo dos hospedeiros; e associações entre as espécies de helmintos na estrutura da comunidade componente de helmintos gastrointestinais, (3) investigar durante dois anos o padrão de infecção de *Angiostrongylus cantonensis* nesses roedores e avaliar a influência da sazonalidade, assim como da idade e sexo do hospedeiro, sobre os parâmetros parasitológicos observados, (4) determinar a prevalência de *Calodium hepaticum* em *R. norvegicus* na área urbana. Cento e catorze *R. norvegicus* foram coletados em intervalos trimestrais no período de 2010 e 2011. Um total de oito espécies de helmintos foi encontrada parasitando *R. norvegicus*, dos quais seis espécies habitando o trato gastrointestinal. Verificou-se a existência de correlação negativa entre as prevalências do cestóide *Raillietina* sp. e o nematóide *Heterakis spumosa* ao longo do tempo de estudo. Foi observada co-ocorrência significativa entre *Nippostrongylus brasiliensis* e *Strongyloides venezuelensis* e entre *N. brasiliensis* e *H. spumosa*. A ocorrência de *N. brasiliensis*, *H. spumosa* e *Raillietina* sp. não apresentou relação significativa com qualquer variável independente analisada na regressão logística. Os nematóides *N. brasiliensis* e *S. venezuelensis* foram as espécies dominantes na comunidade helmíntica. A prevalência de infecção por *A. cantonensis* permaneceu estável durante a estação chuvosa e seca: 71%, com intervalo de confiança de 95% (58,9-81,6) e 71%, IC de 95% (57,9-80,8), respectivamente, sendo significativamente maior nos ratos fêmeas. Sazonalidade, sexo do hospedeiro e idade contribuíram na variação da abundância parasitária, sendo que as fêmeas e os animais mais velhos (mais pesados) apresentaram significativamente maiores abundâncias. A prevalência da infecção por *C. hepaticum* foi de 45% não apresentando diferença significativa entre o sexo e idade dos roedores. A elevada prevalência de infecção por *A. cantonensis* ao longo do estudo sugere um padrão de transmissão estável conferindo condições adequadas para a propagação do parasito. A dispersão do parasito pode ser mediada preferencialmente por roedores machos que tendem a ter maior área de vida enquanto as fêmeas podem ser mais importantes para a manutenção do parasito em escala local. Desta forma, é necessária uma abordagem multidisciplinar considerando a distribuição ecológica dos ratos e hospedeiros intermediários, assim como as características do ambiente para melhor compreender a dinâmica de transmissão da angiostrongilíase e dos outros parasitos. Sendo assim, a presença de roedores infectados próximos do peridomicílio representa um risco substancial para a saúde humana.

Palavras chaves: *Rattus norvegicus*, *Angiostrongylus cantonensis*, ecologia parasitária, roedor sinantrópico, helmintos

ABSTRACT

SIMÕES, Raquel de Oliveira. **Helminth parasites community structure in *Rattus norvegicus* (Rodentia: Muridea) from São Gonçalo, State of Rio de Janeiro, Brazil emphasis on parasitism by *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Angiostrongylidae)** 2014. 128p. Thesis (Ph.D. Veterinary Sciences, Veterinary Parasitology). Institute of Veterinary, Department of Animal Parasitology, Universidade Federal Rural do Estado do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2014.

The aim of this study was to describe the helminth community composition and structure of synanthropic rodent *Rattus norvegicus* from Trindade located in São Gonçalo, Rio de Janeiro, Brazil. The specific objectives were (1) perform the specific identification of the gastrointestinal helminths collected, (2) determine the influence of abiotic factors: temperature, rainfall; biotic factors: age and sex of host; and associations between helminth species in the structure of the component community of gastrointestinal helminths (3) investigate the pattern of infection of *Angiostrongylus cantonensis* in these animals during two years, and evaluate the influence of seasonality, as well as the host age and sex, on the observed parasitological parameters (4) determine the prevalence of *Calodium hepaticum* in *R. norvegicus* in urban area. One hundred and fourteen *R. norvegicus* were collected during 2010 and 2011. A total of eight species of helminths was found parasitizing *R. norvegicus*, of which six species were collected from the gastrointestinal tract. There was a negative correlation between the prevalence of cestode *Raillietina* sp. and nematode *Heterakis spumosa* along time of the study. Significant co-occurrence was observed between *Nippostrongylus brasiliensis* and *Strongyloides venezuelensis* and between *N. brasiliensis* and *H. spumosa*. There was no significant relationship with any independent variable and the occurrence of *N. brasiliensis*, *H. spumosa* and *Raillietina* sp. in univariate logistic regression analyze. The nematodes *N. brasiliensis* and *S. venezuelensis* were dominant in the helminth community. The prevalence of *A. cantonensis* infection remained stable during the rainy and dry season: 71% with a confidence interval of 95% (58.9 to 81.6) and 71%, 95% CI (57.9 to 80.8), respectively, significantly higher in female rats. Seasonality, the host sex and age contributed to variation in parasite abundance, with females and older (heavier) animals showing significantly higher abundances. The prevalence of infection by *C. hepaticum* was 45% with no significant difference between sex and age of the rodents. The high prevalence of *A. cantonensis* infection throughout the study suggests a stable pattern of transmission and adequate conditions for the parasite spread. Dispersion of the parasite to new areas may be mediated by males that tend to have larger dispersion ability, while females may be more important for maintaining the parasite on a local. Thus, a multidisciplinary approach considering the ecological distribution of the rats and intermediate hosts, as well as environmental features is required to further understand the dynamics transmission of angiostrongyliasis and others parasites. Therefore, the presence of rodents infected near the peridomicile is a substantial risk to human health.

Key words: *Rattus norvegicus*, *Angiostrongylus cantonensis*, parasitic ecology, synanthropic rodent, helminth.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa mostrando localização da área de estudo.	14
Figura 2. Áreas de coletas no bairro de Trindade.	14
Figura 3. Disposição das armadilhas nos transectos.	15
Figura 4 A e B. Armadilhas Tomahawk® e Sherman® (da esquerda para direita) e <i>Rattus norvegicus</i> capturado pela armadilha Tomahawk.	15
Figura 5. Câmara de CO ₂	16
Figura 6. Laboratório de Campo.	17
Figura 7. Fotomicrografia de <i>Hymenolepis nana</i> . (A) Rostelo com ganchos em forma de “Y”.(B) Escólex mostrando o rostelo armado e as ventosas. (C) Proglote madura. (D) Proglote grávida. Barra de escala: 20 µm.	25
Figura 8. Fotomicrografia de <i>Raillietina</i> sp., (A) Escólex mostrando ganchos alternados, pequenos espinhos no tegumento e ventosas, Barra de escala= 50 µm. (B) Rostelo com ganchos alternados em forma de martelo. Barra de escala= 100 µm. (C) Proglote Madura. Barra de escala= 100 µm. (D) Proglote grávida com cápsula ovógera, Barra de escala= 100 µm. (E) Bolsa do cirro detalhando o cirro. (F) Cápsula ovígera com ovos embrionados, Barra de escala=100 µm.	26
Figura 9. Fotomicrografia de <i>Nippostrongylus brasiliensis</i> . (A) Parte anterior, fêmea. (B) Parte posterior, fêmea. (C) Bolsa copuladora, macho. (D) Detalhe espículo. Barra de escala= 100 µm.	27
Figura 10. Fotomicrografia de <i>Strongyloides venezuelensis</i> . (A) Parte posterior. (B) Detalhe da vulva. Barra de escala= 100 µm.	28

Figura 11. Fotomicrografia de <i>Heterakis spumosa</i> . (A) Fêmea, extremidade anterior mostrando bulbo esofágico. (B) Porção média da fêmea evidenciando os lábios associados a vulva e o útero repleto de ovos. (C) Fêmea, extremidade posterior. (D) Macho, extremidade posterior. (E) Macho, extremidade posterior evidenciando as papilas. (F) Macho, extremidade posterior evidenciando espículo e ventosa. Barra de escala= 100 µm.	29
Figura 12. Fotomicrografia de <i>Moniliformis moniliformis</i> . (A) Probóscide, pescoço e tronco. (B) Probóscide mostrando os ganchos. Barra de escala= 100 µm.	30
Figura 13. Ciclo de vida <i>Angiostrongylus cantonensis</i> . Fonte: LABPMR.....	43
Figura 14. Distribuição dos hospedeiros intermediários e definitivos naturalmente infectados por <i>Angiostrongylus cantonensis</i> e casos humanos de meningite eosinofílica nos estados brasileiros. Fonte: LABPMR	44
Figura 15. Bolsa copuladora de <i>Angiostrongylus cantonensis</i> , macho. Barra de escala= 50 µm.....	49
Figura 16. Larva de <i>Angiostrongylus cantonensis</i> no espaço subaracnóide de <i>Rattus norvegicus</i>	49
Figura 17. Prevalência sazonal de vermes adultos e L5 de <i>Angiostrongylus cantonensis</i> em <i>Rattus norvegicus</i> coletados em uma área urbana do Rio de Janeiro, Brasil.	51
Figura 18. Histologia do pulmão de <i>Rattus norvegicus</i> naturalmente infectado. (A) infiltrado intersticial e alveolar associadas com infiltrado inflamatório, fibrose e formação de granulomas (seta) ao redor das larvas e ovos. (B) Detalhe mostrando as larvas (la). (C) Substituição do tecido pulmonar funcional por tecido fibroso. (D) Vermes adultos no interior da artéria pulmonar.	51
Figura 19. Prevalência seguida pelo intervalo de confiança de 95% de infecções por <i>Angiostrongylus cantonensis</i> em <i>Rattus norvegicus</i> coletados durante 2010 e 2011.....	52

Figura 20 A e B. Mediana da abundância de <i>Angiostrongylus cantonensis</i> em <i>Rattus norvegicus</i> coletados em área urbana do Rio de Janeiro, Brasil.	52
Figura 21. Árvore filogenética construída a partir da análise pelo método de Neighbor-joining e distância Kimura 2-parameter (K2-p) utilizando as sequências de COI de <i>Angiostrongylus</i> disponíveis no GenBank e as sequências de 3 espécimes de <i>Angiostrongylus</i> coletados nas artérias pulmonares de <i>Rattus norvegicus</i> naturalmente infectado. Os espécimes consistiram de 1 haplótipo, que agrupou junto com o haplótipo da República da China com uma baixa distância genética (K2-p 0,038). Barra de escala indica 0,02 K2-p de distância genética.....	53
Figura 22. Ciclo de vida de <i>Calodium hepaticum</i>	64
Figura 23 A e B. Lobos do fígado depositado em placa de Petri, imerso em solução salina. Evidencia-se a extensão das alterações no órgão pelas numerosas manchas sinuosas e irregulares de coloração amarelada (setas) observadas em sua superfície.	66
Figura 24 A e B. Microscopia de luz (A) Fragmento de fêmea de parasito retirado mecanicamente do parênquima hepático. Barra de escala= 100 µm. (B) Detalhe de um ovo embrionado com dupla casca espessa estriada e duplo opérculo nos pólos opostos (seta) Barra de escala= 50 µm.	67
Figura 25 A-F. Características histológicas do fígado de <i>Rattus norvegicus</i> infectados por <i>Calodium hepaticum</i> . (A) Parênquima hepático, caracterizado pela presença de ovos de vermes (eg) e reação do sistema imunológico celular do hospedeiro. (B) Parênquima hepático com infecção crônica caracterizada pela presença de tecido fibroso (setas) e a acumulação de tecido conjuntivo adjacente ao corpo do parasita preenchido com os ovos. (C) Presença de <i>C. hepaticum</i> circundado por granulomas. (D) Áreas de necrose (setas). (E) Fibrose septal com pronunciada remodelação do parênquima. (F) Discretas fibrose septal.....	68

ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1.** Prevalência (95% Intervalo de Confiança), intensidade média e abundância média seguidas do desvio padrão dos helmintos gastrointestinais de *Rattus norvegicus* coletados no município de São Gonçalo, estado do Rio de Janeiro, Brasil..... 33
- Tabela 2.** Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre as prevalências de helmintos em *Rattus norvegicus* coletados no município de São Gonçalo, estado do Rio de Janeiro, Brasil..... 33
- Tabela 3** Associação de espécies usando o teste de contigência qui-quadrado considerando o número de hospedeiros infectados e não infectados de cada par de espécies testado. *Nippostrongylus brasiliensis*= NB; *Strongyloides venezuelensis*= NV; *Heterakis spumosa*= HP and *Raillietina* sp.= R..... 33
- Tabela 4.** Procedimento de seleção do modelo com base nos critérios de informação Akaike corrigido (AIC). Δ AIC representa a diferença entre o valor de AIC de um modelo e o melhor modelo (com o menor valor de AIC). 34
- Tabela 5.** Ocorrência das espécies de helmintos de *Rattus norvegicus* entre os continentes, com base nos dados de literatura e nos dados do presente estudo..... 35
- Tabela 6.** Número de indivíduos de *Rattus norvegicus* infectados por *Angiostrongylus cantonensis* organizados por idade, sexo e estação. 54
- Tabela 7.** Prevalência (P) com o intervalo de confiança de 95%, intensidade média (IM) e abundância média (AM), seguidas do erro padrão das infecções por *Angiostrongylus cantonensis* em *Rattus norvegicus* coletados durante 2010 e 2011 em São Gonçalo, RJ... 54
- Tabela 8.** Modelos que melhor descrevem a abundância parasitária em *Rattus norvegicus* coletados em São Gonçalo, Rio de Janeiro/Brasil durante 2010 e 2011; k= número de parâmetros no modelo. 55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3 CAPÍTULO I.....	9
COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DA COMUNIDADE DE HELMINTOS PARASITOS GASTROINTESTINAIS DE <i>Rattus norvegicus</i> NATURALMENTE INFECTADOS EM ÁREA URBANA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO RJ, BRASIL.....	9
3.1 Introdução.....	12
3.2 Material e Métodos	13
3.2.1 Metodologia comum a todos os capítulos	13
3.2.1.1 Área de estudo	13
3.2.1.2 Captura dos roedores	15
3.2.2 Metodologia específica do capítulo I.....	17
3.2.2 .1 Coleta e identificação dos helmintos.....	17
3.2.2.2 Análise da comunidade helmíntica.....	18
3.3 Resultados.....	20
3.3.1 Taxonomia das espécies de helmintos gastrointestinais.....	20
3.3.1.1 CESTODA Rudolphi, 1808.....	20
3.3.1.2 NEMATODA Rudolphi, 1808	22
3.1.3 ACANTOCEPHALA Kohltreuther, 1771	24
3.2 Comunidade Componente	31
3.4 Discussão	36
4 CAPÍTULO II.....	40
ANGIOSTRONGILÍASES ENDÊMICA NO RIO DE JANEIRO - ESTUDO LONGITUDINAL EM UMA POPULAÇÃO DE <i>Rattus norvegicus</i> : INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE E CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DO HOSPEDEIRO	40
4.1 Introdução.....	43
4.2 Material e Métodos.....	46
4.2.1. Histologia (metodologia referente ao capítulo II e III).....	46
4.2.2 Coleta e identificação taxonômica de <i>Angiostrongylus cantonensis</i>	46

4.2.3 Identificação molecular e análise filogenética de <i>Angiostrongylus cantonensis</i>	46
4.2.4 Análise dos dados	47
4.3 Resultados.....	49
4.4 Discussão	56
5 CAPÍTULO III	60
OCORRÊNCIA DE <i>Calodium hepaticum</i> (NEMATODA: CAPILLARIIDAE) EM <i>Rattus norvegicus</i> DE ÁREA URBANA NO RIO DE JANEIRO, BRASIL: ASPECTOS MORFOLÓGICOS, QUANTITATIVOS E HISTOPATOLÓGICOS.	60
5.1 Introdução.....	63
5.2 Material e Métodos.....	65
5.3 Resultados.....	66
5.4 Discussão	69
6 CONCLUSÕES GERAIS	70
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
8 ANEXOS	83
8.1 Artigos publicados.....	83
8.1.1 ENDEMIC ANGIOSTRONGYLIASIS, RIO DE JANEIRO, BRAZIL. <i>Emerging Infectious Diseases</i> , v.17, n. 7, 1331-1333, 2011.	83
8.1.2 A LONGITUDINAL STUDY OF <i>Angiostrongylus cantonensis</i> IN AN URBAN POPULATION OF <i>Rattus norvegicus</i> IN BRAZIL: THE INFLUENCES OF SEASONALITY AND HOST FEATURES ON THE PATTERN OF INFECTION. <i>Parasites and vectors</i>	87
8.2 Artigo aceito para publicação.....	96
8.2.1 PREVALENCE OF <i>Calodium hepaticum</i> (SYN. <i>Capillaria hepatica</i>) IN <i>Rattus norvegicus</i> IN THE URBAN AREA OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL. <i>Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo</i>	97
8.3 Capítulo de livro publicado	105
8.3.1 ANGIOSTRONGYLIASIS IN THE AMERICAS- <i>Zoonosis</i> editado por Dr. Jacob Lorenzo-Morales, <i>Capítulo 17, p. 303-320, 2012.</i> -.....	105

1 INTRODUÇÃO GERAL

O avanço da urbanização no Brasil está relacionado a mobilidade do homem de áreas rurais para os grandes centros urbanos. Este processo de migração favorece o surgimento de cidades sem infra-estrutura e disponibilidade de serviços urbanos, capazes de comportar o crescimento deste grande contingente populacional (CORRÊA, 1994; GOMES BRAGA, 2006). Nestas condições decorre a proliferação de pragas urbanas, tais como roedores e insetos, o que pode levar a exposição da população a agentes parasitários.

Como consequência do processo de urbanização, ocorre um empobrecimento na biodiversidade das áreas ocupadas com extinção de espécies da fauna e flora e ocorrência de espécies exóticas e invasoras (SANTOS et al., 2009), entre as quais se destacam os roedores sinantrópicos *Mus musculus* Linnaeus, 1758, *Rattus rattus* Linnaeus, 1758 e *Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769.

A dispersão das espécies de roedores sinantrópicos pelo mundo deu-se com o início do comércio mundial (na era medieval, século XII) entre a Europa e a Ásia e se intensificou a partir dos séculos XV e XVI, com a expansão marítima europeia e com o surgimento das novas rotas de comércio internacional entre os países europeus, África e Américas (BROOK, 1973). Devido à sua adaptabilidade, altas taxas reprodutivas e comportamento oportunista e generalista estes roedores tem se mostrado eficientes na colonização de áreas urbanas (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2002).

O roedor *R. norvegicus* apresenta afinidade por ambientes aquáticos e constroem suas tocas, conhecidas como ninheiras, nas margens dos rios. São encontrados frequentemente em esgotos e peridomicílios onde encontram refúgio e alimento (TRAWEGER; SLOTTA-BACHMAYR, 2004). Estes animais acarretam prejuízos econômicos que vão desde a destruição de cabos elétricos a contaminação de alimentos, além de estarem envolvidos na transmissão de doenças para o homem e animais de companhia e produção.

Tem-se dado ênfase a estudos que analisam a presença de roedores pela sua importância na saúde pública (HIMSWORTH et al., 2013), visando esclarecer a ocorrência das zoonoses relacionadas a esses animais em centros urbanos. Esta compreensão tem permitido a orientação das ações relacionadas as ameaças à saúde, monitoramento e redução dos riscos as doenças zoonóticas emergentes associadas, conhecimento entre os profissionais da área de saúde em relação a presença de fatores de riscos, e desenvolvimento de estratégias efetivas no controle de ratos (HIMSWORTH et al., 2013).

Os estudos ecológicos enfocando a patógenos zoonóticos em populações de ratos sinantrópicos auxiliam na identificação de padrões de transmissão de agentes etiológicos, das condições ambientais relacionadas a dinâmica dessas parasitoses e os riscos para saúde humana. Como exemplo, podemos citar o aumento da prevalência da infecção por *Leptospira* spp., associado a idade do hospedeiro (KRØJGAARD et al., 2009). Contudo, as interações parasitárias devem ser compreendidas como comunidades capazes de interagir com o hospedeiro e com o ambiente em que estão inseridas.

A ecologia das zoonoses associadas aos roedores é complexa, devido a múltiplas formas pelas quais os ratos, homem, patógenos, vetores e ambiente podem interagir. Além disso, os parasitos componentes da biodiversidade têm sido negligenciados em muitos estudos ecológicos (MARCOGLIESE, 2005), em parte, devido a baixa letalidade em seus hospedeiros e difícil detecção sem a utilização de técnicas diagnósticas específicas.

O estudo da relação parasito-hospedeiro compreende uma abordagem ecológica, pois engloba o ambiente biótico (o próprio hospedeiro) e o ambiente abiótico (ecossistemas onde a população hospedeira está inserida) (POULIN, 2007).

O estudo da comunidade parasitária nos ecossistemas naturais tem demonstrado que a quantidade e diversidade de parasitos em um determinado hospedeiro variariam ao longo do tempo. A variação na carga parasitária dos hospedeiros pode ser determinada por vários fatores, alguns influenciando independentemente a suscetibilidade/resistência a infecção, outros interagindo em uma variedade de níveis da estrutura da comunidade (POULIN, 2007). Tais fatores podem estar divididos em classes: (i) fatores bióticos que são aqueles provenientes do hospedeiro e variando entre os animais individualmente; por exemplo: idade, sexo, diferenças hormonais, variação genética na suscetibilidade/resistência a infecção; e (ii) fatores abióticos que são aqueles que surgem da variação no ecossistema do hospedeiro; por exemplo: estações do ano, diferenças na qualidade do habitat, densidade dos hospedeiros intermediários, nível de contaminação do solo pelo parasito, variações nas temperaturas, pluviosidade, etc (POULIN, 2007).

Deste modo, cada espécime hospedeiro de uma população representa um habitat composto por comunidades parasitárias hierarquicamente estruturadas, fornecendo uma réplica natural em relação ao outro hospedeiro e permitindo inferir análises comparativas da variabilidade nas estruturas comunitárias em todos os seus níveis (POULIN, 2007).

Estudos realizados na Europa, Ásia e África têm mostrado o potencial zoonótico de roedores sinantrópicos e a influência de fatores bióticos (idade e sexo do hospedeiro) e abióticos na estruturação da comunidade helmíntica (ABU-MADI et al., 2005;

KATARANOVSKI et al., 2011; PAKDEENARONG et al., 2013). Entretanto, na América do Sul (HANCKE et al., 2011; VILLAFANE et al., 2008), particularmente no Brasil (ARAÚJO, 1967; CHIEFFI et al., 1980), existe um limitado conhecimento sobre a helmintofauna desses roedores, seu potencial zoonótico e os fatores que possam influenciar na estruturação da comunidade helmíntica.

Neste trabalho, foi descrita a composição e a estrutura da comunidade helmíntica do roedor sinantrópico *R. norvegicus*, no bairro de Trindade no município de São Gonçalo, Rio de Janeiro, Brasil. Os resultados serão apresentados em três capítulos abordando questões relacionadas a relação parasito-hospedeiro e ambiente. O objetivo específico do capítulo I foi identificar as espécies de helmintos gastrointestinais, determinando as influências dos fatores abióticos (temperatura, pluviosidade), bióticos (idade e sexo dos hospedeiros) e associações entre as espécies de helmintos na estrutura da comunidade componente de helmintos gastrointestinais durante dois anos. Os capítulos II e III tiveram como objetivo estudar espécies de helmintos que não parasitavam o trato gastrointestinal. O capítulo II investigou, durante 2010 e 2011, o padrão de infecção de *Angiostrongylus cantonensis* Chen, 1935 e avaliou a influência da sazonalidade, assim como da idade e sexo do hospedeiro, sobre os parâmetros parasitológicos observados nesses roedores. Por fim, o capítulo III teve por objetivo determinar a prevalência de *Calodium hepaticum* (Brancroft, 1893) na área urbana considerando que esta espécie foi relatada pela primeira vez no Estado do Rio de Janeiro.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A ordem Rodentia é o maior grupo de mamíferos, representados por cerca de 1.500 espécies vivas (de um total de 4.000 espécies de mamíferos vivos) (ANDERSON; JONES, 1984). A principal característica desse grupo é a presença de dentes incisivos proeminentes que crescem continuamente. Roedores são encontrados como espécies nativas em todos os continentes, exceto a Antártida. A família Muridae, em particular, contém mais de 1.100 espécies de ratos e camundongos, representando dois terços de todas as espécies de roedores (ALVES, 1987).

Embora a maioria dos roedores vivam em ambientes silvestres fazendo parte da cadeia alimentar de espécies predadoras (aves de rapina, serpentes, lagartos), algumas espécies adaptaram-se às condições ambientais criadas pelo homem, onde encontram água, abrigo e alimento para sobreviver, sendo considerados roedores sinantrópicos (CARVALHO-NETO, 1995). Esses representam o mamífero mais bem adaptado no planeta depois dos seres humanos. Dentro dos roedores sinantrópicos comensais temos o *Mus musculus*, *Rattus rattus* e *Rattus norvegicus*.

O roedor *R. norvegicus* também conhecido como ratazana e rato de esgoto, teve sua origem no Sudeste da Ásia e é dotado de uma extraordinária adaptabilidade, podendo sobreviver e proliferar em condições adversas nos mais variados ambientes, sendo extremamente habilidosos e resistentes. Vivem em colônias ou agrupamentos, cujos números variam conforme as condições ambientais do território, sendo neofóbicos, de hábitos noturnos e dificilmente sua extensão de habitat excede a 50 metros. Apresentam visão limitada, porém com alta sensibilidade à luz, percebendo variações de claro e escuro. Necessitam das habilidades sensoriais para se locomover livremente, sair em busca de alimento e fugir de predadores no escuro. A audição é um de seus sentidos mais desenvolvidos, pois reage a qualquer barulho repentino e também ao ultra-som, ajudando a detectar e escapar do perigo com muita antecedência. Em caso de perigo iminente, o comportamento de fuga se alastra em cadeia na colônia sem que a causa real da ameaça seja percebida por todos, bastando que um primeiro animal perceba o perigo e inicie o movimento de fuga, sendo em seguida imitado pelos demais (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2002).

A dispersão desses animais pode ocorrer de forma ativa (quando saem de suas colônias em busca de novas áreas ou em busca de abrigo) ou passivamente (quando indivíduos são transportados dentro de contêineres, navios, trens e caminhões). Um dos principais fatores dessa dispersão é o tamanho populacional, redução de abrigo e alimento.

Nas grandes cidades o processo de urbanização desenfreado, expansão de comunidades e loteamentos clandestinos sem redes de esgoto e com coleta de lixo inadequada ou insuficiente formam condições propícias para proliferação destas espécies (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2002). Desta forma, o ambiente urbano forma um cenário particularmente problemático uma vez que as cidades possuem características que propiciam um ótimo habitat para os roedores sinantrópicos, um contato próximo desses animais com seres humanos e a possibilidade de transmissão de doenças potencialmente zoonóticas.

Assim, a importância dos roedores sinantrópicos está relacionada aos prejuízos econômicos (contaminam com suas fezes e urinas alimentos para o consumo tanto no campo quanto nas lojas, além de danificarem pavimentos e estruturas elétricas podendo até mesmo causar incêndios) e principalmente, são responsáveis por transmitirem doenças ao homem (PROCTOR, 1994).

Os roedores trazem risco à saúde humana, pois participam da cadeia epidemiológica de pelo menos 30 espécies representantes de zoonoses que incluem doenças bacterianas, virais, por protozoários e helmintos (ACHA; SZYFRES, 2003).

Uma importante zoonose relacionada ao *R. norvegicus* é a angiostrongilíase causada pelo nematoide *Angiostrongylus cantonensis*. Esta espécie representa o principal agente etiológico causador de centenas de casos de angiostrongilíase humana ou meningite eosinofílica (COWIE, 2013; WANG et al., 2012). Os roedores são os hospedeiros definitivos e os moluscos gastrópodes os hospedeiros intermediários. Esse nematoide foi descrito pela primeira vez parasitando *R. norvegicus* e *R. rattus* em Guangzhou (Canton), China, por Chen (1935) habitando as artérias pulmonares (CHEN, 1935; OUYANG et al., 2012; WANG et al., 2012).

Esta parasitose tem sido considerada emergente, uma vez que há uma expansão tanto geográfica quanto em relação a sua gama de hospedeiros intermediários (COWIE, 2013). O primeiro caso humano da doença foi relatado em Taiwan em 1945 e, desde então, vários surtos da doença em humanos têm sido reportados (WANG et al., 2008; 2012). Atualmente, ocorre no sudeste da Ásia, África, Europa, Oceania, e recentemente nas Américas, totalizando mais de 30 países. Entretanto, muitos casos podem ter sido ignorados ou não relatados durante as últimas décadas devido à falta de informações sobre angiostrongilíases.

Nas Américas, LINDO et al. (2002) investigaram o envolvimento de roedores sinantrópicos e moluscos na transmissão de *A. cantonensis* em condições naturais após um surto em turistas que retornaram da Jamaica para os Estados Unidos no ano de 2000.

CHEN et al. (2011) avaliando a situação da infecção por *A. cantonensis* nos roedores, moluscos e população humana local na região oeste-central da província de Guanddong, China, concluíram que as taxas de infecção nos ratos e nos moluscos *Achatina fulica* Férussac, 1821 e *Pomacea caniculata* (Lamarck, 1819) apresentavam média intensidade.

QVARNSTROM et al. (2013) analisaram hospedeiros intermediários, definitivos (*Rattus* spp.) e paratênicos a fim de determinar a prevalência de *A. cantonensis* nos Estados Unidos através da identificação morfológica e baseada no PCR (*Polymerase Chain Reaction*) em tempo real. Foi verificada diferença significativa nas taxas de infecção nos hospedeiros definitivos quando comparada as duas técnicas, estando 100% das amostras do tecido positivas para o parasito através da técnica de PCR. Esse fato indica que a necropsia de roedores pode subestimar as taxas de infecção por *A. cantonensis*.

No Brasil, CALDEIRA et al. (2007) reportaram pela primeira vez moluscos naturalmente infectados no estado de Espírito Santo. Posteriormente, SIMÕES et al. (2011) relataram a ocorrência de hospedeiro definitivo naturalmente infectado no estado do Rio de Janeiro. Recentemente, THIENGO et al. (2013) relataram a situação atual de *A. cantonensis* no Brasil, focando nos hospedeiros intermediários, definitivos e casos humanos.

A ecologia da angiostrongilíase está relacionada principalmente com o ambiente e fatores que favoreçam a sobrevivência das populações de moluscos e roedores. A frequência da parasitose em humanos depende da abundância desses hospedeiros e o grau em que eles estão infectados, e também do hábito alimentar da população (ACHA; SZYFRES, 2003; WANG et al., 2008).

Desta forma, os parasitas são importantes componentes de ecossistemas e apresentam função central na dinâmica da população e estrutura da comunidade, e também podem trazer informações relevantes sobre o estresse ambiental, estrutura e função na cadeia alimentar e biodiversidade (MARCOGLIESE, 2004; LAFFERTY et al., 2008;), sendo necessário estudos para observação das características da comunidade de parasitos.

Nos últimos anos tem-se verificado um aumento dos estudos sobre estrutura das comunidades helmínticas de hospedeiros roedores silvestres no mundo (ABU-MADI et al., 2000; FUENTES et al., 2004; CERQUEIRA et al., 2007; BEHNKE, 2008; HANCKE et al., 2011; MIÑO et al., 2012; ZAIN et al., 2012), contudo, são poucos os estudos visando esse tema no território brasileiro (MALDONADO et al., 2006; SIMÕES et al., 2010a; 2010b).

MALDONADO et al. (2006) estudaram a comunidade helmíntica do rato d'água *Nectomys squamipes* naturalmente infectado pelo *Schistosoma mansoni* no município de

Sumidouro, Rio de Janeiro, concluindo que a espécie exótica está bem estabelecida na comunidade helmíntica natural deste roedor e está adaptada ao hospedeiro.

SIMÕES et al. (2010a) verificaram a estrutura da comunidade helmíntica de três roedores silvestres (*Akodon montensis*, *A. cursor* e *Oligoryzomys nigripes*) relacionados filogeneticamente e que vivem em simpatria e identificaram o habitat do hospedeiro como um importante fator na estruturação da comunidade.

SIMÕES et al. (2010b) analisaram a variação da comunidade helmíntica do roedor *Thrichomys pachyurus* em dois ambientes distintos (uma área preservada e uma área de criação de gado) no Pantanal brasileiro, observando que as condições ambientais podem proporcionar modificação na estrutura da comunidade helmíntica.

Enfatizando os estudos relacionados aos endoparasitas de roedores sinantrópicos, o cenário é semelhante ao observado em helmintos de roedores silvestres. Vários países têm estudado extensamente a helmintofauna e fatores bióticos e abióticos que possam influenciar na estrutura da comunidade helmíntica desses roedores. Entretanto, no Brasil, os estudos são de relato de espécies de helmintos encontrados em *R. norvegicus* e *R. rattus* seguido das prevalências (ARAÚJO, 1967; CHIEFFI et al., 1980).

ABU-MADI et al. (2005) avaliaram o efeito da idade, sexo do hospedeiro e densidade na fauna parasitária em populações de *R. norvegicus* do Catar, observando que os roedores que estavam infectados por *Hymenolepis diminuta* estavam duas vezes mais parasitados pela pulga *Xenopsylla astia* quando comparados com os não infectados pelo cestoide.

KATARANOVSKI et al. (2011) avaliaram a influência da idade, sexo do hospedeiro e habitat (urbano e rural) na infecção por helmintos gastrointestinais em *R. norvegicus* na Sérvia, observando que grande parte dos jovens e subadultos infectados estavam em habitat rural, enquanto que uma tendência oposta foi observada para os ratos adultos.

Na Argentina, VILLAFANE et al. (2008) caracterizaram a comunidade helmíntica enfatizando a relação parasito-hospedeiro em *R. norvegicus*, detectando que os roedores parasitados por *Heterakis spumosa* e *H. diminuta* eram maiores e mais velhos do que aqueles não parasitados. Além disso, roedores sinantrópicos positivos para *Nippostrongylus brasiliensis* e *Syphacia muris* não apresentaram diferença significativa no tamanho e na idade quando comparados com os negativos.

COOMANSINGH et al. (2009) determinaram a prevalência de helmintos intestinais em *R. norvegicus* da Granada, Espanha, detectando cargas parasitárias significativas nos ratos capturados, sendo *Moniliformis moniliformis*, *H. diminuta* e *Taenia taeniformis* de importância para saúde pública devido seu potencial zoonótico.

HANCKE et al. (2011) avaliaram o papel de *R. norvegicus* como potencial reservatório de parasitos zoonóticos em área urbana da Argentina, identificando o cestóide *H. nana* de importância médica.

Na Malásia, ZAIN et al. (2012) compararam a comunidade helmíntica de *R. norvegicus* e *R. rattus* de duas localidades, concluindo que ambos os roedores apresentam os helmintos zoonóticos *H. nana* e *H. diminuta* em altas prevalências em todas as localidades estudadas.

TUNG et al. (2013) também investigaram infecções helmínticas em roedores sinantrópicos em um mercado tradicional de Taiwan, confirmando que estes roedores estão parasitados por helmintos zoonóticos (*Angiostrongylus cantonensis*, *Calodium hepaticum*, *H. nana*, *H. diminuta*) e portanto, apresentam um sério risco a saúde humana e animais domésticos.

PAKDEENARONG et al. (2013) analisaram o efeito da estação e do habitat na comunidade helmíntica de roedores murídeos de duas localidades da República Democrática Popular do Lau (país asiático), sugerindo que o aumento da influência humana pode ter impactado na diversidade e na abundância dos helmintos.

No México, PANTI-MAY et al. (2013) calcularam a prevalência e a intensidade parasitária dos helmintos intestinais de *M. musculus* e *R. rattus* coletados em uma área rural e observaram que a helmintofauna apresenta um baixo risco potencial para os moradores locais.

Neste contexto, a importância dos roedores como hospedeiros reservatórios definitivos ou intermediários de um grande número de parasitos responsáveis por agravos a saúde humana e animal, associado à elevada capacidade de proliferação, bem como sua cohabitação com o homem em ambiente doméstico e peri-doméstico, faz com que estes animais desempenhem um papel relevante na manutenção e dispersão de agentes infecciosos, sendo necessário que se acumule informações sobre as comunidades parasitárias de roedores sinantrópicos.

3 CAPÍTULO I

**COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DA COMUNIDADE DE HELMINTOS PARASITOS
GASTROINTESTINAIS DE *Rattus norvegicus* (RODENTIA:MURIDAE)
NATURALMENTE INFECTADOS EM ÁREA URBANA DO ESTADO DO RIO DE
JANEIRO, BRASIL**

RESUMO

O roedor sinantrópico *Rattus norvegicus* está envolvido direta ou indiretamente na transmissão de doenças, além de poder agir como hospedeiro reservatório de diversos patógenos zoonóticos. Os objetivos deste trabalho foram identificar os helmintos gastrointestinais e investigar durante dois anos a influencia da idade e sexo dos hospedeiros, bem como os efeitos da temperatura e estação do ano na estrutura da comunidade de helmintos em população *R. norvegicus* em área urbana do Rio de Janeiro. Além disso, foram investigadas associações entre as espécies de helmintos. Um total de 13.540 helmintos individuais foram recuperados. A maioria das espécies coletadas foram nematoides representando 98,7% de todos os espécimes de helmintos. Espécies de nematoides foram: *Nippostrongylus brasiliensis*, *Strongyloides venezuelensis* e *Heterakis spumosa*. Duas espécies de cestoides: *Raillietina* sp. e *Hymenolepis nana* e uma única espécie de acantocéfalo *Moniliformis moniliformis*. *Nippostrongylus brasiliensis* foi a espécie mais prevalente e abundante. Houve uma correlação negativa entre as prevalências de *Raillietina* sp. e *H. spumosa* ao longo do tempo. Foi observada co-ocorrência entre *N. brasiliensis* e *S. venezuelensis* e entre *N. brasiliensis* e *H. spumosa*. A ocorrência de *N. brasiliensis*, *H. spumosa* e *Raillietina* sp. não apresentou relação significativa com qualquer variável independente analisada na regressão logística. A correlação positiva observada entre *N. brasiliensis* e *S. venezuelensis* ao longo do tempo e a co-ocorrência destas duas espécies dominantes podem ser resultado da similaridade dos ciclos de vida dos helmintos. Da mesma forma, a co-ocorrência de *N. brasiliensis* e *H. spumosa* pode estar relacionada com as características de infecção que é direta e/ou oral. Esses resultados contribuem para a compreensão da estrutura da comunidade de helmintos neste roedor sinantrópico. Embora as espécies de importância médica tenham sido as menos abundantes, apontamos para a necessidade de controle contínuo da população de ratos e de programas de educação em saúde para reduzir a transmissão de parasitos humanos gastrointestinais.

ABSTRACT

The synanthropic rodent *Rattus norvegicus* is directly or indirectly involved in disease transmission, and can act as host reservoir of several zoonotic pathogens. The objectives of this study were to identify the helminths gastrointestinal and investigate during two years the effects of temperature, season, host age and sex in the helminth community structure in *R. norvegicus* population in urban area of Rio de Janeiro. In addition, it was investigated associations between species of helminths. A total of 13.540 individual parasites were recovered. Most species collected were nematode representing 98.7 % of all helminths specimens. Species of nematodes were *Nippostrongylus brasiliensis*, *Strongyloides venezuelensis* and *Heterakis spumosa*. Two species of cestodes: *Raillietina* sp. *Hymenolepis nana*, and a single species of acanthocephalan identified as *Moniliformis moniliformis*. *N. brasiliensis* was the most prevalent and abundant species. There was a negative correlation between the prevalence of *Raillietina* sp. and *H. spumosa* along time. Co-occurrence was observed between *N. brasiliensis* and *S. venezuelensis* and between *Nippostrongylus brasiliensis* and *H. spumosa*. The occurrence of *N. brasiliensis*, *H. spumosa* and *Raillietina* sp. presented no significant relationship with any independent variable analyzed in logistic regression. The positive correlation observed between *N. brasiliensis* and *S. venezuelensis* along time and the co-occurrence of these two dominant species may be due to the similarity of the life cycles of helminths. Thus, the most favorable characteristics for infections are probably the same. Likewise, the co-occurrence of *N. brasiliensis* and *H. spumosa* may be related to the characteristics of infection that is direct and / or oral. These results contribute to the understanding of the helminth community structure in the synanthropic rodent. Although the species of medical importance were less abundant, we point to the need for continuous control of rat populations and health education programs to reduce human transmission of gastrointestinal parasites.

3.1 Introdução

Rattus norvegicus é um roedor sinantrópico adaptado a praticamente todos os ambientes do mundo, tendo importância para a saúde humana e veterinária, devido à estreita associação com o homem e outros animais (ACHA; SZYFRES, 2003; PARAMASVARAN et al., 2009). Eles estão envolvidos direta ou indiretamente na transmissão de doenças, além de poderem agir como hospedeiro reservatório de diversos patógenos zoonóticos (WEBSTER; MACDONALD, 1995). Os helmintos de importância para a saúde pública parasitando esse roedor incluem espécies de *Angiostrongylus cantonensis*, *A. costaricensis*, *Calodium hepaticum*, *Trichinella spiralis*, *Schistosoma mansoni*, *Paragonimus westmani*, *Echinococcus granulosus*, *Hymenolepis nana*, *H. diminuta* e *Raillietina* sp. (ACHA; SZYFRES, 2003; MALDONADO et al., 2012; PARAMASVARAN et al., 2009; WANG et al., 2012).

Vários estudos em todo o mundo têm sido direcionados para a composição e caracterização da comunidade de helmintos do rato *R. norvegicus* (WEBSTER; MACDONALD, 1995; SEONG et al., 1995; WAUGH et al., 2006; RAFIQUE et al., 2009; HANCKE et al., 2011; ZAIN et al., 2012). Estudos avaliando o papel da temperatura, precipitação, estação, peso e sexo do hospedeiro na infecção por helmintos na estruturação da comunidade helmíntica de ratos sinantrópicos tem sido realizados nos continentes da Ásia e na Europa (ABU-MADI et al., 2005; KATARANOVSKI et al., 2011).

Em contraste, no Brasil, há poucos estudos que avaliam a comunidade de helmintos de roedores, estando restritos a roedores silvestres em um contexto antrópico, zoonótico ou de simpatria (MALDONADO et al., 2006; SIMÕES et al., 2010a; 2010b). Em relação aos roedores comensais sinantrópicos como *R. norvegicus* e *R. rattus* há apenas registros taxonômicos e de prevalência para alguns helmintos (ARAÚJO, 1967; CHIEFFI et al., 1980). Portanto, até o momento, não se conhece a estruturação da comunidade helmíntica, nem fatores que possam influenciar na transmissão dos parasitos de *R. norvegicus* no Brasil.

Os objetivos deste trabalho foram identificar os helmintos gastrointestinais e investigar os efeitos da idade e sexo dos hospedeiros, temperatura e estação do ano na estrutura da comunidade de helmintos gastrointestinais em população urbana de *R. norvegicus* do Rio de Janeiro, durante dois anos. Além disso, foi investigado associações entre espécie de helmintos.

3.2 Material e Métodos

Esta seção foi dividida em duas partes principais: Na primeira delas serão apresentadas as etapas comuns ao desenvolvimento deste trabalho; portanto, estas serão omitidas na seção de “material e métodos” dos capítulos subsequentes. A segunda parte refere-se ao que foi utilizado especificamente para o desenvolvimento do capítulo I.

3.2.1 Metodologia comum a todos os capítulos

3.2.1.1 Área de estudo

O estudo foi realizado em uma área urbana do bairro de Trindade ($22^{\circ}48'26.7''S$, $43^{\circ}00'49.1''W$), localizada em São Gonçalo, município do Estado do Rio de Janeiro (Figuras 1,2 e 3). Esta cidade é a segunda mais populosa (≈ 1 milhão de habitantes) no estado do Rio de Janeiro, Brasil (IBGE, 2013). O clima é tropical com duas estações bem definidas: estação seca que vai de maio a outubro e uma estação chuvosa de novembro a abril. A temperatura média anual da região é $25^{\circ}C$, com máxima e mínima variando de $38^{\circ}C$ a $17^{\circ}C$, respectivamente. A pluviosidade anual é 1.200 mm (dados obtidos da Estação Meteorológica Urbana do Laboratório de Geociências da UERJ/IFP-LABGEO).

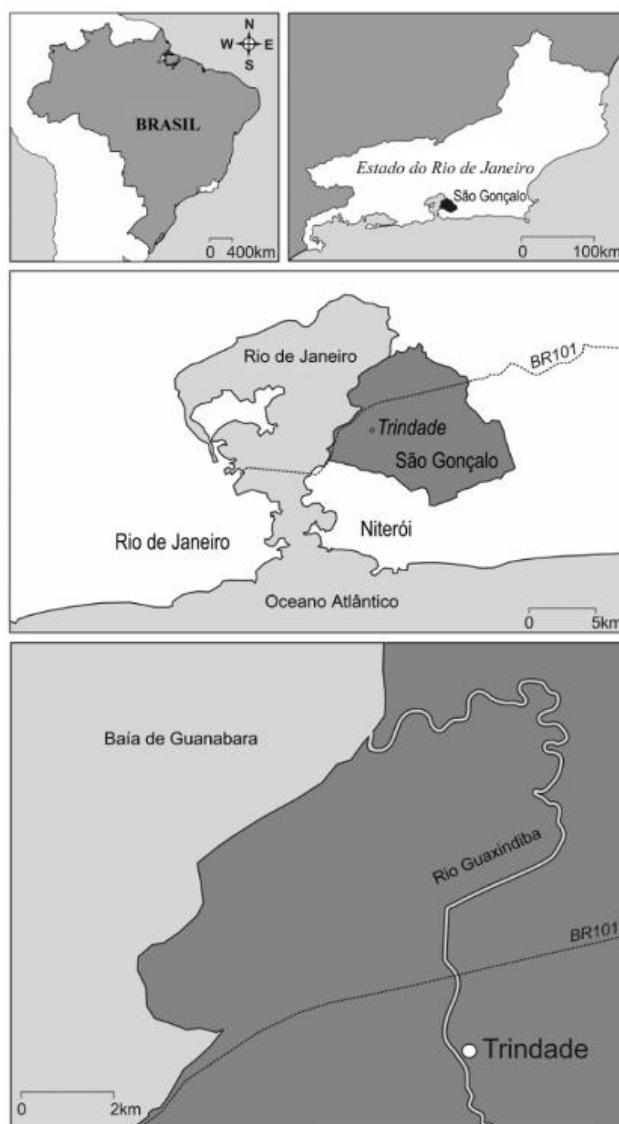


Figura 1. Localização da área de estudo no bairro de Trindade, município de São Gonçalo, RJ.



Figura 2. Áreas de coletas no bairro de Trindade município de São Gonçalo, RJ.

3.2.1.2 Captura dos roedores

A captura dos roedores foi realizada em três transectos espaçados por aproximadamente 50 metros. Foi realizada oito expedições de captura durante dois anos, sendo 20 pontos de captura em cada transecto, dispostos ao longo do rio poluído com esgoto doméstico e localizado próximo as habitações (Figura 6). Em cada estação de captura foi colocada uma armadilha Sherman® [H.B. Sherman Traps Inc., Tallahassee, FL, USA] e uma Tomahawk® [Tomahawk Live Trap Company, Tomahawk, WI, USA] (Figura 7A), apropriadas para captura de animais vivos de até 3 Kg. O esforço de captura por expedição foi de 600 armadilhas-noite totalizando um esforço de 4.800 armadilhas-noite durante todo o estudo. Em cada armadilha foi colocada um isca composta de uma mistura de toucinho, aveia, banana e pasta de amendoim.

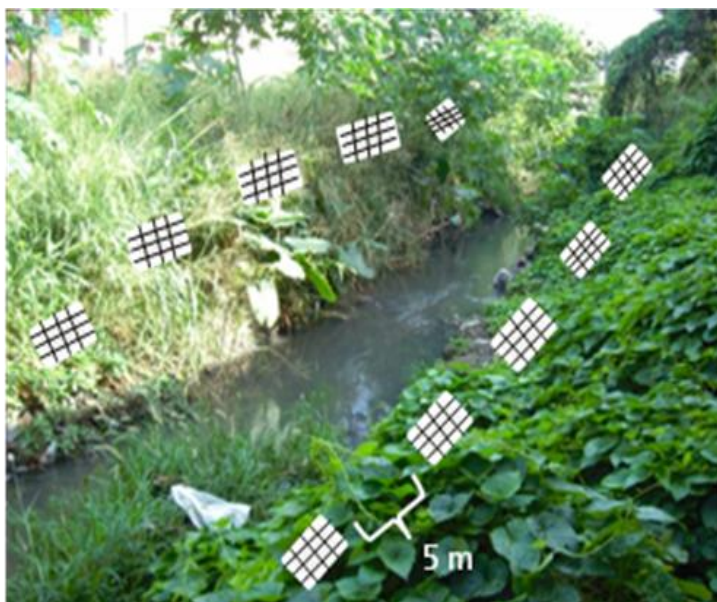


Figura 3. Disposição das armadilhas nos transectos ao longo do rio, município de São Gonçalo, RJ.



Figura 4 A e B. Armadilhas Tomahawk® e Sherman® (da esquerda para direita) e indivíduo de *Rattus norvegicus* capturado pela armadilha Tomahawk.

As coletas foram realizadas a cada três meses (março e dezembro-estação chuvosa; junho e setembro- estação seca) durante quatro noites consecutivas no período de 2010 e 2011. Os pontos foram percorridos diariamente pela manhã para checagem das armadilhas quanto à presença de animais e quando havia foram substituídas. As armadilhas contendo os animais foram removidas e transportadas para o laboratório de campo onde os animais foram eutanasiados em câmara de CO₂ (Figura 8). Os roedores foram identificados através do comprimento do corpo e cauda, tamanho da orelha e olhos e forma do focinho (arredondado). Em seguida foram feitas as identificações (sexo, idade e peso), e as amostras coletadas. Os roedores foram separados em três grupos idade-peso: jovens (<100g), sub-adultos (100-200g) e adultos (> 200g) como descrito por WEBSTER; MACDONALD (1995).



Figura 5. Câmara de CO₂ no laboratório de campo.

Todos os procedimentos foram realizados segundo normas de biossegurança, com toda a equipe paramentada com equipamentos individuais de proteção de nível 3, e segundo normas estabelecidas pelo Ministério da Saúde que garantem a segurança dos membros da equipe de campo contra zoonoses de transmissão por aerossóis (Figura 6).

A permissão de coleta dos roedores foi obtida através do Comitê de Ética no Uso de Animais da Fundação Oswaldo Cruz (CEUA LW 24/10).



Figura 6. Laboratório de Campo.

3.2.2 Metodologia específica do capítulo I

3.2.2 .1 Coleta e identificação dos helmintos

Os ratos foram necropsiados e suas vísceras e as cavidades torácica e abdominal foram pesquisadas quanto a presença de helmintos . Depois da retirada dos órgãos separadamente, estes eram colocados em placas de Petri, onde eram lavados em solução salina (NaCl a 0,85%) e dissecados com auxílio de microscópio estereoscópico.

Os nematoides recolhidos foram fixados em AFA (Ácido Acético, Formol e Álcool a 70%) aquecidos a 65°C ou em álcool 70%, já os cestoides e acantocéfalos foram mortos em água destilada fria, para que houvesse relaxamento da musculatura, logo depois foram comprimidos entre lâminas e fixados em AFA a frio (AMATO et al., 1991). Posteriormente, foram acondicionados em frascos identificados de acordo com o número do hospedeiro e o órgão em que foram encontrados.

Todos os helmintos foram identificados no Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios situado na Fundação Oswaldo Cruz, município do Rio de Janeiro, RJ. Os nematoides e acantocéfalos foram diafanizados com lactofenol. Os cestoides foram corados pelo Carmim de Langeron, diferenciados pelo álcool clorídrico a 0,5 %, desidratados em série alcoólica crescente, e diafanizados em salicilato de metila (AMATO et al., 1991). Os espécimes foram montados entre lâmina e lamínula, analisados com auxílio de microscópio de luz (Zeiss Standard 20), acoplado a câmara clara, onde foram desenhados e quantificados. Foram medidos 10 espécimes de cada espécie e todas as medidas estão em micrômetro, exceto quando assinalado.

Os aspectos morfológicos específicos observados foram usados na identificação dos espécimes de acordo com TRAVASSOS et al. (1937), VICENTE et al. (1997) e KHALIL et al. (1994), além de uma série de artigos específicos.

3.2.2.2 Análise da comunidade helmíntica

A estrutura da comunidade de helmintos foi analisada em relação à prevalência, intensidade e abundância média de infecção para cada espécie, considerando todos os roedores capturados, usando os métodos descritos por BUSH et al. (1997). Índice de agregação foi calculado através da variância da razão média. Os parâmetros parasitológicos foram calculados usando Quantitative Parasitology Software (REICZIGEL; RÓZSA, 2005). As análises estatísticas foram realizadas apenas para as espécies de parasitas com prevalência superior a 10%. A diversidade de helmintos foi calculada usando o índice de Brillouin e comparada em relação ao sexo e idade do hospedeiro por meio do teste T Diversidade .

Foram investigados por meio de modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição binomial e função de ligação *logit* os efeitos da temperatura, precipitação, sexo e idade do hospedeiro, e a abundância de *Nippostrongylus brasiliensis* sobre a ocorrência de cada uma das espécies de helmintos (presença / ausência). Foram analisados em primeiro lugar os efeitos individuais de cada variável independente sobre a variável resposta utilizando regressão logística a fim de minimizar o número de variáveis no modelo final. Todas as variáveis independentes com $P \leq 0,05$ nesta primeira etapa foram selecionadas para a sua inclusão no modelo final e a partir do método *stepwise backwards* foi considerado o modelo mais parcimonioso de acordo com o decréscimo nos valores de AIC. O modelo escolhido foi validado através do teste de Hosmer-Lemeshow que o compara com subgrupos do total de dados. Neste caso, para que o modelo seja validado o *p-valor* do teste deve ser maior que 0,05, já que a hipótese nula é que o modelo escolhido é adequado.

Foi estimado um índice de importância para classificar cada espécie de helmintos na comunidade com base na prevalência e o número de indivíduos de cada espécie de parasito. Quanto maior a quantidade de parasitos e o número de animais infectados mais dominante um parasito foi considerado na comunidade (THUL et al., 1985).

Correlações de Pearson das prevalências ao longo do tempo de cada par de helmintos foram realizadas a fim de investigar possíveis relações entre as espécies. Associações de espécies foram testadas por meio do teste de contingência Qui-quadrado considerando o número de hospedeiros infectados e não-infectados de cada espécie de helmintos de cada par testado. O índice Jaccard de associação de espécies (LUDWIG; REYNOLDS, 1988) foi calculado para cada par de espécies com associação significativa no teste Qui -quadrado.

A distribuição normal foi testada usando o teste de Shapiro-Wilk. Foi considerado significativo $P \leq 0,05$ em todas as análises. Os testes foram realizados em PASW Statistics Software versão 18 com exceção dos índices de diversidade e testes de T que foram feitos no software PAST versão 2.10, e GLM que foi feito no Software R versão 2.10.1.

3.3 Resultados

3.3.1 Taxonomia das espécies de helmintos gastrointestinais

3.3.1.1 CESTODA Rudolphi, 1808

Ordem Cyclophyllidea Van Beneden in Braun, 1900

Família Hymenolepididae Railliet e Henry, 1909

***Hymenolepis nana* (Von Siebold, 1852) Spasskii, 1954** (Figura 7A-C)

Rostelo armado com uma coroa de 22-26 ganchos (Figura 7A) em forma de “Y” (Figura 7B) apresentando quatro ventosas hemisféricas. O pescoço é alongado e delgado. O comprimento dos estróbilos com média de 45,7 mm. As proglotides mais próximas do escólex são imaturas e menores e vão sucedendo progressivamente em proglotes mais maduras, de comprimento e larguras maiores. Esta última atinge 844 de comprimento e 155 de largura. Cada proglote madura (Figura 7C) possui um poro genital unilateral e três testículos separados pelos ovários. Cada proglote grávida possui um útero cheio de ovos. Estes ovos são em formato oval ou esférico, medindo em média 53 de comprimento e 38 de largura. No interior da oncosfera apresentam três pares de ganchos (Figura 7D).

Resumo Taxonômico

Local de infecção: Intestino Delgado

Material depositado: CHIOC n° 35908

Número de espécimes estudados: 10

Superfamília Cyclophyllidea Braun, 1900

Família Davaineidae Braun, 1900

Subfamília Davaineinae Braun, 1900

***Railletina* sp.** (Figura 8A-F)

Corpo com 676-898 mm (836) de comprimento total e largura 2-3 mm (2,4). Scolex com 220-350 (290) de comprimento, 220-500 (320) de largura, com quatro ventosas 70-111 (90) de comprimento e 60-110 (90) de largura. Ventosas com pequenos espinhos distribuídos no tegumento interno (Figuras 8A). Rostelo retraído com 100-160 (120) de diâmetro, armado com ganchos alternados que variam de 100-126 ganchos e média de 117 ganchos (Figura 8B). Ganchos rostelares em forma de martelo, 18-23 (20) de comprimento. Proglótes são “craspedotes” (Figuras 8C), proglótes imaturos 80 (60) de comprimento e 870-200 (137) de largura. Proglotes maduras e grávidas 20-30 (15) x 100-183 (130) e 340-1,580 (820) x 900-3,080 (1,920) de comprimento e largura, respectivamente (Figura 8D). Poro genital unilateral localizado no primeiro terço da região anterior. Átrio genital comum. Bolsa do cirro piriforme 70-90 (80) de comprimento por 35-40 (39) de largura (Figura 8E), não atingindo o canal osmorregulatório lateral. Canal deferente externo espiralado. Testículos arredondados quantidade variando de 20-30 (23), 35-50 (40) de comprimento por 17-20 (20) de largura, com a maioria situado no lado aporal, e o restante confinado no lado poral (Figuras 8C). Vagina com abertura no átrio genital imediatamente posterior à bolsa de cirrus. Ovário bilobado, situado na porção média do proglóte com 60-150 (90) de comprimento por 90-180 (130) de largura. Glândula vitelina oval com margem irregular situada posterior ao ovário, 40-0,100 (80) de comprimento por 40-80 (60) de largura . Proglótes grávidas com 135-180 (157) cápsulas de ovos (Figura 8D). Cada cápsula mede 80-180 (120) x 60-120 (90), com 3-8 ovos embrionados 20-40 (30) de comprimento x 20-30 (20) de largura (Figuras 8F).

Resumo Taxonômico

Local de infecção: Intestino Delgado

Material depositado: CHIOC nº 35904

Número de espécimes estudados: 11

3.3.1.2 NEMATODA Rudolphi, 1808

Superfamília Trichostrongyloidea Cram, 1927

Família Heligmonellidae Leiper, 1912

Subfamília Nippostrongylinae Durette-Desset, 1971

***Nippostrongylus brasiliensis* (Travassos, 1914) Travassos e Darriba, 1929** (Figura 9A-D)

Fêmeas: 2,05-3,66 mm (2,95) de comprimento e 0,08-0,12 mm (0,09) de largura. Vesícula cefálica presente medindo 40-60 (43) de comprimento e 20-30 (25) de largura (Figuras 9A). Poro excretor e anel nervoso distam 110-276 (156) e 75-110 (86) da região anterior. Vulva situada 60-170 (100) da extremidade caudal, vagina vera e vestíbulo, 10-35 (25) e 67-100 (78) respectivamente. Esfíncter com 20-41 (32) de comprimento e 30-41 (34) de largura. Infundíbulo e útero medindo 21-75 (38) e 60-390 (387), respectivamente (Figuras 9B). Ovos medindo de 30-60 (44) de comprimento e de 20-40 (25) de largura.

Machos: 1,79-3,00 mm (2,44) de comprimento e 70-130 mm (87) de largura. Vesícula cefálica 32-60 (46) de comprimento e 21-37 (30) de largura. Poro excretor e anel nervoso situado 110-190 (166) e 50-141 (84), respectivamente da região anterior. Esôfago 190-270 (249) de comprimento. Cone genital medindo 28-60 (44) de comprimento e 23-50 (40) de largura na base. Gubernáculo com 24-95 (42) de comprimento e 8-20 (18) de largura na base em vista ventral (Figuras 9C). Espículos com 410-600 (531) de comprimento, com as extremidades em forma de concha (Figura 9D).

Resumo Taxonômico

Local de infecção: Intestino Delgado

Material depositado: CHIOC nº 35905

Número de espécimes estudados: 10

Superfamília Rhabditoidea Travassos, 1920

Família Strongyloididae Chitwood & McIntosh, 1934

***Strongyloides venezuelensis* Brumpt, 1934** (Figura 10A-B)

Fêmeas: 1,94-2,81 mm (2,44) de comprimento e 0,03-0,05 mm (0,04) de largura. Esôfago com 59-100 (416) de comprimento. Ovários espiralados em torno do intestino Vulva situada 310-710 (476) da extremidade anterior (Figura 10A). Cauda pequena e cônica. Ânus distando 30-66 (54) da extremidade caudal. Ovos medindo de 46-55 (50) de comprimento e de 19-30 (24) de largura (Figura 10B).

Machos são de vida livre.

Resumo Taxonômico

Local de infecção: Intestino Delgado

Material depositado: CHIOC n° 35903

Número de espécimes estudados: 10

Superfamília Heterakoidea Travassos, 1920

Família Heterakidae Railliet & Henry, 1914

***Heterakis spumosa* (Schneider, 1866)** (Figura 11A-F)

Fêmeas: 5,25-9,83 mm (7,08) de comprimento e 0,16-0,33 mm (0,25) de largura. Esôfago total medindo 550-630 (599) de comprimento. Bulbo esofagiano medindo 70-210 (128) de comprimento e 70-140 (112) de largura (Figuras 11A). Apresenta 5 formações cuticulares (lábios) associadas a vulva, 1 anterior a abertura vulvar e 4 posteriores (1 formação seguida de mais 3) (Figuras 11B). A abertura da vulva ocorre aproximadamente no meio do corpo. A cauda é cônica (Figuras 11C). O útero didélfico repleto de ovos em forma de mórula (Figura 11B) que medem 23-46 (37) de comprimento e 23-53 (37) de largura.

Machos: 6,62-8,00 mm (7,51) de comprimento e 0,22-0,33 mm (0,27) de largura. Esôfago total medindo 660-870 (784) de comprimento. Bulbo esofagiano medindo 100-200 (144) de comprimento e 130-230 (158) de largura. Na região caudal possui uma ventosa genital, com uma estrutura muscular e interrompida na margem posterior por uma estrutura papiliforme (Figuras 11D). Nesta região, os alelos caudais são suportados por 10 pares de papilas caudais: 2 pares de papilas pedunculadas ao nível da ventosa, 3 pares de papilas pedunculadas laterais, 2 pares de papilas sésseis próximos da cloaca, 3 pares de papilas

laterais no extremo caudal (Figura 11E). Não apresentam governáculo. Espículos medindo 230-340 (271) (Figura 11F).

Resumo Taxonômico

Local de infecção: Ceco

Material depositado: CHIOC n° 35907

Número de espécimes estudados: 10

3.3.1.3 ACANTOCEPHALA Kohltreuther, 1771

Ordem Moniliformida Schmidt, 1972

Família Moniliformidae Van Cleave, 1974

***Moniliformis moniliformis* (Bremer, 1811) Travassos, 1915** (Figura 12A-B)

Os acantocéfalos adultos variam de 1 mm a 60 cm de comprimento, possuem uma probóscide retrátil com ganchos e a parede do corpo é caracterizada por apresentar um sistema lacunar. O corpo da maioria dos acantocéfalos se assemelha a um tubo alongado, afinando em ambas as extremidades. Externamente, o corpo pode ser dividido em probóscide (parte anterior retrátil com ganchos), pescoço (uma pequena região imediatamente posterior a probóscide) e o troco (que compreende a maior parte do corpo).

A forma da probóscide da espécie *M. moniliformes* é caracterizada por ser cilíndrica e com ganchos crescentes Na linha longitudinal variando de 11 a 14 ganchos. Na região anterior da probóscide os ganchos são maiores, diminuindo o tamanho posteriormente (Figuras 12).

Resumo Taxonômico

Local de infecção: Intestino Delgado

Material depositado: CHIOC n° 35906

Número de espécimes estudados: 1

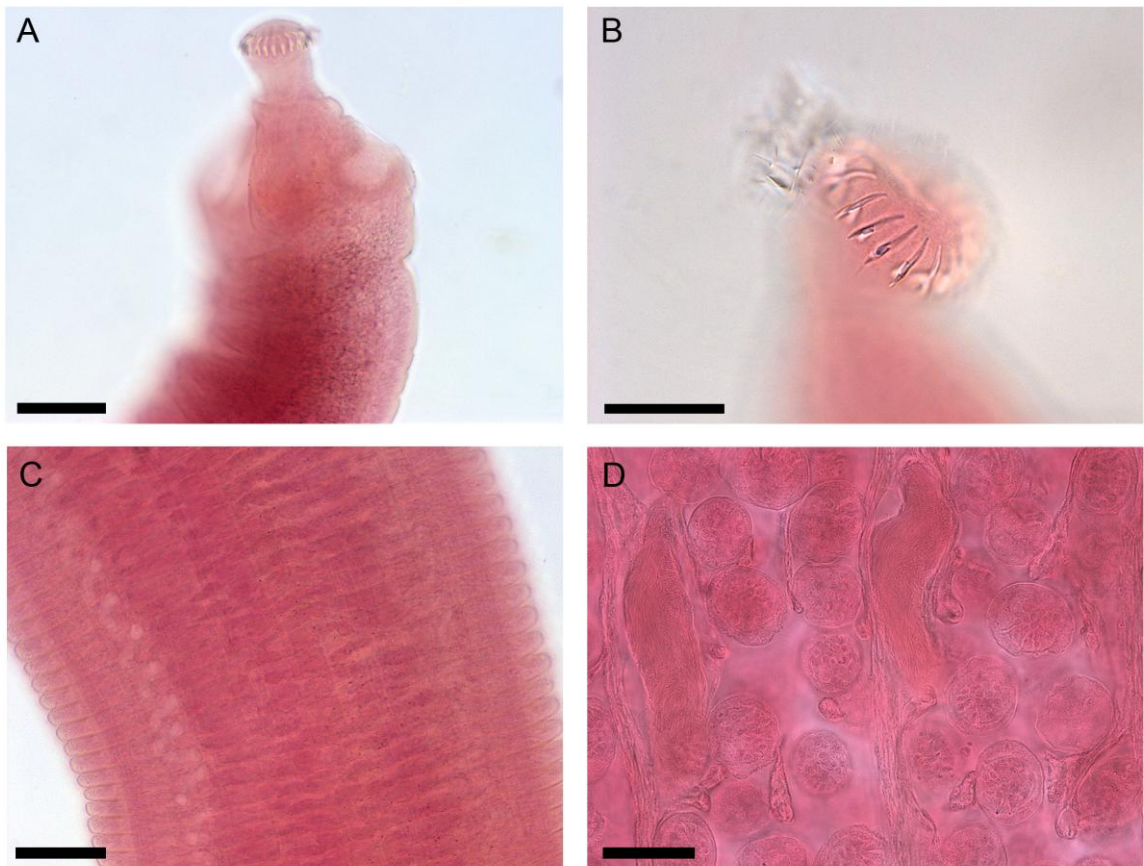


Figura 7. Fotomicrografia de *Hymenolepis nana*. (A) Escólex mostrando o rostelo armado e as ventosas. (B) Rostelo com ganchos em forma de “Y”. (C) Proglote madura. (D) proglote grávida. Barra de escala: 20 μm .

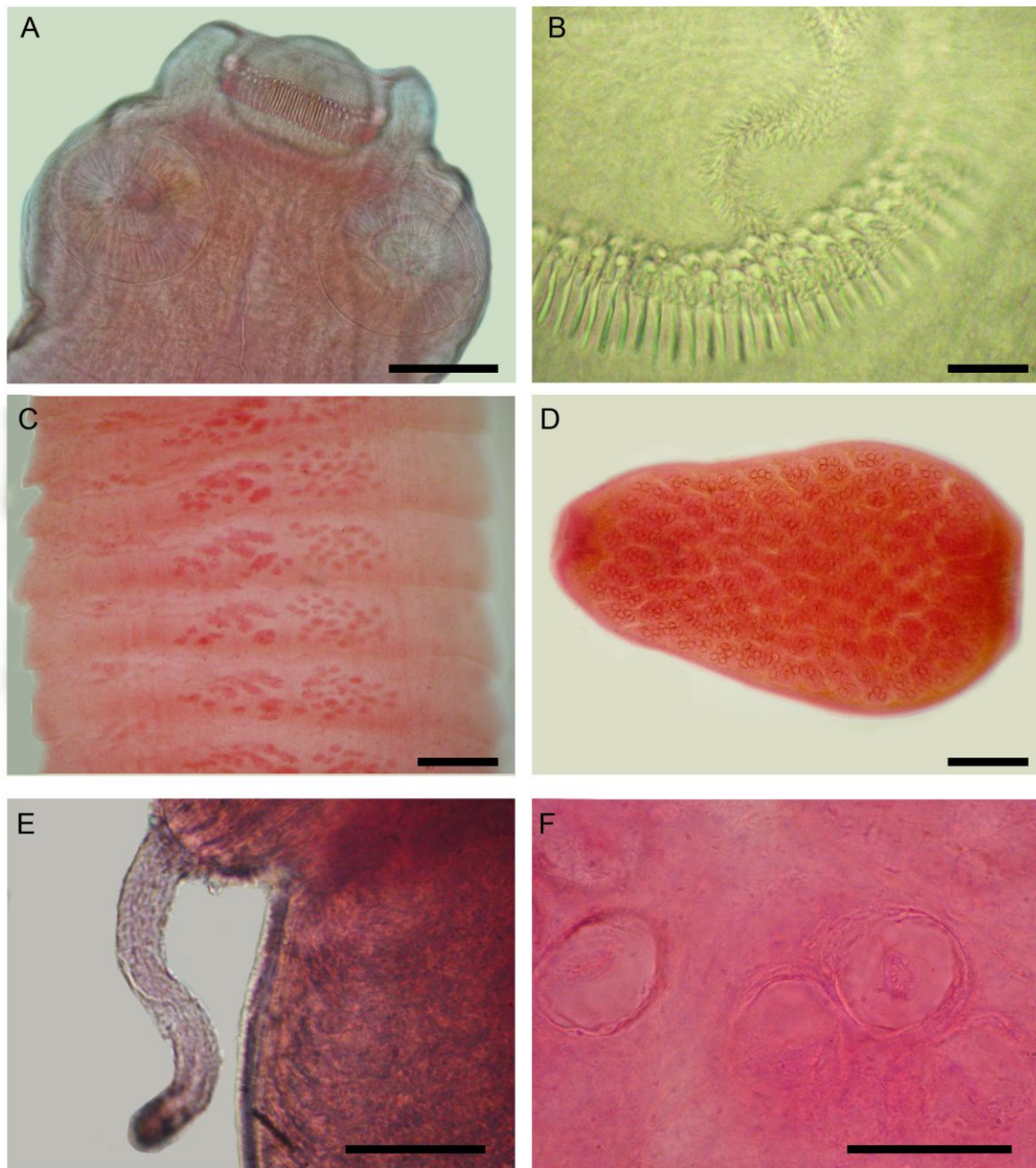


Figura 8. Fotomicrografia de *Raillietina* sp., (A) Escólex mostrando ganchos alternados, pequenos espinhos no tegumento e ventosas, Barra de escala= 50 μ m. (B) Rostelo com ganchos alternados em forma de martelo. Barra de escala= 100 μ m. (C) Proglóte Madura. Barra de escala= 100 μ m. (D) Proglóte grávida com cápsula ovígera, Barra de escala= 100 μ m. (E) Bolsa do cirro detalhando o cirro. (F) Cápsua ovígera com ovos embrionados, Barra de escala=100 μ m.

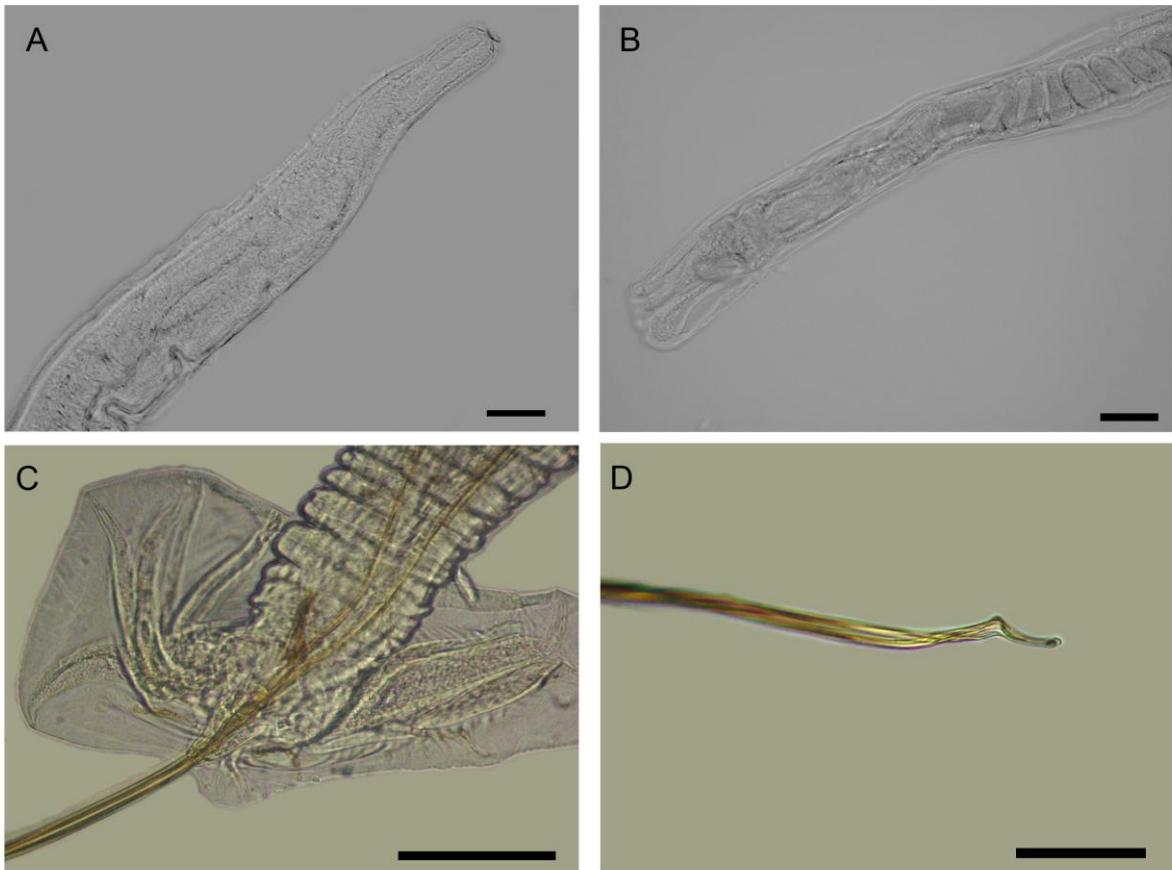


Figura 9. Fotomicrografia de *Nippostrongylus brasiliensis*. (A) Parte anterior, fêmea. (B) Parte posterior, fêmea. (C) Bolsa copuladora, macho. (D) Detalhe espículo. Barra de escala: 100 μm .

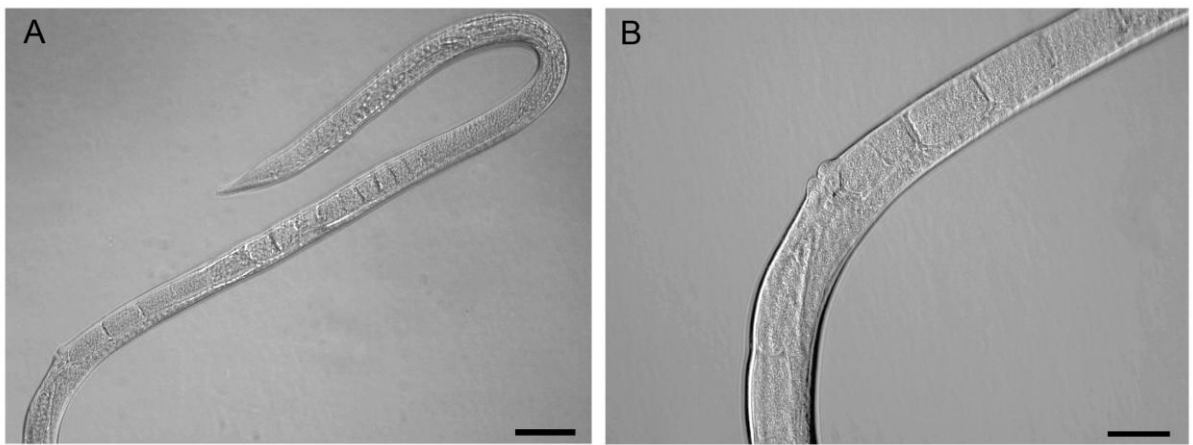


Figura 10. Fotomicrografia de *Strongyloides venezuelensis*. (A) Parte posterior. (B) Detalhe da vulva. Barra de escala 100 µm.

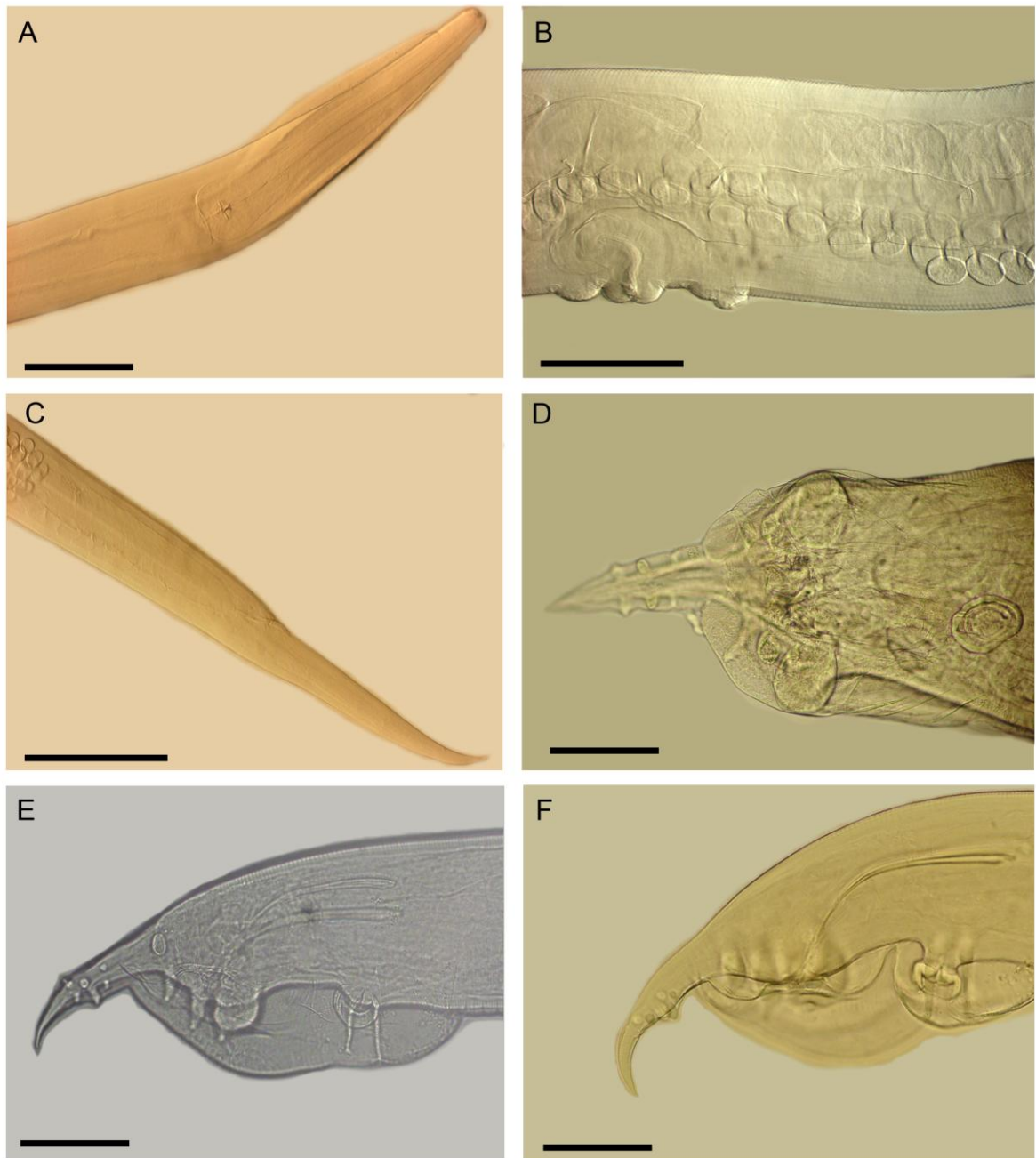


Figura 11. Fotomicrografia de *Heterakis spumosa*. (A) Fêmea, extremidade anterior mostrando bulbo esofágico. (B) Porção média da fêmea evidenciando os lábios associados a vulva e o útero repleto de ovos. (C) Fêmea, extremidade posterior. (D) Macho, extremidade posterior. (E) Macho, extremidade posterior evidenciando as papilas. (F) Macho, extremidade posterior evidenciando espículo e ventosa. Barra de escala= 100 µm.

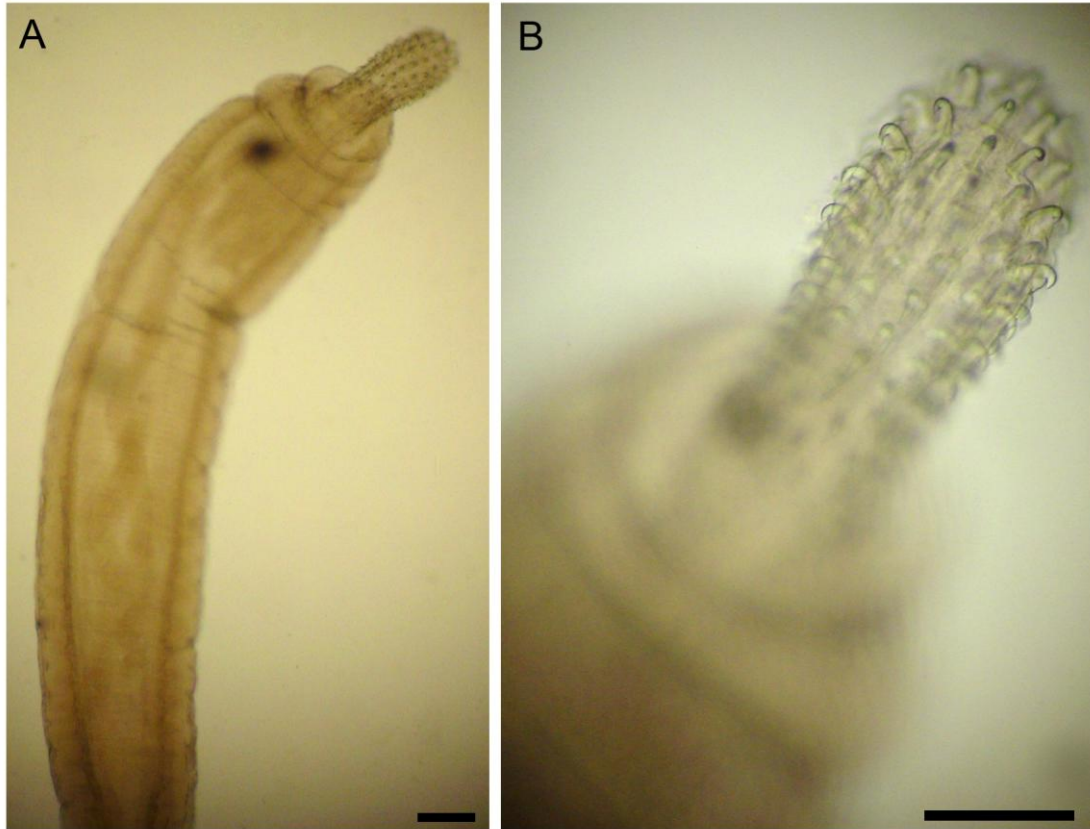


Figura 12. Fotomicrografia de *Moniliformis moniliformis*. (A) Probóscide, pescoço e tronco. (B) Probóscide mostrando os ganchos. Barra de escala= 100 μm .

3.2 Comunidade Componente

Cento e quatorze *R. norvegicus* foram capturados durante o estudo e apenas dois ratos foram negativos para parasitas gastrointestinais. Todos os helmintos foram recuperados no intestino delgado, com exceção do *Heterakis spumosa* que foi no ceco. Um total de 14.401 parasitas individuais foram coletados. A maioria das espécies foram nematoides representando 98,7% de todos os espécimes de helmintos coletados. Espécies de nematoides foram: *Nippostrongylus brasiliensis* (11.518), *Strongyloides venezuelensis* (1.647) e *H. spumosa* (189); duas espécies de cestoides: *Raillietina* sp. (153) e *Hymenolepis nana* (29). E uma única espécie de acantocéfalo identificada como *Moniliformis moniliformis* (4).

Os dados sobre a prevalência, intensidade e abundância média de infecção por helmintos gastrointestinais estão apresentados na tabela 4. O nematoide *N. brasiliensis* foi a espécie mais prevalente e abundante, com maior intensidade média em ambas as estações, seguido por *S. venezuelensis*, *H. spumosa*, *Raillietina* sp., *H. nana* e *M. moniliformis* (Tabela 1).

Strongyloides venezuelensis apresentou maior prevalência, intensidade e abundância média durante a estação chuvosa, no entanto, em *H. spumosa* a prevalência foi maior durante a estação seca, contudo, a intensidade e abundância média foram semelhantes em ambas as estações (tabela 1).

A riqueza parasitária total foi seis espécies e o Índice de Diversidade de Brillouin total foi 0,5206. Hospedeiros machos tiveram diversidade significativamente maior do que as fêmeas ($t=7,765$, $P<0,001$) e hospedeiros jovens e sub-adultos apresentaram diversidade significativamente maior do que os adultos ($t=8,169$, $P<0,001$).

Houve uma correlação positiva significativa nas prevalências entre *N. brasiliensis* e *S. venezuelensis* (Tabela 2). Houve uma correlação negativa entre as prevalências de *Raillietina* sp. e *H. spumosa* ao longo do tempo (tabela 2).

Foi observada co-ocorrência entre *N. brasiliensis* e *S. venezuelensis* e entre *N. brasiliensis* e *H. spumosa* (Tabela 3). O índice de associação de Jaccard para estes pares de espécies foram 0,455 e 0,419, respectivamente.

O índice de importância (entre parênteses), indicou que *N. brasiliensis* (87,069) e *S. venezuelensis* (5,7) foram dominantes, *H. spumosa* (0,602), *Raillietina* sp. (0,557) e *H. nana* (0,03) foram co-dominante, e *M. moniliformis* (0,001) foi a única espécie subordinadas.

A ocorrência de *N. brasiliensis*, *H. spumosa* e *Raillietina* sp. não apresentou relação significativa com qualquer variável independente analisada na regressão logística univariada,

assim GLM não foi realizado para estas espécies. A ocorrência de *S. venezuelensis* foi relacionado com a temperatura ($P=0,001$), precipitação ($P=0,002$) e abundância de *N. brasiliensis* ($P=0,002$) nas regressões logísticas univariadas. Depois da análise GLM, apenas precipitação e abundância de *N. brasiliensis* foram retidas no modelo final de acordo com a AIC (tabela 4), indicando que *S. venezuelensis* é mais provável que ocorra em períodos de chuva e quando a abundância de *N. brasiliensis* for maior.

Tabela 1. Prevalência (95% Intervalo de Confiança), intensidade média e abundância média seguidas do desvio padrão dos helmintos gastrointestinais de *Rattus norvegicus* coletados no município de São Gonçalo, estado do Rio de Janeiro, Brasil.

	<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>	<i>Strongyloides venezuelensis</i>	<i>Heterakis spumosa</i>	<i>Hymenolepis nana</i>	<i>Raillietina</i> sp.	<i>Moniliformis moniliformis</i>
Prevalência						
Estação chuvosa	77 (64,1-86)	45 (32,4-57,6)	29 (18,3-41,6)	7 (2,3-17,5)	34 (25-49,1)	3 (0,13-15,2)
Estação seca	69 (56,1-79,4)	24 (14,9-36,6)	35 (23,5-47,4)	10 (4,5-21,1)	36 (22,9-47)	0,9 (<0,001-0,1)
TOTAL	73 (63,7-80,5)	34 (25,6-43,7)	32 (23,2-40,9)	8,8 (0,43-1,55)	35 (26,4-44,6)	3,5
Intensidade Média						
Estação chuvosa	182,2 ± 348	51,2 ± 116,3	4,4 ± 5,7	1	4,1 ± 2,7	1
Estação seca	92,1 ± 152	26,2 ± 83,5	5,9 ± 9,0	1	3,5 ± 5,2	1
TOTAL	139 ± 227,4	42 ± 105,2	5,3 ± 7,7	3,4 ± 6,2	3,8 ± 4,2	1 ± 1
Abundancia Média						
Estação chuvosa	139,9 ± 313,9	22,8 ± 80,9	2,1 ± 5,9	0,4 ± 2,8	1,2 ± 2,2	0,03
Estação seca	63,4 ± 132,8	6,3 ± 41,4	1,3 ± 3,6	0,2 ± 0,5	1,5 ± 3,7	0,008
TOTAL	101 ± 241,5	14 ± 64,3	1,7 ± 4,9	0,3 ± 2	1,3 ± 3,1	0,035 ± 0,2

Tabela 2. Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre as prevalências de helmintos em *Rattus norvegicus* coletados no município de São Gonçalo, estado do Rio de Janeiro, Brasil.

	<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>	<i>Strongyloides venezuelensis</i>	<i>Heterakis spumosa</i>
<i>N. brasiliensis</i>	-	-	-
<i>S. venezuelensis</i>	r= 0,697; P= 0,054	-	-
<i>H. spumosa</i>	r=0,379; P= 0,353	r= -0,021; P= 0,96	-
<i>Raillietina</i> sp.	r= -0,559; P= 0,149	r= 0,072; P= 0,863	r= -0,717; P= 0,045

Tabela 3 Associação de espécies usando o teste de contigência qui-quadrado considerando o número de hospedeiros infectados e não infectados de cada par de espécies testado. *Nippostrongylus brasiliensis*= NB; *Strongyloides venezuelensis*= NV; *Heterakis spumosa*= HP and *Raillietina* sp.= R.

Pares de espécies de helmintos	X ²	P
NB +SV	14,07	0,0002
NB + HS	15,016	0,0001
NB + R	0,149	0,699
SV + HS	0,512	0,474
SV + R	0,017	0,897
HS + R	2,43	0,125

Tabela 4. Procedimento de seleção do modelo com base nos critérios de informação Akaike corrigido (AIC). Δ AIC representa a diferença entre o valor de AIC de um modelo e o melhor modelo (com o menor valor de AIC).

Espécie	Modelo	Δ AIC	AIC
<i>Strongyloides venezuelensis</i>	Modelo Nulo	28,72	148,47
	Melhor modelo (pluviosidade + abundância de <i>N.brasiliensis</i>)	0	119,75

Tabela 5. Ocorrência das espécies de helmintos de *Rattus norvegicus* entre os continentes, com base nos dados de literatura e nos dados do presente estudo.

NEMATODA	Américas	Ásia	Europa	África	Presente estudo
<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>	X	X	X		X
<i>Heterakis spumosa</i>	X	X	X		X
<i>Heterakis</i> sp.			X		
<i>Toxocara</i> sp.			X		
<i>Syphacia obvelata</i>	X				
<i>Syphacia muris</i>		X	X		
<i>Strongyloides ratti</i>	X	X	X		
<i>Strongyloides venezuelensis</i>	X				X
<i>Strongyloides muris</i>					
<i>Strongylus</i> sp.					
<i>Protospirura muricola</i>	X	X	X	X	
<i>Protospirura columbiana</i>	X				
<i>Protospirura chanchanensis</i>	X				
<i>Pterygodermatites whatoni</i>		X			
<i>Rictularia</i> sp.		X			
<i>Masthoporus muris</i>		X			
<i>Trichuris muris</i>			X		
<i>Trichuris</i> sp.		X			
TREMATODA					
<i>Centrocestus</i> sp.		X			
<i>Echinostoma elocanun</i>		X			
<i>Echinostoma malayanum</i>		X			
<i>Quinqueserialis quinqueserialis</i>		X			
CESTODA					
<i>Raillietina</i> sp.	X	X			X
<i>Raillietina demerariensis</i>	X				
<i>Hymenolepis diminuta</i>	X	X	X		
<i>Hymenolepis nana</i>	X	X			X
<i>Rodentolepis fraterna</i>	X		X		
ACANTOCEPHALA					
<i>Moniliformis moniliformis</i>	X	X			X

Referências: (ARAÚJO, 1967; SEONG et al., 1995; SMALES; SPRATT, 2004; ABU-MADI et al., 2005; WAUGH et al., 2006; VILLAFANE et al., 2008; RAFIQUE et al., 2009; KATARANOVSKI; et al., 2010; ZAIN; BEHNKE et al., 2012; PAKDEENARONG et al., 2013)

3.4 Discussão

A maioria dos roedores coletados no município de São Gonçalo estavam infectados com pelo menos uma espécie de helminto gastrointestinal, sendo um padrão frequentemente observado em comunidades de helmintos de roedores silvestres e sinantrópicos (ABU-MADI et al., 2001; WAUGH et al., 2006; SIMÕES et al., 2010a). Além disso, estudos anteriores mostraram que nematoides e cestoides são os helmintos mais abundantes nas comunidades componentes de *R. norvegicus* (ABU-MADI et al., 2001, 2005; HANCKE et al., 2011; KATARANOVSKI et al., 2011) estando de acordo com os nossos resultados, uma vez que os nematoides representaram 98,7% da comunidade de helmintos.

A riqueza de seis espécies de helmintos observada em *R. norvegicus* do Rio de Janeiro é semelhante aos estudos realizados na Ásia, Europa e Américas, nos quais variou de uma a oito espécies (ARAÚJO, 1967; SEONG et al., 1995; VILLAFANE et al., 2008; RAFIQUE et al., 2009; KATARANOVSKI et al., 2010; HANCKE et al., 2011; KATARANOVSKI et al., 2011). Foi também observado que as espécies mais frequentes nessas localidades foram *N. brasiliensis* e *H. spumosa* sugerindo que estas espécies estão adaptadas ao hospedeiro e as características ambientais diferenciadas destas áreas.

No presente estudo *N. brasiliensis* foi o helminto mais prevalente, diferentemente do observado em *R. norvegicus* na Turquia (Europa) (GÜRLER et al., 2011) onde *H. spumosa* foi o mais prevalente, revelando uma diferente estruturação da comunidade helmíntica de acordo com a localidade.

Observando os helmintos que ocorrem em *Rattus* spp. no mundo, é interessante verificar que nematoides heteroxênicos *Protospirura comlumbiana* e *P. chanchanensis* foram relatados apenas nas Américas (Tabela 5) enquanto que *P. muricola* tem sido relatado na África, Ásia e nas Américas, o que sugere que esta última espécie tenha se dispersado juntamente com os roedores a partir dos continentes de origem e se adaptado as condições locais de transmissão. Também foi reportado endemismo das espécies de trematódeos *Echinostoma elocanun*, *E. malayanum* e *Quinqueseralis quinqueseralis* que estão restritas ao continente asiático (Tabela 4). Considerando a especificidade de algumas espécies de trematódeos para seus hospedeiros intermediários é possível postular a ausência de hospedeiros compatíveis para essas espécies nas localidades colonizadas por estes murídeos. Diferentemente, tem sido observado que os cestoides são amplamente distribuídos no mundosugerindo uma adaptação aos diferentes ambientes. Entretanto, tem sido mostrada a

necessidade de estudos moleculares para o esclarecimento da relação taxonômica destes grupos (CAIRA et al., 2013)

O nematoide *Nippostrongylus brasiliensis* foi descrito por Travassos (1914) como *Heligmosomun braziliense* parasitando intestino delgado de *R. norvegicus* no bairro de Manguinhos, Rio de Janeiro, Brasil. Posteriormente, Travassos e Darriba (1929) alocaram esse nematoide no gênero *Nippostrongylus* Lane, 1923 e mudaram a ortografia do nome da espécie para *brasiliensis*. Esse parasito tem distribuição mundial e é a espécie mais prevalente e abundante em várias comunidades helmínticas em *R. norvegicus* (WAUGH et al., 2006; COOMANSINGH et al., 2009;). A infecção por *N. brasiliensis* estimula a imunidade celular e, conseqüentemente, leva à expulsão de todos os helmintos durante uma infecção primária. No entanto, quando os ratos são infectados antes de seis semanas de idade, este fenômeno não ocorre e a infecção persiste durante a vida adulta (WAKELIN, 1996), explicando em parte, os elevados parâmetros parasitológicos observados. Além disso, ARNEBERG et al. (1998) observaram uma forte correlação positiva entre a densidade populacional do hospedeiro e a abundância parasitária em mamíferos. Estes resultados apontam para um padrão significativo em que a probabilidade de se infectar por parasitos de ciclo direto aumenta com a densidade das populações dos hospedeiros (ANDERSON; MAY, 1978). No presente estudo, onde a espécie dominante *N. brasiliensis* apresentou elevados parâmetros parasitológicos e sua ocorrência não foi relacionada a nenhuma das variáveis abióticas testadas, a transmissão de helmintos também pode ser resultados de fatores como o tamanho da população e área de vida do hospedeiro e grau de sociabilidade do hospedeiro, uma vez que *R. norvegicus* apresenta uma população altamente abundante.

A correlação positiva observada entre as prevalências de *N. brasiliensis* e *S. venezuelensis* ao longo do tempo e a co-ocorrência destas duas espécies dominantes podem ser resultado da similaridade dos ciclos de vida dos helmintos. Ambas as espécies podem causar infecção por ingestão oral ou principalmente por penetração na pele. Desta forma, as características mais favoráveis para as infecções são provavelmente as mesmas. A relação positiva observada entre a ocorrência de *S. venezuelensis* e a ocorrência com abundância de *N. brasiliensis* também corrobora esses resultados.

Da mesma forma, a co-ocorrência de *N. brasiliensis* e *H. spumosa* pode estar relacionada com a característica de infecção que é direta. O fato de que ambas as espécies não mostraram qualquer relação entre a ocorrência e fatores como o sexo e idade do hospedeiro, pluviosidade e temperatura podem corroborar esta hipótese.

A relação encontrada entre a ocorrência de *S. venezuelensis* e pluviosidade, que interfere diretamente na umidade do solo, pode ser explicada pelas características ambientais durante a fase de vida livre do helminto. De acordo com GILLESPIE; CHAPMAN (2006), as características ambientais podem promover o desenvolvimento de um nematoide durante a sua fase de vida livre, ou levar a sua morte devido a desidratação do ambiente, determinando a viabilidade ou não das espécies durante este estágio.

A correlação negativa entre as prevalências das duas espécies co-dominantes *Raillietina* sp. e *H. spumosa* pode decorrer do fato de o cestóide *Raillietina* sp. necessitar de um hospedeiro intermediário para completar o ciclo, enquanto que o nematoide *H. spumosa* tem um ciclo direto. Tem sido postulado que a variação na abundância do hospedeiro intermediário pode contribuir para um aumento na prevalência de helmintos (ABU-MADI et al., 2000). Portanto, fatores ambientais que aumentam a presença do hospedeiro intermediário levando a um aumento na prevalência de *Raillietina* sp. não são os mesmos para o nematoide *H. spumosa* que é transmitido diretamente.

Entre as espécies observadas no presente estudo, *H. nana* e *M. moniliformis* são relevantes para a saúde pública. Os ratos e os seres humanos são infectados por *H. nana* ao ingerir acidentalmente fezes contaminadas (HANCKE et al., 2011) ou pela ingestão de hospedeiros intermediários, como besouros (ZAIN et al., 2012). O acantocéfalo *M. moniliformis* é transmitido pela ingestão acidental dos hospedeiros intermediários (por exemplo, besouros e baratas) (MIREMAD-GASSMANN, 1981). Ambos os parasitos causam alterações gastrointestinais, especialmente em crianças (COUNSELMAN et al., 1989; GONÇALVES et al., 2011) que vivem em condições inadequadas de higiene e instalações sanitárias (MASON; PATTERSON, 1994).

Embora as espécies de helmintos que ocorram em *R. norvegicus* no presente estudo sejam registradas em todo o mundo, a riqueza e a estrutura da comunidade helmíntica difere de acordo com as características ambientais das regiões (por exemplo: temperatura, pH do solo, precipitação, a presença de hospedeiros intermediários, etc.). O presente estudo demonstra que a estrutura da comunidade helmíntica é dependente do microhabitat, uma vez que outros estudos realizados no Brasil (ARAÚJO, 1967; CHIEFFI et al., 1980) revelaram variação na riqueza e prevalência dos helmintos de *R. norvegicus*.

Assim, estes resultados contribuem para a compreensão da estrutura da comunidade de helmintos neste roedor sinantrópico nesta localidade e possíveis inferências devem considerar as características bióticas e abióticas do habitat do roedor como determinantes para o sucesso do parasitismo. Além disso, embora as espécies de importância médica tenham sido as menos

abundantes, apontamos para a necessidade de controle contínuo da população de ratos e de programas de educação em saúde para evitar e reduzir o risco de transmissão dos parasitos humanos gastrointestinais.

4 CAPÍTULO II

ANGIOSTRONGILÍASE ENDÊMICA NO RIO DE JANEIRO - ESTUDO LONGITUDINAL EM UMA POPULAÇÃO DE *Rattus norvegicus*: INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE E CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DO HOSPEDEIRO

RESUMO

O nematoide *Angiostrongylus cantonensis* é um parasito zoonótico que pode infectar o homem acidentalmente e causar meningite eosinofílica. No Brasil, esta doença tem sido relatada nos Estados do Espírito Santo, Pernambuco e São Paulo. O hospedeiro intermediário naturalmente infectado, *Achatina fulica*, tem sido reportado nos Estados do Rio de Janeiro, Pernambuco e Santa Catarina. O murídeo *Rattus norvegicus* é o hospedeiro vertebrado mais frequente deste parasito, entretanto, já foi relatado no Brasil naturalmente infectado tanto o roedor *R. norvegicus* como *R. rattus*. Neste estudo, foi realizada uma investigação do padrão de infecção por *A. cantonensis* em *R. norvegicus* em uma área urbana do Rio de Janeiro, Brasil analisando a importância relativa da sazonalidade, peso e o sexo do hospedeiro sobre a abundância, intensidade média e prevalência de *A. cantonensis* em ratos durante dois anos. O estudo foi conduzido em uma área de Trindade, São Gonçalo município de Rio de Janeiro, Brasil. Helminhos foram coletados a partir das artérias pulmonares e espaços subaracnóides de *R. norvegicus*. Foram calculadas a prevalência, intensidade e abundância, e utilizou-se modelos lineares generalizados para verificar as contribuições relativas do sexo, peso (usado como uma aproximação para a idade) do hospedeiro e sazonalidade (estações chuvosa e seca) para as variações na abundância de *A. cantonensis* em ratos. A prevalência de infecção por *A. cantonensis* permaneceu estável durante a estação chuvosa (71%, Intervalo de Confiança 95% 58,9-81,6) e seca (71%, 95 IC 57,9-80,8) e foi significativamente maior nos animais mais velhos e nas fêmeas. Sazonalidade, peso e sexo do hospedeiro foram fatores que contribuíram para a variação na abundância parasitária, embora não tenham sido observadas variações acentuadas. A elevada prevalência deste parasito ao longo do estudo sugere que a sua transmissão é estável e que as condições são adequadas para a propagação do parasito. A dispersão do parasito pode ser mediada por machos que tendem a ter maior área de vida e capacidade de dispersão, enquanto que as fêmeas podem ser mais importantes para a manutenção do parasito em escala local, devido à sua maior prevalência e abundância de infecção. Apesar das influências da estação, sexo e peso do hospedeiro na abundância do parasito, outras variáveis podem ser importantes para a determinação da abundância do parasito no hospedeiro definitivo. É necessária uma abordagem multidisciplinar considerando a distribuição ecológica dos roedores e hospedeiros intermediários, assim como as características do ambiente para melhor compreender a dinâmica da angiostrongilíases.

ABSTRACT

The nematode *Angiostrongylus cantonensis* is a zoonotic parasite that may cause eosinophilic meningoencephalitis. In Brazil, this disease has been reported in the states of Espírito Santo, Pernambuco and São Paulo, and the naturally infected intermediate host, *Achatina fulica*, has been recorded in the states of Rio de Janeiro, Pernambuco and Santa Catarina. The murid *Rattus norvegicus* is the most frequent vertebrate host of this parasite, but both *R. norvegicus* and *R. rattus* were recently reported to be naturally infected in Brazil. In this study, we conducted a two-year investigation of *A. cantonensis* infection patterns in *R. norvegicus* in an urban area of Rio de Janeiro state, Brazil and examined the relative importance of seasonality, weight and host gender on the abundance, median intensity and prevalence of *A. cantonensis* in rats. The study was conducted in an area of Trindade, São Gonçalo municipality, Rio de Janeiro, Brazil. Helminths were collected from the pulmonary arteries and subarachnoid spaces of *R. norvegicus*. Prevalence, intensity and abundance were calculated, and generalized linear models were used and compared to verify the relative contributions of host gender, weight (used as a proxy for host age) and seasonality (rainy and dry seasons) to the variations in *A. cantonensis* abundance in rats. The prevalence of *A. cantonensis* infection was stable during the rainy (71%, 95 Confidence Interval 58.9- 81.6) and dry seasons (71%, 95 CI 57.9- 80.8) and was significantly higher in older rats and in females. Seasonality, host weight and gender were all contributing factors to variation in parasite abundance, although no marked variations were observed. The high prevalence of this parasite throughout the study suggests that its transmission is stable and that conditions are adequate for the spread of the parasite. Dispersion of the parasite may be mediated by males that tend to have larger home ranges and dispersion ability, while females may be more important for maintaining the parasite on a local scale due to their higher prevalence and abundance of infection. Despite the influences of season, host gender and host weight on parasite abundance, additional variables may be important for determining parasite abundance in the definitive host. A multidisciplinary approach considering the ecological distribution of the rats and intermediate hosts, as well as environmental features is required to further understand the dynamics of angiostrongyliasis.

4.1 Introdução

O nematoide *Angiostrongylus cantonensis* é um parasito zoonótico que pode infectar o homem acidentalmente e causar meningite eosinofílica. *Rattus norvegicus* é um dos hospedeiros definitivos mais frequentes deste parasito (LINDO et al., 2002). Os vermes adultos são encontrados nas artérias pulmonares dos roedores, que liberam as larvas no primeiro estágio (L₁) em suas fezes. Os hospedeiros intermediários, tais como caramujos e lesmas, são infectados pela L₁, que após 2 mudas atingem o terceiro estágio (L₃). As L₃ (estágio infectante) são então ingeridas pelos ratos quando eles se alimentam dos hospedeiros intermediários, completando o ciclo (Figura 13). O homem se infecta ao se alimentar de moluscos ou hospedeiros paratênicos *in natura* ou mal cozidos ou através de vegetais contaminados com o muco ou moluscos infectados (WANG et al., 2008).

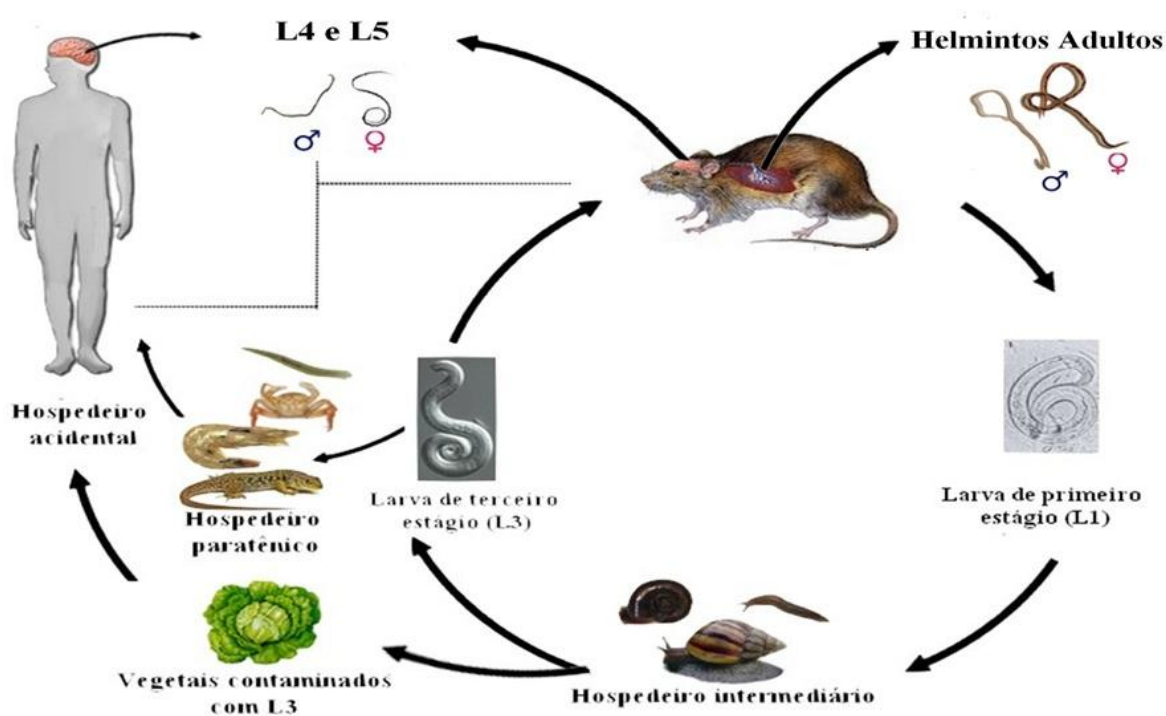


Figura 13. Ciclo de vida do *Angiostrongylus cantonensis*. Fonte: LABPMR

A recente introdução de *A. cantonensis* nas Américas (MALDONADO et al., 2012) tem resultado em casos humanos de meningite eosinofílica em todo o continente (PASCUAL et al., 1981; NEW et al., 1995; BARROW et al., 1996; LIMA et al., 2009; DORTA-CONTRERAS et al., 2011). No Brasil, já foram relatados oito casos humanos. O primeiro

ocorreu em 2007 na cidade de Cariacica, estado de Espírito Santo (CALDEIRA et al., 2007). Em 2009, um novo caso foi relatado no município de Olinda, estado de Pernambuco (LIMA et al., 2009). Mas recentemente, foram relatados cinco casos no estado de São Paulo (CIARAVOLO et al., 2010; ESPÍRITO-SANTO et al., 2013) (Figura 14).

Tem sido observado nos estados da Bahia, Pará, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina os seguintes hospedeiros intermediários naturalmente infectados: *Achatina fulica*, *Bradybaena similaris*, *Subulina octona* e *Sarasinula marginata* (MALDONADO et al., 2010; THIENGO et al., 2010; CARVALHO et al., 2012) . Já a presença dos hospedeiros definitivos *R. rattus* e *R. norvegicus* naturalmente infectados foi relatada nos estados do Rio de Janeiro, Pará e Rio Grande do Sul em estudos de curto período (SIMÕES et al., 2011; COGNATO et al., 2013; MOREIRA et al., 2013).

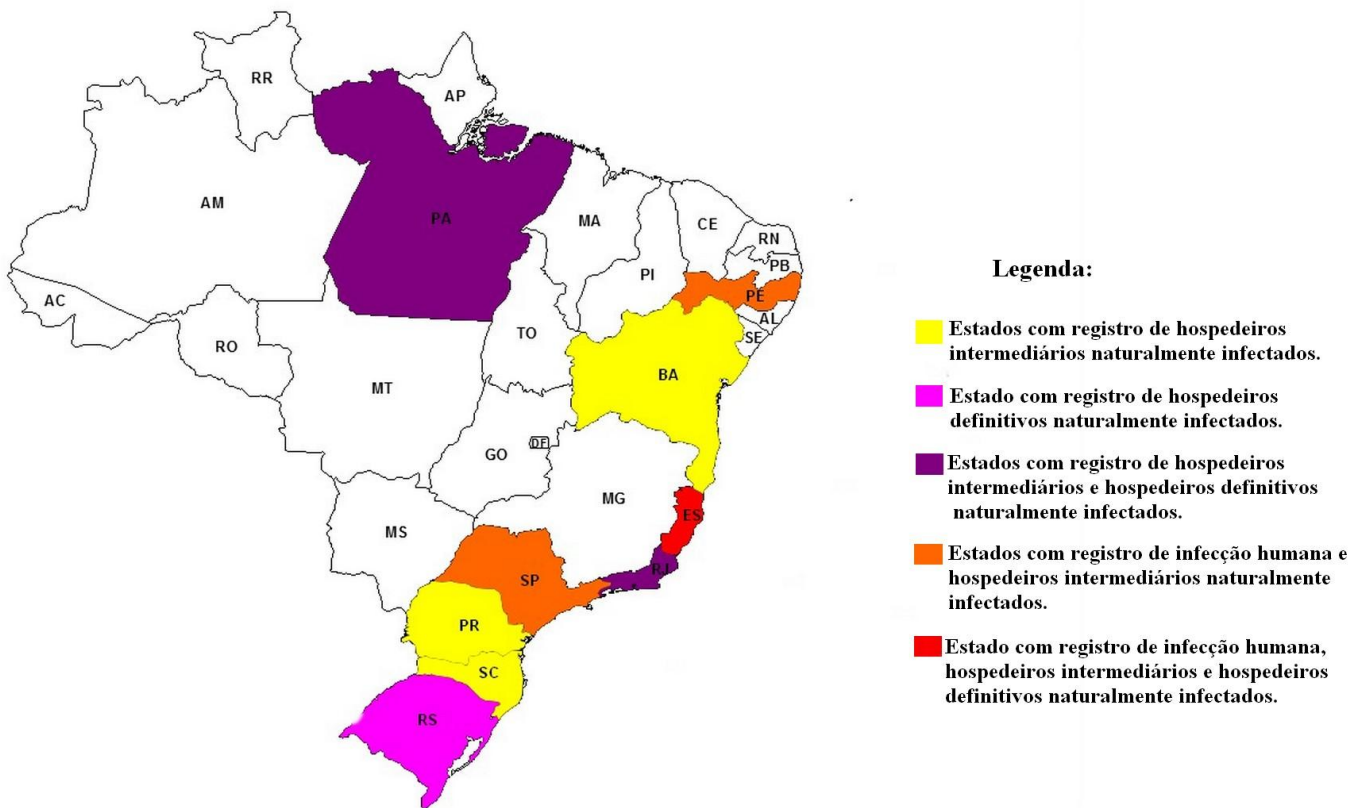


Figura 14. Distribuição dos hospedeiros intermediários e definitivos naturalmente infectados por *Angiostrongylus cantonensis* e casos humanos de meningite eosinofílica nos estados brasileiros. Fonte: LABPMR

Embora *A. cantonensis* esteja atualmente se dispersando pelas Américas (MALDONADO et al., 2012), não há relatos de estudos focando o papel de *R. norvegicus* na transmissão do parasito. Em vez disso, a maioria dos estudos realizados em outros continentes tem focado o hospedeiro intermediário (MAHAJAN et al., 1992; IBRAHIM, 2007). Estudos longitudinais são importantes, pois nos permitem caracterizar o perfil da transmissão do parasito. Neste estudo, durante dois anos foi investigado o padrão de infecção de *A. cantonensis* em *R. norvegicus* em uma área urbana do Estado do Rio de Janeiro, Brasil, e examinamos a importância relativa da sazonalidade, peso e sexo do hospedeiro na abundância, intensidade mediana e prevalência de *A. cantonensis* nos roedores.

4.2 Material e métodos

4.2.1. Histologia (metodologia referente ao capítulo II e III)

Após a limpeza do material, as partes moles foram colocadas em Formol Millionig 10% onde permaneceram por 24 horas. Decorrido este tempo, o material foi desidratado em concentrações crescentes de etanol, diafanizados com xilol e impregnados em parafina líquida (60°C) segundo a metodologia descrita por TOLOSA et al (2003). Posteriormente, os blocos foram submetidos a cortes seriados de 5µm de espessura em micrótomo Leica RM2125. O material foi corado pela hematoxilina-eosina (HE) para posterior análise histopatológica.

Os procedimentos para as colorações foram realizadas de acordo com TOLOSA et al. (2003). Os cortes histológicos foram visualizados através do microscópio de luz Observer Z1 Zeiss® e as imagens captadas por meio da câmera Axio Cam HRc Zeiss e processadas com o programa Axio Vision Rel.4.7.

4.2.2 Coleta e identificação taxonômica de *Angiostrongylus cantonensis*

Foram examinadas as artérias pulmonares e coração. Depois da retirada dos órgãos separadamente, estes eram colocados em placas de Petri, onde eram lavados em solução salina (NaCl a 0,85%) e dissecados com auxílio de microscópio estereoscópico, os vermes recolhidos foram fixados em álcool 70%.

Os nematoide foram diafanizados usando lactofenol (40% lactofenol, 20% ácido láctico, 20% fenol, e água q.s.p. 100 ml) e identificados com auxílio de microscópio de luz (Zeiss Standard 20). A morfologia da bolsa copuladora e o tamanho dos espículos foram usados como características para identificação da espécie de acordo com MALDONADO et al. (2010) (Figura 10). Espécies representativos foram depositados na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz, (CHIOC no. 35712).

4.2.3 Identificação molecular e análise filogenética de *Angiostrongylus cantonensis*

Para confirmar a identificação morfológica dos espécimes de *Angiostrongylus* obtidos, foi feita uma abordagem utilizando DNA *bar coding*. O DNA genômico foi extraído de três vermes adultos preservados no etanol utilizando o kit da Qiagen (QIAamp DNA Mini Kit) de acordo com o protocolo do fabricante. O DNA extraído foi estocado a 4°C até o seu uso. A amplificação por Reação de Polimerase (PCR) do DNA foi conduzida usando os primers

previamente descritos (COI_F 5' TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT 3' e COI_R TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG 3') para uma região parcial do gene Citocromo Oxidase Subunidade 1 (COI) (BOWLES et al., 1992; JEFFERIES et al., 2009). A mistura da reação foi preparada no volume total de 50 µL contendo 16,2 µL de água, 5 µL de 10 x PCR buffer (Tris-HCl, KCl), 2,5 µL de MgCl₂ (2,5 mM), 5 µL de dNTP mix (10 mM cada), 10 µL de cada primer (0,2 mM), 0,3 µL de Taq DNA polimerase (1,5U) e 1 µL de amostra de DNA. O termociclador foi programado para encubar as amostras por 5 min em 94°C, seguidos por 40 ciclos em 94°C por 30s, 55°C por 30s, 72°C por 1 min e a extensão final em 72°C por 5 min. Os produtos da reação foram separados por eletroforese em gel de agarose 1%, corados com brometo de etídio e visualizados através de luz ultravioleta. Os produtos amplificados foram purificados usando QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen). As reações de seqüenciamento foram realizadas usando ABI PrismDyeTerminator Cycle Sequencing Core Kit (Applied Biosystems, USA) como descrito pela plataforma Genômica-Sequenciamento de DNA (PDTIS/FIOCRUZ).

Uma sequencia parcial do gene COI de cada verme foi obtida para avaliação de sua relação filogenética. As três sequencias de COI com 360-bp foram idênticas e depositadas no GenBank (acesso no. GenBank no. HQ440217) foram alinhadas pelo programa Clustal (www.clustal.org) com fragmentos de COI de homólogos de *A. cantonensis* (acesso GenBank no. GQ398121), *A. vasorum* (acesso GenBank nos. EU493162, EU493163, EU493166, EU493167), e *A. costaricensis* (acesso GenBank no. GQ398122) e submetidos a análise filogenética. *Ancylostoma tubaeforme* (acesso GenBank no. AJ407940) foi usado como grupo externo. Haplótipos de isolados de *A. vasorum* do Brasil (*A. vasorum* 5421, 5641, e 5642) foram reconstruídos a partir de informações publicadas (JEFFERIES et al., 2009) e incluídas no alinhamento. Utilizamos o programa MEGA 4 (www.megasoftware.net) para construir a árvore filogenética neighbor-joining baseada na distância Kimura 2-parameter (K2-p).

4.2.4 Análise dos dados

A prevalência (sensu BUSH et al., 1997), intervalo de confiança (IC) a 95% e o índice de agregação *K* foram calculados usando o programa Quantative Parasitology (REICZIGEL ; RÓZSA, 2005). Análises usando o Qui-quadrado ($\alpha = 0.05$) foram usadas para testar diferenças na prevalência do parasito entre as estações seca e chuvosa, sexo e idade do hospedeiro e períodos de coletas. O modelo generalizado linear (GLM) com distribuição binomial negativa e função de ligação *logit* foi utilizado para verificar a contribuição do sexo,

peso (idade) do hospedeiro e estação nas variações observadas na abundância de *A. cantonensis* usando o programa estatístico PASW Statistics Version 18.0. O modelo proposto foi comparado usando os critérios de informação Akaike corrigido para amostras pequenas (AICc).

Os modelos foram classificados com base na diferença entre o melhor modelo de aproximação (modelo com o menor AICc) e todos os outros no conjunto de modelos candidatos (Δ AICc); modelos com diferenças dentro de duas unidades do melhor modelo foram considerados modelos competitivos com forte suporte empírico (BURNHAM; ANDERSON, 2002).

4.3 Resultados

Cento e catorze *R. norvegicus* foram capturados durante o estudo. Cinquenta e seis foram coletados durante a estação chuvosa e cinquenta e oito durante a estação seca (Tabela 5). Um total de 861 vermes adultos de *A. cantonensis* (Figura 15) foi recuperado das artérias pulmonares. Nove ratos (3 de cada classe de idade) estavam parasitados com até 33 vermes jovens (L₅) no espaço subaracnóide (Figura 16), sendo oito coletados durante a estação chuvosa e um durante a estação seca (Figura 17). A maior carga parasitária (42 helmintos adultos) ocorreu em uma fêmea sub-adulta durante a estação seca.



Figura 15. Bolsa copuladora de *Angiostrongylus cantonensis*, macho. Barra de escala= 50 μ m.



Figura 16. Larva de *Angiostrongylus cantonensis* no espaço subaracnóide de *Rattus norvegicus*.

Através da análise histopatológica do pulmão dos roedores infectados, pode-se observar larvas e ovos de nematoides dentro das artérias e capilares menores. Presença de infiltrado intersticial e alveolar associadas com infiltrado inflamatório, fibrose e formação de

granulomas ao redor dos ovos de *Angiostrongylus*. Há uma substituição do tecido pulmonar funcional por tecido fibroso (Figura 18A-C). Larvas livre e dentro dos ovos foram observadas nos alvéolos e brônquios, enquanto os vermes adultos estavam restritos à artéria pulmonar (Figura 18 C-D).

A distribuição dos nematoides foi agregada ($K= 2,04$). A prevalência de *A. cantonensis* variou de 63% a 87% (Tabela 6), porém não houve diferença estatística entre os períodos de coletas ($P= 0.81$) ou estações ($P = 0.93$) (Figura 19). A prevalência da infecção foi maior em fêmeas (82%) do que em machos (62%; $P= 0.022$; Tabela 6). Além disso, a prevalência em jovens (42%) foi significativamente menor do que em sub-adultos (70%) e adultos (77%; $P= 0.013$; Tabela 6).

A análise multivariada usando sexo, peso do hospedeiro e estação como variáveis independentes e abundância de *A. cantonensis* como variável dependente indicou que estação, peso e sexo do hospedeiro foram variáveis importantes que contribuíram para a variação na abundância do parasito (Tabela 8). Todas as três variáveis estavam no melhor modelo de AICc, significando que suas contribuições relativas para o padrão observado são semelhantes. Entretanto, essa contribuição foi relativamente baixa, uma vez que não houve uma variação marcada entre sexo e as estações (Tabela 7; Figura 20 A e B); e a abundância do parasito variou pouco com o peso do hospedeiro ($R_{\text{Spearman}}=0.286$; $N=105$; $P=0.03$).

Os 3 espécimes de *A. cantonensis* oriundos de São Gonçalo, Rio de Janeiro, produziram um único haplótipo, que formou um clado com o haplótipo de *A. cantonensis* da República da China com uma baixa distância genética ($K_2-p 0,038$) e um alto suporte de bootstrap (99), confirmando assim a identificação morfológica (Figura 21). Comparações com as outras 2 espécies de *Angiostrongylus* resultou em altos valores da distância genética ($K_2-p 0,120$, com *A. vasorum* e $0,149$ com *A. costaricensis*).

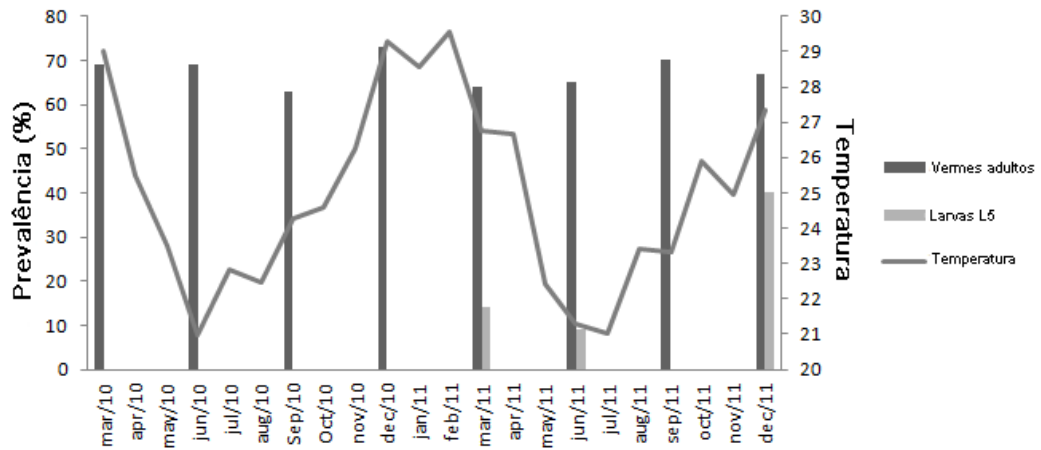


Figura 17. Prevalência sazonal de vermes adultos e L5 de *Angiostrongylus cantonensis* em *Rattus norvegicus* coletados em uma área urbana do Rio de Janeiro, Brasil.

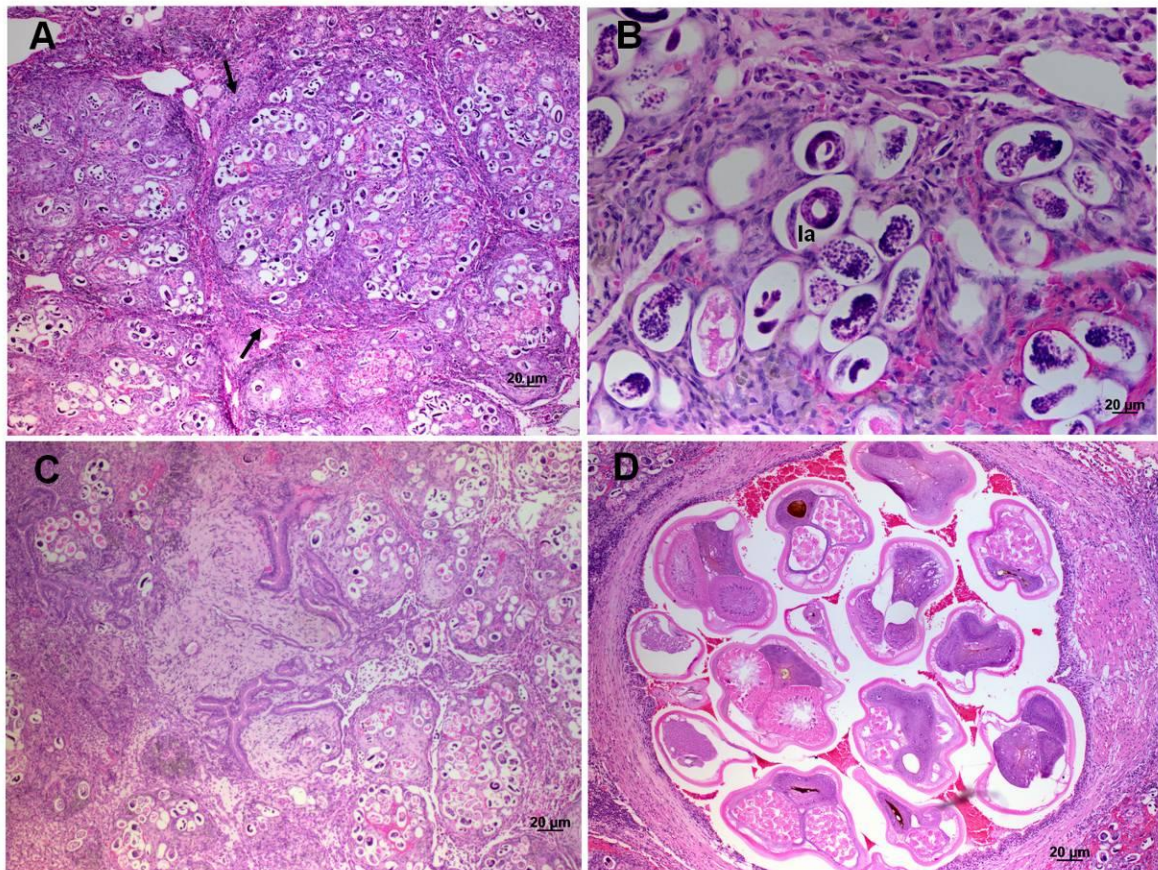


Figura 18. Histologia do pulmão de *Rattus norvegicus* naturalmente infectado por *Angiostrongylus cantonensis*. (A) infiltrado intersticial e alveolar associadas com infiltrado inflamatório, fibrose e formação de granulomas (seta) ao redor das larvas e ovos. (B) Detalhe mostrando as larvas (la). (C) Substituição do tecido pulmonar funcional por tecido fibroso. (D) Vermes adultos no interior da artéria pulmonar.

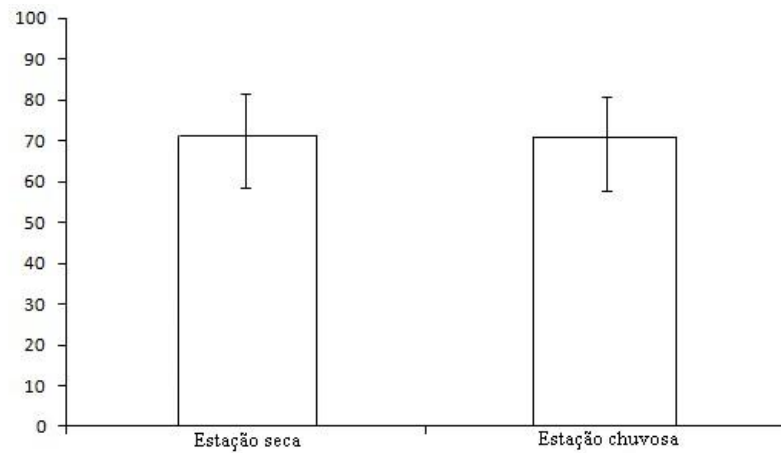


Figura 19. Prevalência seguida pelo intervalo de confiança de 95% de infecções por *Angiostrongylus cantonensis* em *Rattus norvegicus* coletados durante 2010 e 2011 no bairro de Trindade, município de São Gonçalo, Rio de Janeiro.

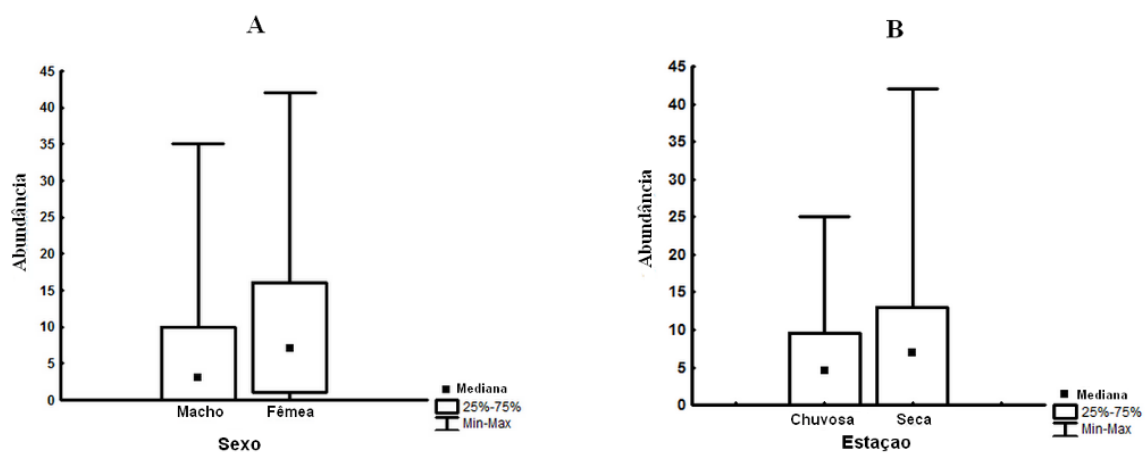


Figura 20 A e B. Abundância mediana de *Angiostrongylus cantonensis* em *Rattus norvegicus* coletados em área urbana do Rio de Janeiro, Brasil. (A) Abundância parasitária por sexo do hospedeiro, (B) Abundância parasitária por estação.

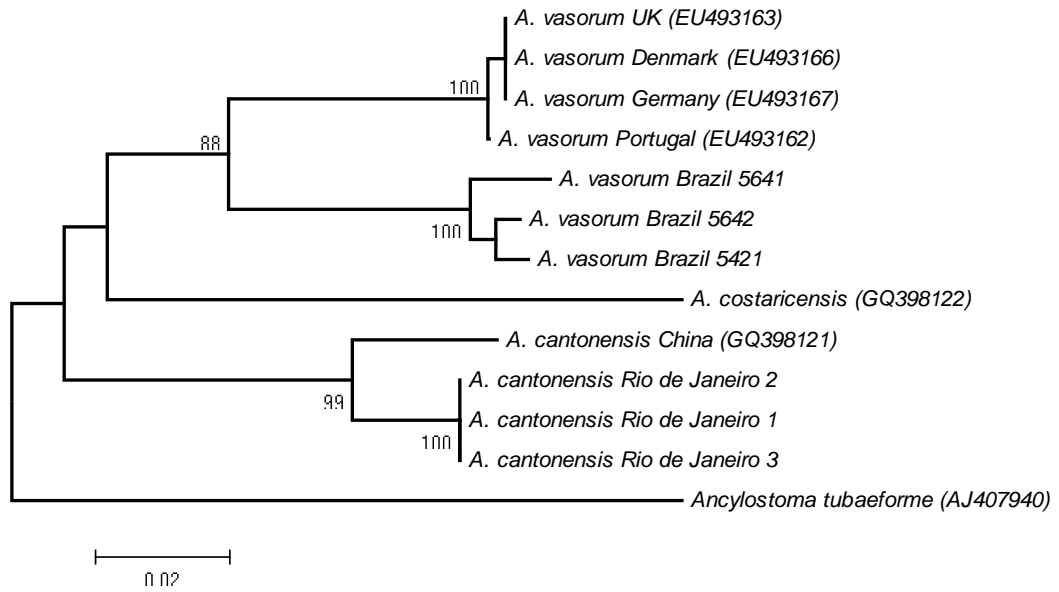


Figura 21. Árvore filogenética construída a partir da análise pelo método de Neighbor-joining e distância Kimura 2-parameter (K2-p) utilizando as sequências de COI de *Angiostrongylus* disponíveis no GenBank e as sequências de 3 espécimes de *Angiostrongylus* coletados nas artérias pulmonares de *Rattus norvegicus* naturalmente infectado. Os espécimes consistiram de 1 haplótipo, que agrupou junto com o haplótipo da República da China com uma baixa distância genética (K2-p 0,038). Barra de escala indica 0,02 K2-p de distância genética.

Tabela 6. Número de indivíduos de *Rattus norvegicus* infectados por *Angiostrongylus cantonensis* organizados por idade, sexo e estação.

Idade*	Estação chuvosa		Estação seca		Total
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	
Jovens	2 (7)	2(3)	2(4)	0	6 (14)
Sub-adultos	1 (1)	7 (8)	2(6)	6(8)	16 (23)
Adultos	12 (17)	13 (16)	18 (25)	13 (15)	56 (73)

Ratos positivos (número total de ratos coletados)

*n=110

Tabela 7. Prevalência (P) com o intervalo de confiança de 95%, intensidade média (IM) e abundância média (AM), seguidas do erro padrão das infecções por *Angiostrongylus cantonensis* em *Rattus norvegicus* coletados durante 2010 e 2011 em São Gonçalo, RJ..

Estação	Mês/ano	Número de hospedeiros	Prevalência	Intensidade Média	Abundância Média
Chuvosa	Março/2010	15	67% (41,5-85,0)	8 ± 5,7	6,2 ± 6,6
Seca	Junho/2010	15	67% (41,5-85,0)	18 ± 12,6	12,7 ± 13,5
	Setembro/2010	19	63% (40,9-80,9)	11 ± 9,8	8,8 ± 9,3
Chuvosa	Dezembro/2010	12	67% (51,7-93,2)	8,5 ± 5,1	6,4 ± 5,9
	Março/2011	14	79% (38,6-83,8)	10 ± 7,7	6,6 ± 7,8
Seca	Junho/2011	15	87% (60,9-97,5)	10 ± 9,9	8,2 ± 9,9
	Setembro/2011	10	70% (39,2-89,7)	8 ± 4,4	5,2 ± 5,1
Chuvosa	Dezembro/2011	14	79% (51,7-93,2)	7,5 ± 5	5,2 ± 5,5

Tabela 8. Modelos que melhor descrevem a abundância parasitária em *Rattus norvegicus* coletados em São Gonçalo, Rio de Janeiro/Brasil durante 2010 e 2011; k= número de parâmetros no modelo.

Modelo	Log(l)	AICc	k	ΔAICc	Peso AICc
<i>Abundância parasitária</i>					
Estação + Peso*Sexo do hospedeiro	-332	671,4	4	0,00	0,57
Estação + Peso + Sexo do hospedeiro	-332	673,3	4	1,89	0,22
Estação + Peso	-335	675,6	3	4,15	0,07
Sexo do hospedeiro + Estação	-335	676,5	3	5,06	0,05
Peso* Sexo do hospedeiro	-335	676,9	3	5,42	0,04
Peso + Sexo do hospedeiro	-336	678,3	3	6,82	0,02
Estação	-337	678,5	2	7,10	0,02
Peso	-338	679,2	2	7,77	0,01
Sexo do hospedeiro	-338	680,3	2	8,86	0,01

4.4 Discussão

A prevalência de *A. cantonensis* em *R. norvegicus* no Rio de Janeiro é relativamente alta quando comparada com outras localidades onde foram encontrados ratos infectados (WANG et al., 2008). Em uma revisão feita por WANG et al.(2008), Cuba e República Dominicana apresentaram uma prevalência alta para *A. cantonensis* de 60% (12 roedores infectados de 20 coletados) e 100% (5 roedores infectados de 5 coletados), respectivamente. Contudo, o pequeno tamanho amostral usado nestes estudos de curto período não permite resultados conclusivos e impossibilita inferências sobre a estrutura da infrapopulação de helmintos. No presente estudo, nós observamos uma prevalência de *A. cantonensis* alta e estável durante os dois anos de coleta, o que sugere uma transmissão contínua.

A presença do parasito com prevalências alta indica que a infecção por *A. cantonensis* entre a população do rato exótico *R. norvegicus* na região estudada é enzoótica. A formação de um clado de *A. cantonensis* oriundo de São Gonçalo com haplótipo da República da China, não foi observada nos recentes estudos (MONTE et al., 2012; TOKIWA et al., 2012). TOKIWA et al. (2012) e MONTE et al. (2012) analisando isolados geográficos de diversas regiões do Japão e do Brasil, demonstram que o isolado do Rio de Janeiro oriundo de São Gonçalo é mais similar com o isolado de *A. cantonensis* do Japão. Isto ocorreu porque quando foi feito o primeiro relato do hospedeiro vertebrado *R. norvegicus* naturalmente infectado no Brasil (Rio de Janeiro) (SIMÕES et al., 2011) não haviam sequencias de isolados do Japão disponíveis no Genbank.

Consideramos que existe a possibilidade de que a área de estudo de São Gonçalo, Estado do Rio de Janeiro, foi recentemente colonizada por *A. cantonensis* isso pode explicar parcialmente a alta prevalência desse parasito, uma vez que espécies recentemente introduzidas podem encontrar melhores condições ambientais e uma maior abundância de hospedeiros (DOBSON, 1986) aumentando a sua prevalência na nova área. Adicionalmente, a presença do hospedeiro intermediário exótico *A. fulica* na área de estudo (MALDONADO et al., 2010) e sua recente dispersão para todas as 27 federações do Brasil (MALDONADO et al., 2010; THIENGO et al., 2007; 2013) pode contribuir para o estabelecimento e aumento da transmissão de *A. cantonensis* nos seus hospedeiros vertebrados. Contudo, não há informações sobre a dinâmica de transmissão para espécies de moluscos presentes na área de estudo, embora tenha sido demonstrado que variações na estrutura das populações de hospedeiros intermediários têm um papel importante na flutuação sazonal dos parâmetros na

comunidade de helmintos dos hospedeiros definitivos (MALDONADO et al., 2006). A estabilidade na prevalência pode também ser causada por: (1) longo ciclo de vida no hospedeiro definitivo e eliminação de larvas L₁ por longos períodos, podendo assim, manter a transmissão do parasito para o hospedeiro intermediário mesmo em tempos em que ocorra uma baixa abundância de moluscos no ambiente; (2) a presença de mais de uma espécie de molusco capaz de desenvolver a larva para o estágio infectante (L₃) (CARVALHO et al., 2012); (3) ausência de fatores limitantes na abundância dos ratos (ex. disponibilidade constante e elevada de comida e abrigo); e (4) heterogeneidade genética de *A. cantonensis* (MONTE et al., 2012; TOKIWA et al., 2012), que pode facilitar a adaptação a novos ambientes.

Através da análise histopatológica os ratos infectados apresentavam características de pneumonia granulomatosa severa, resultante da infecção por *A. cantonensis*. Provavelmente, estes animais conseguem sobreviver na natureza por se infectarem repetidamente ao longo do tempo, permitindo um ajustamento do sistema cardiovascular à redução do fluxo sanguíneo pulmonar (ROSE; HIGGINS, 1999).

A relação positiva entre a abundância de *A. cantonensis* e o peso dos ratos está associada parcialmente com as maiores cargas parasitárias em ratos mais velhos (e mais pesados). Como já relatado por ABU-MADI et al. (2001, 2005), este fato provavelmente ocorre devido ao maior período de exposição à infecção, o qual também pode ser corroborado pela prevalência mais elevada encontrada em ratos adultos. Entretanto, a intensidade média foi relativamente baixa nos roedores, sugerindo a presença de um processo regulatório na densidade parasitária. De fato, estudos experimentais demonstraram que ratos quando expostos a infecção por *A. cantonensis* são capazes de modular a carga parasitária quando re-infectados (AU; KO, 1979).

Machos maiores e mais pesados apresentam níveis maiores de testosterona e uma área de vida maior do que as fêmeas, podendo potencialmente aumentar a probabilidade de adquirir/manter uma infecção (SCHALK; FORBES, 1997; ZUK; MCKEAN, 1996). No entanto, fêmeas apresentaram maiores prevalência e abundância de *A. cantonensis*, o que enfraquece a hipótese de que os machos estão expostos com mais frequência à infecção por apresentarem uma maior área de vida e níveis de testosterona mais elevados. Apesar de mamíferos machos geralmente abrigarem mais parasitos do que as fêmeas (INNES, 2001), a resposta hormonal de cada sexo pode determinar em perfis parasitários distintos (POULLIN, 2007). Alguns estudos têm demonstrado uma tendência no parasitismo em fêmeas (KRASNOV et al., 2005; MORALES-MONTOR et al., 2004; SCHUURS; VERHEUL,

1990), sugerindo que a influencia do sexo no parasitismo é um fenômeno complexo, influenciado por outros hormônios além da testosterona (POULIN, 1996) e que mais variáveis na relação parasito-hospedeiro podem influenciar a pré-disposição para infecções e cargas parasitárias. (POULIN, 2007). Por exemplo, fêmeas sub-adultas tendem a se locomover mais e gastam mais tempo explorando áreas do que os machos da mesma idade (LYNN; BROWN, 2009), se isso implica que as fêmeas exploraram melhor as suas áreas de vida, elas podem ser mais propensas à infecção do que os machos nessa idade. Contudo, nossos resultados indicam que as fêmeas adultas podem ser particularmente mais importantes na manutenção do parasito em uma escala local devido as suas maiores prevalências e abundâncias de infecção, enquanto que a dispersão do parasita pode ser mediada principalmente pelos machos que tendem a ter uma maior capacidade de dispersão (CALHOUN, 1963; TAYLOR, 1978).

Embora a prevalência de *A. cantonensis* não tenha variado entre as estações, houve uma variação da abundância parasitária, sendo maior durante a estação seca. Devido a sensibilidade dos moluscos (hospedeiros intermediários) à dessecação (BRASIL, 2007), seria esperado que durante a estação seca ocorresse uma menor abundância e prevalência de moluscos e conseqüentemente, uma menor abundância de *A. cantonensis* em ratos durante essa época. Entretanto, a presença de um maior número de ratos com larvas jovens de *A. cantonensis* no espaço subaracnóide durante a estação chuvosa sugere que as taxas de infecção possam realmente ser maiores durante o período úmido. Em muitas populações naturais, no entanto, os animais mostram mudanças sazonais nos hormônios do estresse em resposta às mudanças ambientais (por exemplo, alimentos ou falta de água) e/ou fatores bióticos (por exemplo, o aumento da competição intra-específica) (REEDER; KRAMER, 2005). Durante a estação seca, os ratos podem apresentar uma elevação nos hormônios do estresse, reduzindo a capacidade de modular a infecção parasitária, explicando em parte a maior abundância parasitária. No entanto, não existem estudos de mudanças sazonais nos glicocorticóides em mamíferos tropicais para apoiar esta hipótese.

Nossos resultados demonstraram que sexo, peso do hospedeiro e estação contribuíram para as variações observadas na abundância dos parasitos. Contudo, outras variáveis não incluídas no modelo podem ser importantes na determinação da abundância e prevalência do parasito no hospedeiro definitivo. Variáveis diretamente relacionadas com a taxa de infecção e abundância do hospedeiro intermediário (tais como características do habitat, temperatura, umidade, ph do solo ou água, etc) podem melhor prever as taxas de infecção por *A. cantonensis* em *R. norvegicus*. Da mesma forma, o sistema imune do hospedeiro e infecções concomitantes com outros parasitos podem também ser importantes preditores para a

abundância de *A. cantonensis* em *R. norvegicus*. Para separar a influência dessas variáveis na prevalência e abundância parasitárias, são necessários estudos de campo associados a estudos experimentais, uma vez que no laboratório pode-se controlar as variáveis.

A estabilidade da prevalência de *A. cantonensis* durante todo período deste estudo confirma que este parasito está estabelecido na região urbana do município de São Gonçalo no Estado do Rio de Janeiro e apresenta condições adequadas para dispersão do parasita. Sugerimos uma abordagem multidisciplinar que considere aspectos ecológicos (por exemplo, a variação na dieta, capacidade de dispersão e área de vida) dos ratos e hospedeiros intermediários, bem como as características ambientais para melhor compreender a dinâmica de diversas zoonoses, incluindo a angiostrongilíase (HIMSWORTH et al., 2013). Estes estudos são essenciais para a implementação de estratégias de vigilância e controle a fim de reduzir o risco da angiostrongilíase entre os moradores locais e limitar a ocorrência de novos focos.

5 CAPÍTULO III

OCORRÊNCIA DE *Calodium hepaticum* (NEMATODA: CAPILLARIIDAE) EM *Rattus norvegicus* DE ÁREA URBANA NO RIO DE JANEIRO, BRASIL: ASPECTOS MORFOLÓGICOS, QUANTITATIVOS E HISTOPATOLÓGICOS.

RESUMO

O nematóide *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*) é um helminto zoonótico encontrado infectando principalmente ratos. A prevalência da infecção de *C. hepaticum* em *Rattus norvegicus* foi investigada em uma área urbana do Rio de Janeiro (Brasil) com baixo planejamento e saneamento. A presença de *C. hepaticum* foi identificada através da presença de lesões macroscópicas caracterizada por manchas extensas de coloração branco-amarelada difusa por toda superfície do tecido do fígado e através de análise histológica. A prevalência total da infecção foi de 45% sem diferença significativa entre o sexo e idade. A presença de roedores infectados próximos do peridomicílio representa um risco substancial para a saúde humana.

ABSTRACT

The nematode *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*) is a zoonotic helminth found mainly infecting rats. We studied the prevalence of *C. hepaticum* infection in *Rattus norvegicus* in an urban area of Rio de Janeiro (Brazil) with low urban planning and sanitation. The presence of *C. hepaticum* was identified by visible yellowish-white lesions in liver tissue and histological analyses. The total prevalence of infection was 45%, with no significant differences between sex and age. The presence of infected rodents near the peridomestic area poses substantial risk to human health.

5.1 Introdução

O nematoide *Calodium hepaticum* (Brancroft, 1893) Moravec, 1982 (syn. *Capillaria hepatica*, *Hepaticus tricocephalus*, *Hepaticola hepatica*) está distribuído em todo o mundo e infectam principalmente roedores e outros mamíferos, incluindo o homem (LAYNE, 1968; CERUTI et al., 2001; RESENDES et al., 2009; CARVALHO-COSTA et al., 2009; KATARANOVSKI et al., 2010). Os ratos sinantrópicos do gênero *Rattus* são considerados os hospedeiros mais importantes e reservatórios do parasita devido à elevada prevalência e baixa patogenicidade da infecção (LAYNE, 1968).

O hospedeiro se infecta quando ingere ovos embrionados de *C. hepaticum* que irão eclodir no ceco. As larvas liberadas migrarão para o fígado através do sistema porta onde se desenvolvem até a fase adulta, com 15 dias após a infecção. Após 20 dias, as fêmeas liberam os ovos não embrionados no fígado. Os vermes adultos morrem no fígado onde são desintegrados pelo sistema imune do hospedeiro, enquanto os ovos imaturos conservam-se no parênquima hepático (ATTAH et al., 1983; CHOE et al., 1993; CAMARGO et al., 2010) (Figura 22). A liberação dos ovos no meio ambiente pode ocorrer de duas formas: 1) Quando o hospedeiro morre, em virtude da desintegração da carcaça, ou 2) A partir de infecções espúrias ou pseudoparasitárias, quando o fígado de um animal infectado é ingerido por outro vertebrado, desta forma, os ovos não embrionados de *C. hepaticum* passam pelo trato gastrointestinal e são eliminados nas fezes (infecção espúria) (GALVÃO, 1981; CARVALHO-COSTA et al., 2009). Desta forma, o canibalismo e predação, comuns em roedores, são os principais mecanismos de dispersão dos ovos, que é essencial para o ciclo de vida do nematoide (CHOE et al., 1993; NABI et al., 2007; CAMARGO et al., 2010). Uma vez no ambiente, os ovos não embrionados necessitam cerca de 28 dias, sob condições adequadas de temperatura e umidade, para se tornarem infectantes. Nesse estágio, o homem pode ser infectado ingerindo os ovos na água, no solo ou vegetais contaminados (LAYNE, 1968).

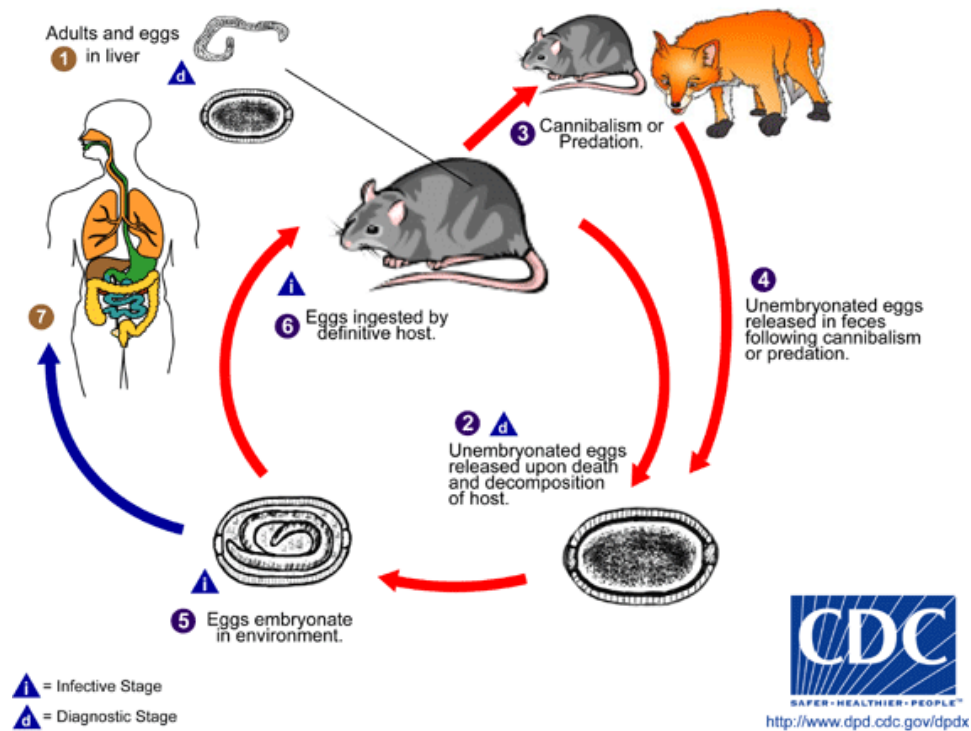


Figura 22. Ciclo de vida de *Calodium hepaticum*.

No Brasil, este parasito tem sido relatado infectando o homem, cães e gatos domésticos (ILHA; BARROS, 2000), carnívoros selvagens (*Dusicyon gymnocerus* e *Dusicyon gymnocercus*) (RUAS et al., 2003; QUADROS et al., 2009), roedor silvestre (*Sciurus aestuans*) (TEXEIRA; LENT, 1936) e porco-do-mato (*Tayassu tajacu*) (MANDORINO; REBOUÇAS, 1991). Também já foram relatadas infecções de *C. hepaticum* em ratos sinantrópicos nos estados de São Paulo, Bahia e Pará (ARAÚJO, 1967; CHIEFFI et al., 1981; GALVÃO, 1981; MOREIRA et al., 2013).

No estado do Rio de Janeiro, foi feito um estudo prévio em populações de *Rattus norvegicus* para detecção de doenças zoonóticas parasitárias no município de São Gonçalo (SIMÕES et al., 2011). Desta forma, o objetivo desse estudo é determinar a prevalência de *C. hepaticum* em *R. norvegicus* em uma área urbana com baixo planejamento e saneamento urbano.

5.2 Material e Métodos

Os animais positivos foram diagnosticados infectados por *C. hepaticum* baseados na inspeção macroscópica de lesões caracterizadas por manchas extensas, irregulares e sinuosas, de aspecto caseoso, coloração branco-amarelada opaca, difusas por toda a superfície do fígado de roedores da espécie *R. norvegicus* (Figura 23 A-B).

Através do estereomicroscópio foi possível observar corpos estranhos, intimamente inseridos no tecido do órgão, capazes de serem retirados mecanicamente, embora fragmentados. Análises microscópicas demonstraram a presença dos nematoides *C. hepaticum*, envolvidos por fina cutícula e preenchidos por centenas de ovos (Figura 24A). Estes ovos apresentavam, caracteristicamente, dupla casca com estrias transversais e dois opérculos ou plug em pólos opostos (Figura. 24B).

A prevalência foi calculada de acordo com BUSH et al. (1997). O teste Qui-quadrado foi utilizado para comparar as diferenças na prevalência de parasitos entre sexo e idade dos ratos (REICZIGEL; RÓZSA, 2005).

5.3 Resultados

A prevalência da infecção foi de 45% IC 33,8-55,9 (33/74); em machos e fêmeas foi 52% IC 33,7-66,5 (22/42) e 34% IC 20,3-51,7 (11/32), respectivamente. As prevalências entre as idades foram: 20% IC 4,5-52,1 (2/10) em jovens (<100g), 40% IC 19,7-64,3 (6/15) sub-adultos (100-200g) e 51% IC 37,6-68,2 (25/49) em adultos (>200g). Não houve diferença significativa na prevalência entre as idades e sexo ($P > 0,05$).

A análise histológica de fígado infectado permitiu a observação de helmintos em diferentes estágios inseridos em seu parênquima: formas adultas, identificadas pela presença de dezenas a centenas de ovos em seu interior, e ovos no tecido (Figura 25A e B). Presença de *C. hepaticum* circundado por granulomas (Figura 25C). Foi observada uma reação granulomatosa no tecido com diferentes fases de tecidos conjuntivo fibrocelular. Presença de granulomas com necrose septal, contendo ovos intactos com intenso infiltrado granulomatoso inflamatório (monócitos e macrófagos) e congestão na área infiltrada (Figura 25D). Foi observada fibrose septal com pronunciada remodelação do parênquima (Figura 25E), no entanto, no fígado de alguns dos ratos foram observadas discretas dissociações septos fibrocelular do parênquima hepático em porções irregulares (Figura 25F).

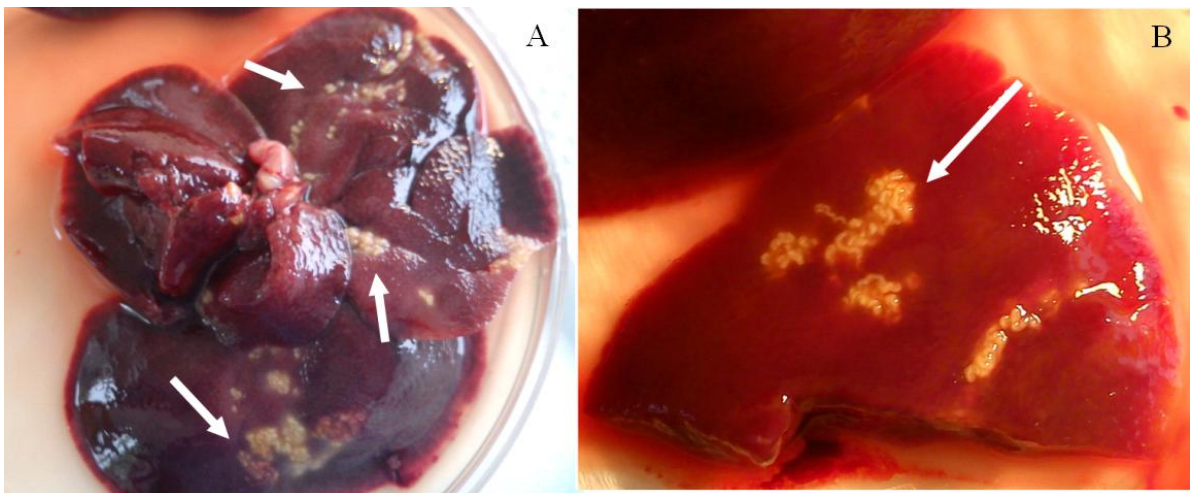


Figura 23 A e B. Lobos do fígado de *Rattus norvegicus* depositado em placa de Petri, imerso em solução tampão salina. Evidencia-se a extensão das alterações no órgão pelas numerosas manchas sinuosas e irregulares de coloração amarelada (setas) observadas em sua superfície.



Figura 24 A e B. Microscopia de luz de *Calodium hepaticum* (A) Fragmento de fêmea de parasito retirado mecanicamente do parênquima hepático. Barra de escala: 100 µm. (B) Detalhe de um ovo embrionado com dupla camada espessa estriada e duplo opérculo nos pólos opostos (setas) Barra de escala= 50 µm.

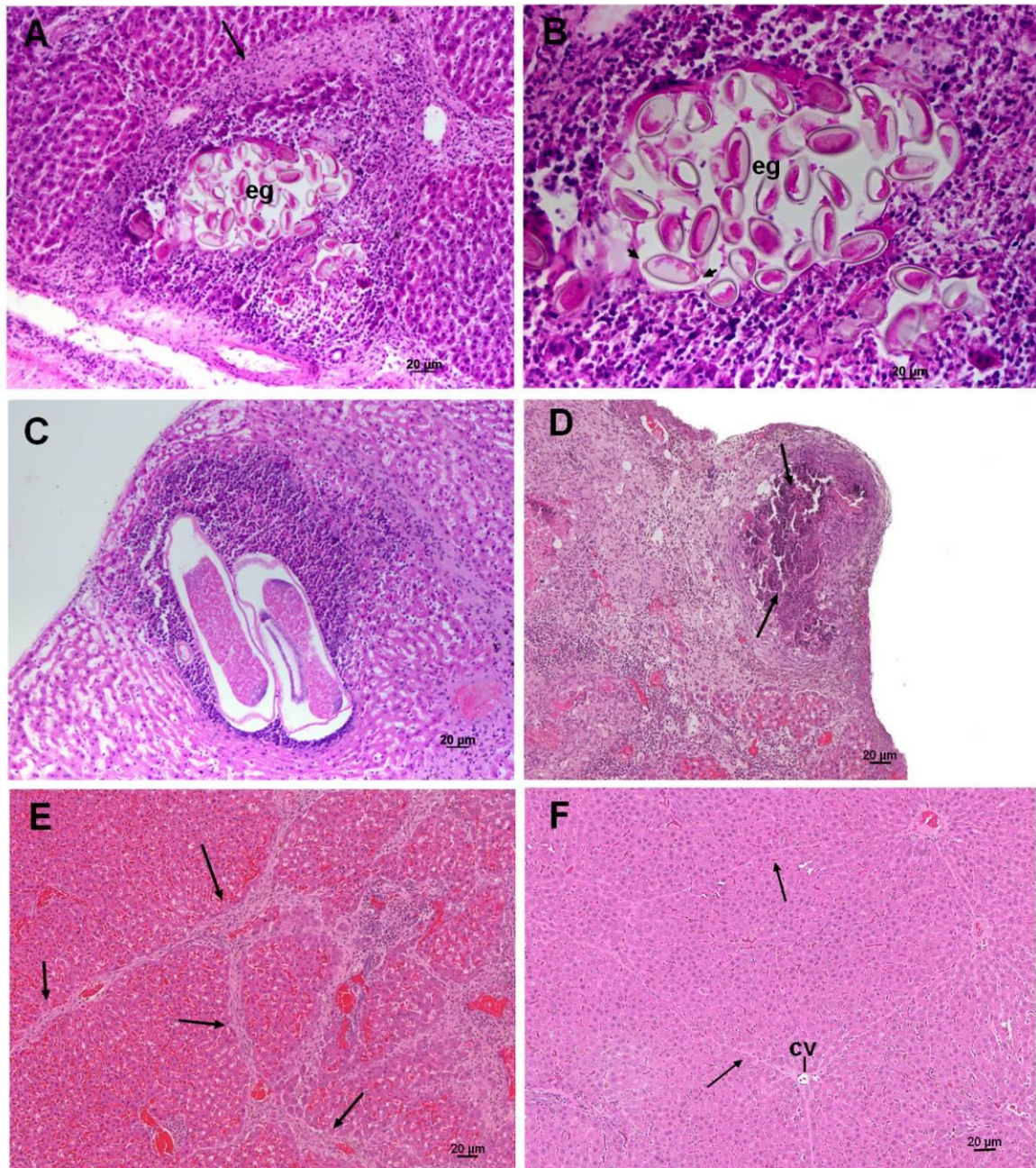


Figura 25 A-F. Características histológicas do fígado de *Rattus norvegicus* infectado por *Calodium hepaticum*. **(A)** Parênquima hepático, caracterizado pela presença de ovos de vermes (eg) e reação do sistema imunológico celular do hospedeiro. **(B)** Parênquima hepático com infecção crônica caracterizada pela presença de tecido fibroso (setas) e a acumulação de tecido conjuntivo adjacente ao corpo do parasita preenchido com os ovos. **(C)** Presença de *C. hepaticum* circundado por granulomas. **(D)** Áreas de necrose (setas). **(E)** Fibrose septal com pronunciada remodelação do parênquima. **(F)** Discretas fibrose septal.

5.4 Discussão

Este é o primeiro relato da prevalência de infecção por *C. hepaticum* em *R. norvegicus* nesta área geográfica. A prevalência do presente estudo (44,6%) é alta e semelhante aos Estados de São Paulo (59%) (CHIEFFI et al., 1981), Bahia (56%) (GALVÃO, 1981) e Pará (42%) (MOREIRA et al., 2013).

O curto ciclo de vida da população de ratos pode contribuir para a rápida e grande liberação de ovos no meio ambiente. Além disso, a alta taxa de natalidade dos roedores fornece um número suficiente de hospedeiros para terminar o ciclo do parasita (FARHANG-AZAD, 1977), colaborando para uma alta prevalência neste hospedeiro.

A ausência de influência do sexo e da idade na prevalência da infecção também foi registrada em outros estudos (KATARANOVSKI et al., 2010) em áreas urbanas. Provavelmente, isso ocorre porque o canibalismo, predação, presença de animais vertebrados e invertebrados, características do solo e comportamento social podem ser fatores importantes na disseminação e manutenção de infecção por *C. hepaticum* (CERUTI et al., 2001). Além disso, a presença de cães e gatos de rua, e a aqueles que têm acesso à rua, podem contribuir para a disseminação de ovos e servir como fonte de infecção para outros animais e seres humanos.

Os achados histopatológicos no fígado são semelhantes a outros estudos realizados em ratos naturalmente e experimentalmente infectados (CERUTI et al., 2001; KATARANOVSKI et al., 2010; MOREIRA et al., 2013). O achado mais comum em ratos infectados por *C. hepaticum* é a fibrose septal do fígado que se caracteriza pela formação de longos e finos septos fibrosos ao longo da zona acinar III, conectando-se entre elas veias centrais e, posteriormente, para espaço porta, formando pontes (SANTOS et al., 2001).

A partir desses resultados, podemos concluir que os roedores infectados e os potenciais animais domésticos infectados no peridomicílio representam risco à saúde humana, principalmente, para as crianças que são as mais suscetíveis a infecções (SAWAMURA et al., 1999)

6 CONCLUSÕES GERAIS

- O roedor sinantrópico *R. norvegicus* na região urbana de São Gonçalo estava parasitado por oito helmintos, sendo quatro espécies com potencial zoonótico (*Angiostrongylus cantonensis*, *Hymenolepis nana*, *Moniliformis moniliformis* e *Calodium hepaticum*). Desta forma, confirma-se a importância desses roedores na transmissão de doenças aos homens e o risco que eles representam à população local.
- A comunidade helmíntica gastrointestinal está estruturada predominantemente por nematóides, sendo *Nippostrongylus brasiliensis* e *Strongyloides venezuelensis* as espécies dominantes, *Heterakis spumosa*, *Raillietina* sp. e *H. nana* as co-dominantes, e *M. moniliformis* subordinada.
- A ocorrência do nematóide *S. venezuelensis* apresentou relação significativa com a pluviosidade, demonstrando a importância das condições ambientais na transmissão deste parasito ao roedor.
- A prevalência elevada e constante de *A. cantonensis* durante o estudo confirma que o parasito está bem estabelecido na região urbana de São Gonçalo, RJ. Além disso, a prevalência variou significativamente quando considerado o sexo e idade do roedor, enquanto que estação, sexo e idade do hospedeiro contribuíram para a variação observada na abundância.
- Sexo e idade do hospedeiro não influenciaram a prevalência de *Calodium hepaticum* que é relativamente alta podendo o canibalismo, predação, presença de animais vertebrados e invertebrados, características do solo e comportamento social ser fatores importantes na disseminação e manutenção de infecção por *C. hepaticum*.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABU-MADI, M. A.; BEHNKE, J. M.; LEWIS, J. W.; GILBERT, F. S. Seasonal and site specific variation in the component community structure of intestinal helminths in *Apodemus sylvaticus* from three contrasting habitats in south-east England. **Journal of Helminthology**, v. 74, n. 1, p. 7–15, 2000.
- ABU-MADI, M. A.; LEWIS, J. W.; MIKHAIL, M.; EL-NAGGER, M. E.; BEHNKE, J. M. Monospecific helminth and arthropod infections in an urban population of brown rats from Doha, Qatar. **Journal of Helminthology**, v. 75, n. 4, p. 313–20, 2001.
- ABU-MADI, M. A.; BEHNKE, J. M.; MIKHAIL, M.; LEWIS, J. W.; AL-KAABI, M. L. Parasite populations in the brown rat *Rattus norvegicus* from Doha, Qatar between years: the effect of host age, sex and density. **Journal of Helminthology**, v. 79, n. 2, p. 105–111, 2005.
- ACHA, B.; SZYFRES, P. **Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. V. 3: Parasitoses**. 3 ed. Washington: PAHO Publication Centers, 2003. 401pp.
- ALVES, M. Controle de roedores. In: GEIGY, C.- (Ed.). **Manual Prático da Biologia e Controle de Roedores**. São Paulo, 1987. p. 319–332.
- AMATO, J.F.R.; WALTER, A. B.; AMATO, S. B. **Protocolo para Laboratório. Coleta e Processamento de Parasitas do Pescado**. 1º ed. Rio de Janeiro: imprensa Universitária, UFRRJ, 1991. 81p.
- ANDERSON, R. M.; MAY, R. O. Regulation and stability of host-parasite population interactions I. Regulatory processes. **Journal of Animal Ecology**, v. 47, p. 219–247, 1978.
- ARAÚJO P. Helminhos de *Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769) da cidade de São Paulo. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v. 5, n. 1, p. 141–159, 1967.
- ARNEBERG, P.; SKORPING, A.; GRENFELL, B.; READ, A. F. Host densities as determinants of abundance in parasite communities. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 265, n. 1403, p. 1283–1289, 1998.
- ATTAH, E. B.; NAGARAJAN, S.; OBINECHE, E. N.; GERA, S. C. Hepatic capillariasis. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 79, n. 1, p. 127–30, 1983.
- AU, A. C.; KO, R. C. Changes in worm burden, haematological and serological response in rats after single and multiple *Angiostrongylus cantonensis* infections. **Zeitschrift für Parasitenkunde (Berlin, Germany)**, v. 58, n. 3, p. 233–42, 1979.
- BARROW, K. O.; ROSE, A.; LINDO, J. F. Eosinophilic meningitis. Is *Angiostrongylus cantonensis* endemic in Jamaica? **The West Indian Medical Journal**, v. 45, n. 2, p. 70–1, jun. 1996.

BEHNKE, J. M. Structure in parasite component communities in wild rodents: predictability, stability, associations and interactions or pure randomness? **Parasitology**, v. 135, n. 7, p. 751–66, 2008.

BOWLES, J.; BLAIR, D.; MCMANUS, D. P. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 54, n. 2, p. 165–73, 1992.

BRASIL. **Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica, diretrizes técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose**. Second ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007. p.180

BROOK, J. E. A Review of Commensal Rodents and Their Control. **CRC Critical Reviews in Environmental Control**, v. 3, n. 4, p. 405–453, 1973.

BURNHAM, K. P.; D. R ANDERSON. **Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach**. Second ed. New York: Springer, 2002. p. 488

BUSH, A. O.; LAFFERTY, K. D.; LOTZ, J. M.; SHOSTAK, A. W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **The Journal of Parasitology**, v. 83, n. 4, p. 575–83, 1997.

CAIRA, J. N.; JENSEN, K.; WAESCHENBACH, A.; OLSON, P. D.; LITTLEWOOD, D. T. J. Orders out of chaos - molecular phylogenetics reveals the complexity of shark and stingray tapeworm relationships. **International Journal for Parasitology**, 22 nov. 2013.

CALDEIRA, R. L.; MENDONÇA, C. L.; GOVEIA, C. O.; LENZI, H. L.; GRAEFF-TEIXEIRA, C.; LIMA, W. S.; MOTA, E. M.; PECORA, I. L.; MEDEIROS, A. M.; CARVALHO, O. S. First record of molluscs naturally infected with *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935) (Nematoda: Metastrongylidae) in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 7, p. 887–9, 2007.

CALHOUN, J. B. 1963 **The ecology and sociology of the Norway rat**. Bethesda, Maryland: U.S. Department of Health, Education and Welfare, 1963. 288pp.

CAMARGO, L. M.A.; CAMARGO J. A. A. A. S.; VERA, L. J. S.; BARRETO, P. T. C.; TOURINHO, E. K.; SOUZA, M. M. Capillariasis (Trichurida, Trichinellidae, *Capillaria hepatica*) in the Brazilian Amazon: low pathogenicity, low infectivity and a novel mode of transmission. **Parasites & vectors**, v. 3, p. 11, 2010.

CARVALHO, O. S.; SCHOLTE, R. G. C.; MENDONÇA, C. L. F.; PASSOS, L. K. J.; CALDEIRA, R. L. *Angiostrongylus cantonensis* (Nematode: Metastrongyloidea) in molluscs from harbour areas in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 6, p. 740–6, 2012.

CARVALHO-COSTA, F. A.; SILVA, A. G.; DE SOUZA, A. H.; MOREIRA, C. J.; DE SOUZA, D. L.; VALVERDE, J. G.; JAEGER, L. H.; MARTINS, P. P.; DE MENESES, V. F.; ARAÚJO, A.; BÓIA, M. N. Pseudoparasitism by *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria*

hepatica; *Hepaticola hepatica*) in the Negro River, Brazilian Amazon. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 10, p. 1071–3, 2009.

CARVALHO-NETO, C. **Manual Prático da Biologia e Controle de Roedores**. São Paulo:Ciba- Geigy, 1995.

CERQUEIRA, D.; DELATTRE, P.; DE SOUSA, B.; GABRION, C.; MORAND, S.; QUERE, J. P. Numerical response of a helminth community in the course of a multi-annual abundance cycle of the water vole (*Arvicola terrestris*). **Parasitology**, v. 134, n. 5, p. 705–11, 2007.

CERUTI, R.; SONZOGNI, O.; ORIGGI, F.; VEZZOLI, F.; CAMMARATA, S.; GIUSTI, A. M.; SCANZIANI, E. *Capillaria hepatica* infection in wild brown rats (*Rattus norvegicus*) from the urban area of Milan, Italy. **Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, v. 48, n. 3, p. 235–40, abr. 2001.

CIARAVOLO, R. M. C.; PINTO, P. L. S. Meningite eosinofílica e a infecção por *Angiostrongylus cantonensis*: um agravo emergente no Brasil. **Vector- Informativo técnico e Científico**, v. 8, p. 7–8, 2010.

CHEN, D.; ZHANG, Y.; SHEN, H.; WEI, Y.; HUANG, D.; TAN, Q.; LAN, X.; LI, Q.; CHEN, Z.; LI, Z.; OU, L.; SUEN, H.; DING, X.; LUO, X.; LI, X.; ZHAN, X. Epidemiological survey of *Angiostrongylus cantonensis* in the west-central region of Guangdong Province, China. **Parasitology Research**, v. 109, n. 2, p. 305–14, 2011.

CHEN, H. Un nouveau nématode pulmonaire, *Pulmonema cantonensis* n. g., n. sp., des rats de Canton. **Annales de Parasitologie Humain et Comparée**, v. 13, p. 312–317, 1935.

CHIEFFI, P. P.; GRISPINO, D. M. A.; DIAS, R. M. S.; MANGINI, A. C. S.; GUEDES, M. L. S. Interação entre helmintos parasitas intestinais de murídeos capturados no município de São Paulo, SP, Brasil. **Revista do Instituto Adolf Lutz**, v. 40, n. 2, p. 159–163, 1980.

CHIEFFI, P. P.; GRISPINO, D. M. A.; MANGINI, A. C. S.; DIAS, R. M. S.; VILLANOVA, A.; GUIDUGLI, N. R. Helmintos parasitas do aparelho digestivo de murídeos capturados no município de São Paulo. **Revista do Instituto Adolf Lutz**, v. 40, n. 1, p. 35–41, 1980.

CHIEFFI, P. P.; DIAS, R. M. D. S.; MANGINI, A. C. S.; GRISPINO, D. M. A. *Capillaria hepatica* (Bancroft, 1893), em murídeos capturados no município de São Paulo, SP, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 23, p. 143–146, 1981.

CHOE, G.; LEE, H. S.; SEO, J. K.; CHAI, J. Y.; LEE, S. H.; EOM, K. S.; CHI, J. G. Hepatic capillariasis: first case report in the Republic of Korea. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 48, n. 5, p. 610–25, 1993.

COGNATO, B. B.; MORASSUTTI, A. L.; SILVA, A. C.; GRAEFF-TEIXEIRA, C. First report of *Angiostrongylus cantonensis* in Porto Alegre, State of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 5, p. 664–665, 2013.

COOMANSINGH, C.; PINCKNEY, R. D.; BHAIYAT, M. I.; CHIKWETO, A. ; BITNER, S.; BAFFA, A.; SHARMA, R. Prevalence of endoparasites in wild rats in Grenada. **West Indian Veterinary Journal**, v. 9, n. 1, p. 17–21, 2009.

CORRÊA, R. L. O. Espaço metropolitano e sua dinâmica. **Anuário do Instituto de Geociências da UFRJ**, v. 17, p. 24–29, 1994.

COUNSELMAN, K.; FIELD, C.; LEA, G.; NICKOL, B.; NEAFIE, R. *Moniliformis moniliformis* from a child in Florida. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 41, n. 1, p. 88–90, 1989.

COWIE, R. H. Pathways for transmission of angiostrongyliasis and the risk of disease associated with them. **Hawai'i Journal of Medicine & Public Health**, v. 72, n. 6 Suppl 2, p. 70–4, 2013.

DOBSON, A. P.; MAY, R. M. Patterns of invasions by pathogens and parasites. In: MOONEY, H. A.; DRAKE, J. A. (Eds). **Ecology and biological invasions of North America and Hawaii**. Berlin:Springer-Verlag, 1986. p.58-76.

DORTA-CONTRERAS, A. J. et al. Neuroimmunological findings of *Angiostrongylus cantonensis* meningitis in Ecuadorian patients. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, v. 69, n. 3, p. 466–9, 2011.

ESPÍRITO-SANTO, M. C.; PINTO, P.; MOTA, D. J.; GRYSCHER, R. C. The first case of *Angiostrongylus cantonensis* eosinophilic meningitis diagnosed in the city of São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 2, p. 129–32, 2013.

FARHANG-AZAD, A. Ecology of *Capillaria hepatica* (Bancroft 1893) (Nematoda). II. Egg-releasing mechanisms and transmission. **The Journal of Parasitology**, v. 63, n. 4, p. 701–6, 1977.

FUENTES, M. V.; SÁEZ, S.; TRELIS, M.; GALÁN-PUCHADES, M. T.; ESTEBAN, J. G. The helminth community of the wood mouse, *Apodemus sylvaticus*, in the Sierra Espuña, Murcia, Spain. **Journal of Helminthology**, v. 78, n. 3, p. 219–223, 2004.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Manual de Controle de Roedores**. Brasília: Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde, 2002. 132pp.

GALVÃO, V. A. *Capillaria hepatica*: an evaluation of its pathogenic role in man. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 76, n. 4, p. 415–33, 1981.

GILLESPIE, T. R.; CHAPMAN, C. A. Prediction of Parasite Infection Dynamics in Primate Metapopulations Based on Attributes of Forest Fragmentation. **Conservation Biology**, v. 20, n. 2, p. 441–448, 2006.

GOMES BRAGA, F. **Migração Interna e Urbanização no Brasil Contemporâneo: Um estudo da Rede de Localidades Centrais do Brasil (1980/2000)**, 2006.

GONÇALVES, A. L. R.; BELIZÁRIO, T. L.; PIMENTEL, J. B.; PENATTI, M. P. A.; PEDROSO, R. S. S. Prevalence of intestinal parasites in preschool children in the region of Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 191–3, 2011.

GÜRLER, A. T.; BEYHAN, Y. E.; BÖLÜKBAŞ, C. S.; AÇICI, M.; UMUR, Ş. Gastrointestinal helminths of wild rats (brown rat-*Rattus norvegicus*, Berkenhout 1769) in Samsun, Turkey. **Ankara Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 58, p. 289–290, 2011.

HANCKE, D.; NAVONE, G. T.; SUAREZ, O. V. Endoparasite community of *Rattus norvegicus* captured in a shantytown of Buenos Aires City, Argentina. **Helminthologia**, v. 48, n. 3, p. 167–173, 2011.

HIMSWORTH, C. G.; PARSONS, K. L.; JARDINE, C.; PATRICK, D. M. Rats, Cities, People, and Pathogens: A Systematic Review and Narrative Synthesis of Literature Regarding the Ecology of Rat-Associated Zoonoses in Urban Centers. **Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)**, v. 13, n. 6, p. 349-359, 2013.

IBGE, 2013. Síntese da documentação histórico-administrativa e geográfica dos Estados do Brasil-Rio de Janeiro. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro.

IBRAHIM, M. M. Prevalence and intensity of *Angiostrongylus cantonensis* in freshwater snails in relation to some ecological and biological factors. **Parasite**, v. 14, n. 1, p. 61–70, 2007.

ILHA, M. R. DA S.; BARROS, C. S. L. DE. Capilarirose hepática em cães e gatos: 15 casos. **Ciência Rural**, v. 30, n. 4, p. 665–669, 2000.

INNES, J. Advances in New Zealand mammalogy 1990–2000: European rats. **Journal of the Royal Society of New Zealand**, v. 31, p. 111-125, 2001.

JEFFERIES, R.; SHAW, S. E.; VINEY, M. E.; MORGAN, E. R. *Angiostrongylus vasorum* from South America and Europe represent distinct lineages. **Parasitology**, v. 136, n. 1, p. 107–115, 2009.

KHALIL, L.F.; JONE, A.B.; BRAY, R.A. **Keys to the cestoda parasites of vertebrates**. CAB International. 1994. 751 p.

KATARANOVSKI, D.; KATARANOVSKI, M.; DELJANIN, I. Helminth fauna of *Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769 from the Belgrade area, Serbia. **Archives of Biological Sciences**, v. 62, n. 4, p. 1091–1100, 2010.

KATARANOVSKI, M.; ZOLOTAREVSKI, L.; BELIJ, S.; MIRKOV, I.; STOSIC, J.; POPOV, A.; KATARANOVSKI, D. First record of *Calodium hepaticum* and *Taenia*

taeniaeformis liver infection in wild Norway rats (*Rattus norvegicus*) in Serbia. **Archives of Biological Sciences**, v. 62, n. 2, p. 431–440, 2010.

KATARANOVSKI, M.; MIRKOV, I.; BELIJ, S.; POPOV, A.; PETROVIC, Z.; GACI, Z.; KATARANOVSKI, D. Intestinal helminths infection of rats (*Rattus norvegicus*) in the Belgrade area (Serbia): the effect of sex, age and habitat. **Parasite (Paris, France)**, v. 18, n. 2, p. 189–96, 2011.

KRASNOV, B. R.; MORAND, S.; HAWLENA, H.; KHOKHLOVA, I. S.; SHENBROT, G. I. Sex-biased parasitism, seasonality and sexual size dimorphism in desert rodents. **Oecologia**, v. 146, n. 2, p. 209–17, 2005.

KRØJGAARD, L.H.; VILLUMSEN, S.; MARKUSSEN, M. D. K.; JENSEN, J. S.; LEIRS, H.; HEIBERG, A-C. High prevalence of *Leptospira* spp. in sewer rats (*Rattus norvegicus*). **Epidemiology and Infection**, v. 137, n. 11, p. 1586–92, 2009.

LAFFERTY, K. D.; ALLESINA, S.; ARIM, M.; BRIGGS, C. J.; DE LEO, G.; DOBSON, A. P.; DUNNE, J.A.; JOHNSON, P. T. J.; KURIS, A.M.; MARCOGLIESE, D. J.; MARTINEZ, N. D.; MEMMOTT, J.; MARQUET, P. A.; MCLAUGHLIN, J. P.; MORDECAI, E. A.; PASCUAL, M.; POULIN, R.; THIELTGES, D. W. Parasites in food webs: the ultimate missing links. **Ecology Letters**, v. 11, n. 6, p. 533–46, 2008.

LAYNE, J. N. Host and ecological relationship of the parasitic helminth *Capillaria hepatica* in Florida mammals. **Zoologica**, v. 53, p. 107–123, 1968.

LIMA, A. R. M. C.; MESQUITA, S. D.; SANTOS, S. S.; AQUINO, E. R. P.; ROSA, L. R. S.; DUARTE, F. S.; TEIXEIRA, A. O.; COSTA, Z. R. S.; FERREIRA, M. L. B. Alicate disease: neuroinfestation by *Angiostrongylus cantonensis* in Recife, Pernambuco, Brazil. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, v. 67, n. 4, p. 1093–6, 2009.

LINDO, J. F.; WAUGH, C.; HALL, J.; CUNNINGHAM-MYRIE, C.; ASHLEY, D.; EBERHARD, M. L.; SULLIVA, J. J.; BISHOP, H. S.; ROBINSON, D. G.; HOLTZ, T.; ROBINSON, R. D. Enzootic *Angiostrongylus cantonensis* in rats and snails after an outbreak of human eosinophilic meningitis, Jamaica. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, n. 3, p. 324–6, 2002.

LUDWIG, J. A.; J.F. REYNOLDS. **Statistical ecology: a primer in methods and computing**. Fourth ed. New York: Wiley Interscience Publications, 1988. 368pp.

LYNN, D. A.; BROWN, G. R. The ontogeny of exploratory behaviour in male and female adolescent rats (*Rattus norvegicus*). **Development Psychology**, v. 51, n. 6, p. 513–520, 2009.

MAHAJAN, R. K.; ALMEIDA, A. J.; SENGUPTA, S. R.; RENAPURKAR, D. M. Seasonal intensity of *Angiostrongylus cantonensis* in the intermediate host, *Laevicaulis alte*. **International Journal for Parasitology**, v. 22, n. 5, p. 669–71, 1992.

MALDONADO JUNIOR, A.; GENTILE, R.; FERNANDES-MORAES, C. C.; D'ANDREA, P. S.; LANFREDI, R. M.; REY, L. Helminth communities of *Nectomys squamipes* naturally infected by the exotic trematode *Schistosoma mansoni* in southeastern Brazil. **Journal of Helminthology**, v. 80, n. 4, p. 369–75, 2006.

- MALDONADO JR, A.; SIMÕES, R. O.; OLIVEIRA, A. P.; MOTTA, E. M.; FERNANDEZ, M. A.; PEREIRA, Z. M.; MONTEIRO, S. S.; TORRES, E. J.; THIENGO, S. C. First report of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongylidae) in *Achatina fulica* (Mollusca: Gastropoda) from Southeast and South Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 7, p. 938–41, 2010.
- MALDONADO, A. JR.; SIMÕES, R. O.; THIENGO, S. C. Angiostrongyliasis in the Americas. In: JACOB LORENZO-MORALES (Ed.). **Zoonosis**. Intech, 2012. p. 303–320.
- MANDORINO, L.; REBOUÇAS, M. M. Hepatic capillariasis in caititu (*Tayassu tajacu*). **Arquivo do Instituto de Biologia, São Paulo**, v. 58, n. 1-2, p. 61–62, 1991.
- MARCOGLIESE, D. J. Parasites: Small Players with Crucial Roles in the Ecological Theater. **EcoHealth**, v. 1, n. 2, p. 151–164, 2004.
- MARCOGLIESE, D. J. Parasites of the superorganism: are they indicators of ecosystem health? **International Journal for Parasitology**, v. 35, n. 7, p. 705–16, 2005.
- MASON, P. R.; PATTERSON, B. A. Epidemiology of *Hymenolepis nana* infections in primary school children in urban and rural communities in Zimbabwe. **The Journal of Parasitology**, v. 80, n. 2, p. 245–50, 1994.
- MIÑO, M. H.; HERRERA, E. J.; NOTARNICOLA, J.; ROBLES, M. D. E. L. R.; NAVONE, G. T. Diversity of the helminth community of the Pampean grassland mouse (*Akodon azarae*) on poultry farms in central Argentina. **Journal of Helminthology**, v. 86, n. 1, p. 46–53, 2012.
- MIREMAD-GASSMANN, M. Contribution to the knowledge of the biology of *Moniliformis moniliformis* Bremser, 1811 (Acanthocephala). Influence of host resistance of *Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769, on the parasite. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, v. 56, n. 4, p. 407–21, 1981.
- MONTE, T. C.; SIMÕES, R. O.; OLIVEIRA, A. P.; NOVAES, C. F.; THIENGO, S. C.; SILVA, A. J.; ESTRELA, P. C.; MALDONADO, A. JR. Phylogenetic relationship of the Brazilian isolates of the rat lungworm *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongylidae) employing mitochondrial COI gene sequence data. **Parasites & vectors**, v. 5, p. 248, 2012.
- MORALES-MONTOR, J.; CHAVARRIA, A.; LEÓN, M. A.; DEL CASTILLO, L. I.; ESCOBEDO, E. G.; SÁNCHEZ, E. N.; VARGAS, J. A.; HERNÁNDEZ-FLORES, M.; ROMO-GONZÁLEZ, T.; LARRALDE, C. Host gender in parasitic infections of mammals: an evaluation of the female host supremacy paradigm. **The Journal of Parasitology**, v. 90, n. 3, p. 531–46, 2004.
- MOREIRA, V. L.; GIESE, E. G.; SILVA, D. C.; MELO, F. T.; FURTADO, A. P.; MALDONADO, A. JR.; SANTOS, J. N. *Calodium hepaticum* (Nematoda: Capillariidae) in synanthropic rodents (*Rattus norvegicus* and *Rattus rattus*) in Eastern Amazonia. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária = Brazilian journal of veterinary parasitology**, v. 22, n. 2, p. 265–9, 2013.

MOREIRA, V. L.; GIESE, E. G.; SILVA, D. C.; MELO, F. T.; FURTADO, A. P.; MALDONADO, A. JR.; SANTOS, J. N. Endemic angiostrongyliasis in the Brazilian Amazon: natural parasitism of *Angiostrongylus cantonensis* in *Rattus rattus* and *R. norvegicus*, and sympatric giant African land snails, *Achatina fulica*. **Acta Tropica**, v. 125, n. 1, p. 90–7, 2013.

NABI, F.; PALAHA, H. K.; SEKHSARIA, D.; CHIATALE, A. *Capillaria hepatica* infestation. **Indian Pediatrics**, v. 44, n. 10, p. 781–2, 2007.

NEW, D.; LITTLE, M. D.; CROSS, J. *Angiostrongylus cantonensis* infection from eating raw snails. **The New England Journal of Medicine**, v. 332, n. 16, p. 1105–6, 1995.

OUYANG, L.; WEI, J.; WU, Z.; ZENG, X.; LI, Y.; JIA, Y.; MA, Y.; ZHAN, M.; LEI, W. Differences of larval development and pathological changes in permissive and nonpermissive rodent hosts for *Angiostrongylus cantonensis* infection. **Parasitology Research**, v. 111, n. 4, p. 1547–57, out. 2012.

PAKDEENARONG, N.; SIRIBAT, P.; CHAISIRI, K.; DOUANBOUPHA, B.; RIBAS, A.; CHAVAL, Y.; HERBRETEAU, V.; MORAND, S. Helminth communities in murid rodents from southern and northern localities in Lao PDR: the role of habitat and season. **Journal of Helminthology**, p. 1–8, 2013.

PANTI-MAY, J. A.; HERNÁNDEZ-BETANCOURT, S. F.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R. I.; ROBLES, M. R. Infection levels of intestinal helminths in two commensal rodent species from rural households in Yucatan, Mexico. **Journal of Helminthology**, p. 1–7, 2013.

PARAMASVARAN, S.; SANI, R. A.; HASSAN, L.; HANJEET, K.; KRISHNASAMY, M.; JOHN, J.; SANTHANA, R.; SUMARNI, M. G.; LIM, K. H. Endo-parasite fauna of rodents caught in five wet markets in Kuala Lumpur and its potential zoonotic implications. **Tropical Biomedicine**, v. 26, n. 1, p. 67–72, 2009.

PASCUAL, J. E.; BOULI, R. P.; AGUIAR, H. Eosinophilic meningoencephalitis in Cuba, caused by *Angiostrongylus cantonensis*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 30, n. 5, p. 960–2, 1981.

POULIN, R. Sexual inequalities in helminth infections: a cost of being a male? **American Naturalist**, v. 147, p. 287–295, 1996.

POULIN. **Evolutionary Ecology of Parasites**. Princeton, New Jersey: Princeton University Press, 2007. p. 322

PROCTOR, D. L. (ED.). **Grain storage techniques: Evolution and trends in developing countries**. Rome: Food & Agriculture Org., 1994. 109pp.

QUADROS, R. M.; PILATI, C.; MARQUES, S. M.; MAZZOLLI, M.; BENEDET, R. C. *Capillaria hepatica* in *Puma concolor*: first report in Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 40, n. 3, p. 586–7, 2009.

QVARNSTROM, Y.; BISHOP, H. S.; DA SILVA, A. J. Detection of rat lungworm in intermediate, definitive, and paratenic hosts obtained from environmental sources. **Hawai'i Journal of Medicine & Public Health**, v. 72, n. 6 Suppl 2, p. 63–9, 2013.

RAFIQUE, A.; RANA, S. A.; KHAN, H. A.; SOHAIL, A. Prevalence of some helminths in rodents captured from different city structures including poultry farms and human population of faisalabad, Pakistan. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 29, n. 3, p. 141–144, 2009.

REEDER, D. M.; KRAMER, K. M. Stress in free-ranging mammals: integrating physiology, ecology, and natural history. **Journal of Mammalogy**, v.86, n. 2, p.225-235, 2005.

REICZIGEL J.; RÓZSA L. **Quantitative Parasitology 3.0** Budapest, 2005.

RESENDES, A. R.; AMARAL, A. F.; RODRIGUES, A.; ALMERIA, S. Prevalence of *Calodium hepaticum* (Syn. *Capillaria hepatica*) in house mice (*Mus musculus*) in the Azores archipelago. **Veterinary Parasitology**, v. 160, n. 3-4, p. 340–3, 2009.

ROSE, K.; HIGGINS, D. Lungworm disease (*Angiostrongylus cantonensis*) in the brown rat *Rattus norvegicus* (case 548-37). **The Australian Registry of wildlife Health**, 1999.

RUAS, J.; SOARES, M.; FARIAS, N.; BRUM, J. G. W. Infecção por *Capillaria hepatica* em carnívoros silvestres (*Lycalopex gymnocercus* e *Cerdocyon thous*) na região sul do Rio Grande do Sul. **Arquivo do Instituto de Biologia**, v. 70, n. 2, p. 127–130, 2003.

SANTOS, A. B.; TOLENTINO, M.; ANDRADE, Z. A. Pathogenesis of hepatic septal fibrosis associated with *Capillaria hepatica* infection of rats. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 6, p. 503–6, 2001.

SAWAMURA, R.; FERNANDES, M. I.; PERES, L. C.; GALVÃO, L. C.; GOLDANI, H. A.; JORGE, S. M.; ROCHA G. M.; SOUZA, N. M. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 61, n. 4, p. 642–7, 1999.

SCHALK, G.; FORBES, R. Male biases in parasitism of mammals: effects of study type, host age, and parasite taxon. **Oikos**, v. 78, n. 1, p. 67–74, 1997.

SEONG, J. K.; HUH, S.; LEE, J. S.; OH, Y. S. Helminths in *Rattus norvegicus* captured in Chunchon, Korea. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 33, n. 3, p. 235–7, 1995.

SIMÕES, R. O.; SOUZA, J. G.; MALDONADO, A.; LUQUE, J. L. Variation in the helminth community structure of three sympatric sigmodontine rodents from the coastal Atlantic Forest of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Helminthology**, p. 1–8, 2010a.

SIMÕES, R.; GENTILE, R.; RADEMAKER, V.; D'ANDREA, P.; HERRERA, H.; FREITAS, T.; LANFREDI, R., MALDONADO, A. JR. Variation in the helminth community structure of *Thrichomys pachyurus* (Rodentia: Echimyidae) in two sub-regions of the Brazilian Pantanal: the effects of land use and seasonality. **Journal of Helminthology**, v. 84, n. 3, p. 266–75, 2010b.

SIMÕES, R. O.; MONTEIRO, F. A.; SANCHEZ, E.; THIENGO, S. C.; GARCIA, J. S.; COSTA-NETO, S. F.; LUQUE, J. L.; MALDONADO, A. Endemic angiostrongyliasis, Rio de Janeiro, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 7, p. 1331–3, 2011.

SMALES, L.; SPRATT, D. Helminth community structure in *Rattus leucopus* (gray)(muridae) from Australia, Papua New Guinea and Papua. **Australian Journal of Zoology**, v. 52, n. 3, p. 283–291, 2004.

SYDNEY ANDERSON, J.; KNOX JONES **Orders and families of recent mammals of the world**. 2. ed. Universidade de Michigan, 1984. 686pp.

TAYLOR, K. D. Range of movement and activity of common rats (*Rattus norvegicus*) on agricultural land. **Journal of Applied Ecology**, v. 15, n. 3, p. 663-677, 1978.

THIENGO, S. C.; FARACO, F. A.; SALGADO, N. C.; COWIE, R. H.; FERNADEZ, M. A. Rapid spread of an invasive snail in South America: the giant African snail, *Achatina fulica*, in Brasil. **Biological Invasions**, v. 9, n. 6, p. 693–702, 2007.

THIENGO, S. C.; MALDONADO, A.; MOTA, E. M.; TORRES, E. J.; CALDEIRA, R.; CARVALHO, O. S.; OLIVEIRA, A. P.; SIMÕES, R. O.; FERNANDEZ, M. A.; LANFREDI, R. M. The giant African snail *Achatina fulica* as natural intermediate host of *Angiostrongylus cantonensis* in Pernambuco, northeast Brazil. **Acta Tropica**, v. 115, n. 3, p. 194–9, 2010.

THIENGO, S. C.; SIMÕES, R. O.; FERNANDEZ, M. A.; MALDONADO, A. JR. *Angiostrongylus cantonensis* and rat lungworm disease in Brazil. **Hawai'i Journal of Medicine & Public Health**, v. 72, n. 6 Suppl 2, p. 18–22, 2013.

THUL, E.; DONALD, J.; FORRESTER, L.; ABERCROMBIES, C. Ecology of Parasitic Helminths of Wood Ducks, *Aix sponsa*, in the Atlantic Fly way. **The Helminthological Society of Washington**, v. 52, n. 2, p. 297–310, 1985.

TEXEIRA, J. F.; LENT H. Estudo sobre capillarinae parasitos de mamíferos (Nematoda: Trichuroidea). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 31, n. 1, p. 84–175, 1936.

TOKIWA, T.; HARUNARI, T.; TANIKAWA, T.; KOMATSU, N.; KOIZUMI, N.; TUNG, K. C.; SUZUKI, J.; KADOSAKA, T.; TAKADA, N.; KUMAGAI, T.; AKAO, N.; OHTA, N. Phylogenetic relationships of rat lungworm, *Angiostrongylus cantonensis*, isolated from different geographical regions revealed widespread multiple lineages. **Parasitology International**, v. 61, n. 3, p. 431–6, 2012.

TOLOSA, E.; RODRIGUES, C.; BEHMER, O.; NETO, A. **Manual de técnicas para histologia. Normal e Patológica**. Second edi ed. Barueri, São Paulo, 331pp., 2003.

TRAVASSOS, L. Trichostrongylideos brasileiros. **Brazil Médico**, v. 28, n. 3, p. 325-327, 1914.

TRAVASSOS, L.; DARRIBA, A. R. Notas sobre Heligmosominae. **Sciencia Medica**, v. 7, n. 1, p. 432-438, 1929.

TRAVASSOS, L. Revisão da família Trichostrongylidae Leiper, 1912. **Monografias do Instituto Oswaldo Cruz**, 1937. 511p.

TRAWEGER, D.; SLOTTA-BACHMAYR, L. Introducing GIS-modelling into the management of a brown rat (*Rattus norvegicus* Berk.) (Mamm. Rodentia Muridae) population in an urban habitat. **Journal of Pest Science**, v. 78, n. 1, p. 17–24, 2004.

TUNG, K. C.; HSIAO, F. C.; WANG, K. S.; YANG, C. H.; LAI, C. H. Study of the endoparasitic fauna of commensal rats and shrews caught in traditional wet markets in Taichung City, Taiwan. **Journal of Microbiology, Immunology, and Infection**, v. 46, n. 2, p. 85–8, 2013.

VICENTE, J.J.; RODRIGUES, H.O.; GOMES, D.C.; PINTO, R.M. Nematóides do Brasil. Parte V: Nematóides de mamíferos. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 14, Supl. 1, 452pp, 1997.

VILLAFANE, I.; ROBLES, M.; BUSCH, M. Helminth communities and host-parasite relationships in argentine brown rat (*Rattus norvegicus*). **Helminthologia**, p. 126–129, 2008.

WAKELIN, D. **Immunity to Parasites: How Parasitic Infections are Controlled**. Cambridge: Cambridge University Press, 1996. p. 204

WANG, Q. P.; LAI, D. H.; ZHU, X. Q.; CHEN, X. G.; LUN, Z. R. Human angiostrongyliasis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 8, n. 10, p. 621–30, 2008.

WANG, Q. P.; WU, Z. D.; WEI, J.; OWEN, R. L.; LUN, Z. R. Human *Angiostrongylus cantonensis*: an update. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 31, n. 4, p. 389–95, 2012.

WAUGH, C. A.; LINDO, J. F.; FORONDA, P.; ANGELES-SANTANA, M.; LORENZO-MORALES, J.; ROBINSON, R. D. Population distribution and zoonotic potential of gastrointestinal helminths of wild rats *Rattus rattus* and *R. norvegicus* from Jamaica. **Journal of Parasitology**, v. 92, p. 1014–1018, 2006.

WEBSTER, J. P.; MACDONALD, D. W. Parasites of wild brown rats (*Rattus norvegicus*) on UK farms. **Parasitology**, v. 111, n. 3, p. 247–55, 1995.

ZAIN, S. N. M. ; BEHNKE, J. M.; LEWIS, J. W. Helminth communities from two urban rat populations in Kuala Lumpur, Malaysia. **Parasites & vectors**, v. 5, p. 47, 2012.

ZUK, M.; MCKEAN, K. A. Sex differences in parasite infections: patterns and processes. **International Journal for Parasitology**, v. 26, n. 10, p. 1009–23, 1996.

8 ANEXOS

8.1 Artigos publicados

8.1.1 **ENDEMIC ANGIOSTRONGYLIASIS, RIO DE JANEIRO, BRAZIL.** *Emerging Infectious Diseases*, v.17, n. 7, 1331-1333, 2011.

Whether *C. hongkongensis* belongs to the intestinal flora, as do *Bifidobacterium*, *Eggerthella*, *Eubacterium*, and *Lactobacillus* spp., remains undetermined. Codony et al. recently investigated by real-time PCR the presence of *Catabacteriaceae* in 29 water samples in the vicinity of Barcelona, Spain. Four samples were positive, demonstrating presence of this organism in the European environment and its probable enteric origin (4).

Because our patient sought treatment with severe infection associated with isolation of other pathogenic bacteria, whether blood infection by *C. hongkongensis* may be responsible for such a fatal outcome is unknown. Nevertheless, we can exclude sample contamination by this anaerobic bacteria for the 2 following reasons. First, anaerobic contaminants are rare in blood cultures and generally involve *Propionibacterium acnes*. Furthermore, the rapid growth of the present isolate in blood cultures within 3 days suggested a relatively high bacterial load in the blood sample.

Our report confirms that *C. hongkongensis* can be found in blood culture associated with gastrointestinal disease and may reflect intestinal perforation. Identification may be difficult. Isolation of motile gram-positive anaerobic bacillus together with catalase positivity should lead to suspicion of *C. hongkongensis* in clinical laboratories. Full identification of this pathogen requires 16S sequencing. Environmental reports have demonstrated the presence of this organism in human wastewater in Europe, which suggests that it may be universally present as part of the normal human gastrointestinal flora.

Antoine Elsendoorn,
René Robert, Agnès Culos,
France Roblot,
and Christophe Burucoa

Author affiliations: Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers, Poitiers, France (A. Elsendoorn, R. Robert, A. Culos, F. Roblot, C. Burucoa) and University of Poitiers, Poitiers (A. Elsendoorn, R. Robert, F. Roblot, C. Burucoa)

DOI: 10.3201/eid1707.101773

References

1. Lau SKP, McNabb A, Woo GKS, Hoang L, Fung AMY, Chung LMW, et al. *Catabacter hongkongensis* gen. nov., sp. nov., isolated from blood cultures of patients from Hong Kong and Canada. *J Clin Microbiol*. 2007;45:395-401. doi:10.1128/JCM.01831-06
2. Lane DJ. 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt E, Goodfellow M, editors. *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. New York: John Wiley and Sons; 1991. p. 115-75.
3. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTALW: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*. 1994;22:4673-80. doi:10.1093/nar/22.22.4673
4. Codony F, Adrados B, Pérez LM, Fittipaldi M, Morató J. Detection of *Catabacter hongkongensis* in polluted European water samples. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2009;10:867-9. doi:10.1631/jzus.B0920218

Address for correspondence: Antoine Elsendoorn, CHU de Poitiers, 2, Rue de la Milétrie 86021 Poitiers CEDEX, France; email: antoine.elsendoorn@wanadoo.fr

EID
online
www.cdc.gov/eid

Endemic Angiostrongyliasis, Rio de Janeiro, Brazil

To the Editor: The nematode *Angiostrongylus cantonensis* (rat lung worm), a zoonotic parasite that can accidentally infect humans and cause eosinophilic meningoencephalitis, has the Norway rat (*Rattus norvegicus*) as one of its most frequent definitive vertebrate hosts (1). Adult worms live in the pulmonary arteries of the definitive hosts, which excrete first-stage larvae in their feces. Intermediate hosts, such as snails and slugs, are infected by first-stage larvae, which reach the infective third stage after 2 molts. Third-stage larvae are then ingested by rats as they feed on the intermediate hosts, thus closing the life cycle. Humans become infected by eating raw or undercooked snails and slugs and through paratemic hosts and vegetables contaminated with infected snail mucus (2).

In Brazil, the first 3 documented cases of eosinophilic meningoencephalitis occurred in 2007 in 2 cities in the southeastern state of Espírito Santo (3). In 2009, a new case was reported in Pernambuco in the northeast region (4). Only intermediate hosts have been found naturally infected with rat lung worm in Brazil. Infected terrestrial and freshwater snails of the species *Achatina fulica*, *Sarasimula marginata*, *Subulina octona*, and *Bradybaena similaris* in Espírito Santo; *A. fulica* and *Pomacea lineata* in Pernambuco; and *A. fulica* in Rio de Janeiro and Santa Catarina have been reported (3,5,6). Thus, because of the recent cases of eosinophilic meningoencephalitis in Brazil and the occurrence of naturally infected *A. fulica* snails in Rio de Janeiro, we investigated the existence of potential natural reservoirs for the parasite in São Gonçalo.

São Gonçalo (22°48'26.7"S, 43°00'49.1"W) is a densely populated city (≈ 1 million inhabitants) with a tropical Atlantic climate (14°C–35°C) that is part of the metropolitan region of Rio de Janeiro. Two collections were made in March and June 2010. Forty live traps (20 Tomahawk [Tomahawk Live Trap Company, Tomahawk, WI, USA] and 20 Sherman [H.B. Sherman Traps Inc., Tallahassee, FL, USA] traps) were placed along two 30-m transects for 4 consecutive nights (Brazilian Institute of Environment and Renewable Natural Resources license no. 2227-1/2010) in an urban area where *A. fulica* snails had been collected in high numbers. Twenty-seven Norway rats (16 males) were captured. We collected 265 adult lung worms from the pulmonary arteries of the captured animals, fixed the worms in 70% ethanol, and taxonomically identified them as *A. cantonensis* on the basis of the large size of the spicules and the patterns of the bursal rays (7). Voucher specimens have been deposited in the Helminthological Collection of the Oswaldo Cruz Institute (no. 35712). Nineteen (74%) rats were infected; mean intensity and mean abundance

were 13.52 ± 2.36 and 9.81 ± 1.96 , respectively.

To confirm the morphologic identification of the *Angiostrongylus* specimens obtained, a DNA bar coding approach was used. DNA was extracted from 3 ethanol-preserved adult worms previously recovered from the pulmonary arteries of a naturally infected Norway rat, PCR-amplified, sequenced for a partial region of the COI gene (8), and subsequently compared with available GenBank *Angiostrongylus* spp. sequences. The three 360-bp COI sequences obtained (GenBank accession no. HQ440217) were Clustal-aligned (www.clustal.org) with homologous COI fragments of *A. cantonensis* (GenBank accession no. GQ398121), *A. vasorum* (GenBank accession nos. EU493162, EU493163, EU493166, EU493167), and *A. costaricensis* (GenBank accession no. GQ398122) and subjected to phylogenetic analysis. *Ancylostoma tubaeforme* (GenBank accession no. AJ407940) was used as the outgroup. Haplotypes for *A. vasorum* isolates from Brazil (*A. vasorum* 5421, 5641, and 5642) were reconstructed from published information (9) and included in the alignment. We

used MEGA4 (www.megasoftware.net) to construct a neighbor-joining phylogenetic tree based on Kimura 2-parameter (K2-p) distances (Figure). The 3 *A. cantonensis* specimens from São Gonçalo, Rio de Janeiro, yielded a single haplotype, which formed a clade with the *A. cantonensis* haplotype from the People's Republic of China with low genetic distance (K2-p 0.038) and high bootstrap support (98), thus confirming the morphologic identification. Comparisons with the other 2 *Angiostrongylus* species yielded higher genetic distance values (K2-p 0.120, with *A. vasorum*, and 0.149, with *A. costaricensis*).

These results indicate that *A. cantonensis* lung worm infection is enzootic among the exotic Norway rat population in the region studied. The natural infection rate of 74% is the second highest reported among 14 severely *A. cantonensis* infection-endemic regions (2). These findings, together with the observation of dense populations of *A. fulica* snails in urban areas of the country (10), call attention to the risk for disease transmission to humans, given that Norway rats also are likely to be present in these areas.

Local residents should be informed about disease transmission and prevention, and physicians should consider *A. cantonensis* lung worm infection in the differential diagnosis when appropriate. Although public health authorities should consider implementation of surveillance and control strategies to reduce the populations of snail and rat hosts, a better understanding is needed of the epidemiologic significance of these findings, which can be attained through studies to identify human cases of eosinophilic meningitis in the region.

Acknowledgments

We thank the anonymous reviewers whose comments and suggestions helped improve an earlier version of the manuscript.

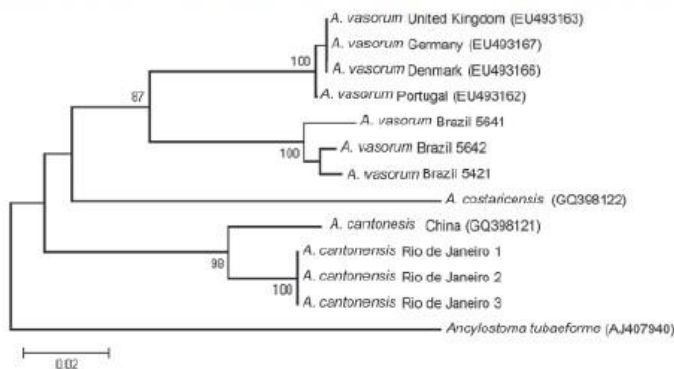


Figure. Neighbor-joining phylogenetic tree based on Kimura 2-parameter (K2-p) distances that includes all *Angiostrongylus* COI sequences in GenBank and the sequences obtained from 3 *Angiostrongylus* specimens recovered from the pulmonary arteries of a naturally infected Norway rat (*Rattus norvegicus*) from São Gonçalo, Rio de Janeiro, Brazil, 2010. The specimens yielded 1 haplotype, which clustered together with the *A. cantonensis* haplotype from the People's Republic of China with a low genetic distance (K2-p 0.038). Scale bar indicates 0.02 K2-p genetic distance.

This study was supported by the Brazilian Research Council.

Raquel O. Simões,
Fernando A. Monteiro,
Elizabeth Sánchez,
Silvana C. Thiengo,
Juberlan S. Garcia,
Sócrates F. Costa-Neto,
José L. Luque,
and Arnaldo Maldonado, Jr.

Author affiliations: Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil (R.O. Simões, F.A. Monteiro, E. Sánchez, S.C. Thiengo, J.S. Garcia, S.F. Costa-Neto, A. Maldonado Jr.); and Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Brazil (R.O. Simões, J.L. Luque)

DOI: 10.3201/eid1707.101822

References

1. Lindo JF, Waugh C, Hall J, Canningham-Myrie C, Ashley D, Eberhard ML, et al. Enzootic *Angiostrongylus cantonensis* in rats and snails after an outbreak of human eosinophilic meningitis, Jamaica. *Emerg Infect Dis*. 2002;8:324–6. doi:10.3201/eid0803.010316
2. Wang QP, Lai DH, Zhu XQ, Chen XG, Lun ZR. Human angiostrongyliasis. *Lancet Infect Dis*. 2008;8:621–30. doi:10.1016/S1473-3099(08)70229-9
3. Caldeira RL, Mendonça CLF, Gouveia CO, Lenzi HL, Graeff-Teixeira C, Lima WS, et al. First record of molluscs naturally infected with *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935) (Nematoda: Metastrongylidae) in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007;102:887–9. doi:10.1590/S0074-02762007000700018
4. Lima AR, Mesquita SD, Santos SS, Aquino ER, Rosa LRS, Duarte FS, et al. Alicate disease: neuroinfestation by *Angiostrongylus cantonensis* in Recife, Pernambuco, Brazil. *Arq Neuropsiquiatr*. 2009;67:1093–6. doi:10.1590/S0004-282X2009000600025
5. Thiengo SC, Maldonado A, Mota EM, Torres E JL, Caldeira R, Oliveira APM, et al. The giant African snail *Achatina fulica* as natural intermediate host of *Angiostrongylus cantonensis* in Pernambuco, north-east Brazil. *Acta Trop*. 2010;115:194–9. doi:10.1016/j.actatropica.2010.01.005
6. Maldonado A Jr, Simões RO, Oliveira APM, Motta EM, Fernandez MA, Pereira ZM, et al. First report of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongylidae) in *Achatina fulica* (Mollusca: Gastropoda) from southeast and south regions of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2010;105:938–41.
7. Chen HT. Un nouveau nématode pulmonaire, *Pulmonema cantonensis* n. g., n. sp., des rats de Canton. *Ann Parasitol Hum Comp*. 1935;13:312–7.
8. Bowles J, Blair D, McManus DP. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Mol Biochem Parasitol*. 1992;54:165–73. doi:10.1016/0166-6851(92)90109-W
9. Jefferies R, Shaw SE, Viney ME, Morgan ER. *Angiostrongylus vasorum* from South America and Europe represent distinct lineages. *Parasitology*. 2009;136:107–15. doi:10.1017/S0031182008005258
10. Thiengo SC, Faraco FA, Salgado NC, Cowie R, Fernandez MA. Rapid spread of an invasive snail in South America: the giant African snail, *Achatina fulica* in Brazil. *Biol Invasions*. 2007;9:693–702. doi:10.1007/s10530-006-9069-6

Address for correspondence: Arnaldo Maldonado Jr, Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, Av. Brasil 4365 Manguinhos 21.040-900, Rio de Janeiro, RJ, Brazil; email: maldonad@ioc.fiocruz.br

Aircraft and Risk of Importing a New Vector of Visceral Leishmaniasis

To the Editor: Kala-azar, or visceral leishmaniasis, is a parasitic disease that leads to fever, anemia, and hepatosplenomegaly. Death is the usual outcome when infection is not treated. The majority of infections are caused by the protozoan *Leishmania donovani*, restricted to India and eastern Africa, but the most widespread are caused by *L. infantum*, found from People's Republic of China to the New World, where it infects humans, dogs, and wild canids. All Mediterranean

countries are affected by *L. infantum*, where most patients are co-infected with HIV. Several species of sand flies transmit the disease (1).

During the 1980s, urban transmission of kala-azar became a major problem in Brazil. More than 3,000 cases are reported annually, and the disease has spread from northeastern Brazil westward to the Amazon region, as well as to the industrialized southeast. Several as yet unproven explanations for the urbanization of kala-azar in Brazil have been proposed (2), but whatever the reason, it is associated with proliferation of *Lutzomyia longipalpis* sand flies, which, in turn, are strongly associated with human environments. The vector can easily spread by entering buses or trains looking for food at night or for hiding places at dawn. Invasion of new areas by sand flies through transportation of ornamental plants has been observed (R. Brazil, pers. comm.), possibly by insect eggs or larvae being carried in organic matter.

Kala-azar has now reached the temperate Brazilian south and Argentina. This spread of the disease warns us of the danger of introduction in other temperate areas. Europe is particularly vulnerable because of the existing natural transmission of *L. infantum*. This risk is increased by recently created daily direct flights to Lisbon from Fortaleza, Natal, Brasília, and Belo Horizonte (Figure), Brazilian cities where epidemics of the disease have occurred. Lisbon is suitable to canine infection, and >10% of dogs may be infected (3). The climate is a barrier for the introduction of many vectors outside their normal range, such as *Anopheles gambiae* mosquitoes in temperate zones (4,5), but the threshold of change for *L. longipalpis* sand flies is minimal. The Mediterranean area is as dry as northeastern Brazil, where the disease is now highly endemic. Furthermore, the annual average temperature and

8.1.2 A LONGITUDINAL STUDY OF *Angiostrongylus cantonensis* IN AN URBAN POPULATION OF *Rattus norvegicus* IN BRAZIL: THE INFLUENCES OF SEASONALITY AND HOST FEATURES ON THE PATTERN OF INFECTION.

Parasites and vectors

RESEARCH

Open Access

A longitudinal study of *Angiostrongylus cantonensis* in an urban population of *Rattus norvegicus* in Brazil: the influences of seasonality and host features on the pattern of infection

Raquel O Simões^{1,2}, Arnaldo Maldonado Júnior^{2*}, Natalie Olifiers², Juberlan S Garcia², Ana Valéria FA Bertolino³ and José L Luque⁴

Abstract

Background: The nematode *Angiostrongylus cantonensis* is a zoonotic parasite and the most important cause of eosinophilic meningitis worldwide in humans. In Brazil, this disease has been reported in the states of Espírito Santo and Pernambuco. The parasite has been detected in the naturally infected intermediate host, in the states of Rio de Janeiro, Pernambuco and Santa Catarina. The murid *Rattus norvegicus* *R. rattus* were recently reported to be naturally infected in Brazil. In this study, we conducted a two-year investigation of the dissemination pattern of *A. cantonensis* in *R. norvegicus* in an urban area of Rio de Janeiro state, Brazil, and examined the influence of seasonality, year, host weight and host gender on parasitological parameters of *A. cantonensis* in rats.

Methods: The study was conducted in an area of Trindade, São Gonçalo municipality, Rio de Janeiro, Brazil. Prevalence of infected rats, intensity and abundance of *A. cantonensis* were calculated, and generalized linear models were created and compared to verify the contribution of host gender, host weight, year and seasonality to the variations in *A. cantonensis* abundance and prevalence in rats.

Results: The prevalence of *A. cantonensis* infection was stable during the rainy (71%, CI 58.9- 81.6) and dry seasons (71%, CI 57.9-80.8) and was higher in older rats and in females. Seasonality, host weight (used as a proxy of animal age) and gender were all contributing factors to variation in parasite abundance, with females and heavier (older) animals showing larger abundance of parasites, and extreme values of parasite abundance being more frequent in the dry season.

Conclusions: The high prevalence of this parasite throughout the study suggests that its transmission is stable and that conditions are adequate for the spread of the parasite to previously unaffected areas. Dispersion of the parasite to new areas may be mediated by males that tend to have larger dispersal ability, while females may be more important for maintaining the parasite on a local scale due to their higher prevalence and abundance of infection. A multidisciplinary approach considering the ecological distribution of the rats and intermediate hosts, as well as environmental features is required to further understand the dynamics of angiostrongyliasis.

Keywords: *Rattus norvegicus*, *Angiostrongylus cantonensis*, pattern of infection, Brazil

* Correspondence: maldonad@ioc.fiocruz.br

²Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, Instituto Oswaldo Cruz, Av. Brasil 4365 Manguinhos, 21040-360 Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Full list of author information is available at the end of the article



© 2014 Simões et al.; licensee BioMed Central Ltd. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly credited. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

Background

The rat lungworm *Angiostrongylus cantonensis* is a nematode that, in its adult stage, parasitizes the pulmonary arteries of the synanthropic rodent *Rattus norvegicus*, the definitive host [1]. Mollusc species act as intermediate hosts and are infected by the first larval stage (L_1) eliminated in rodent feces. Three weeks after mollusc infection, the larvae molt to the infective third stage (L_3), becoming adult worms after being ingested by rats [2]. Humans become infected mainly by ingesting infected intermediate host or parts of the intermediate host consumed inadvertently when contaminating food is ingested, but may also be infected by consuming paratenic hosts (shrimps, crabs, frogs, planarians, and lizards) [3].

The recent introduction of *A. cantonensis* to the Americas [4] has resulted in human cases of eosinophilic meningitis throughout the continents [5-10]. In Brazil, this disease has been reported in the states of Espírito Santo, Pernambuco and São Paulo [7,11,12], and the natural intermediate host *A. fulica* has been observed in the states of Rio de Janeiro, Pernambuco and Santa Catarina [13,14]. Recently, *R. norvegicus* and *R. rattus* have been reported to be naturally infected in Brazil [15,16].

Although *A. cantonensis* is currently spreading rapidly throughout the Americas [4], there have not been any studies that have focused on the role of *R. norvegicus* in parasite transmission; instead, most studies have focused only on the intermediate host [17,18]. Horizontal studies are important because they allow us to characterize the profile of parasite transmission. In this study, we conducted a two-year investigation of *A. cantonensis* dissemination pattern in *R. norvegicus* in an urban area of Rio de Janeiro state, Brazil, and examined the influence of seasonality, year, host weight (used as a proxy for host age), and host gender on the prevalence and abundance of *A. cantonensis* in rats.

Methods

Study area

The study was conducted in an urban area of Trindade, São Gonçalo municipality (22°48'26.7"S, 43°00'49.1"W), the second most populous city (~1 million inhabitants) in the state of Rio de Janeiro, Brazil (Figure 1). The climate is tropical with recognizable seasons: a rainy season from October to May and a dry season from April to November. The annual average temperature of the region is 25°C, with maximum and minimum temperatures ranging from 38°C to 17°C, respectively. The annual rainfall is 1200 mm (data obtained from Urban Climatological Station from Geosciences lab-LABGEO).

Rodent capture

We established three transects spaced approximately 50 meters apart with 20 trapping stations each along

polluted watercourse banks close to human habitats. A trapping station was established every 5 meters and included both a Tomahawk® trap (16 × 5 × 5 inches) and Sherman® trap (3 × 3.75 × 12 inches). The study was conducted every three months from March 2010 to December 2011 and each capture session lasted 4 consecutive days.

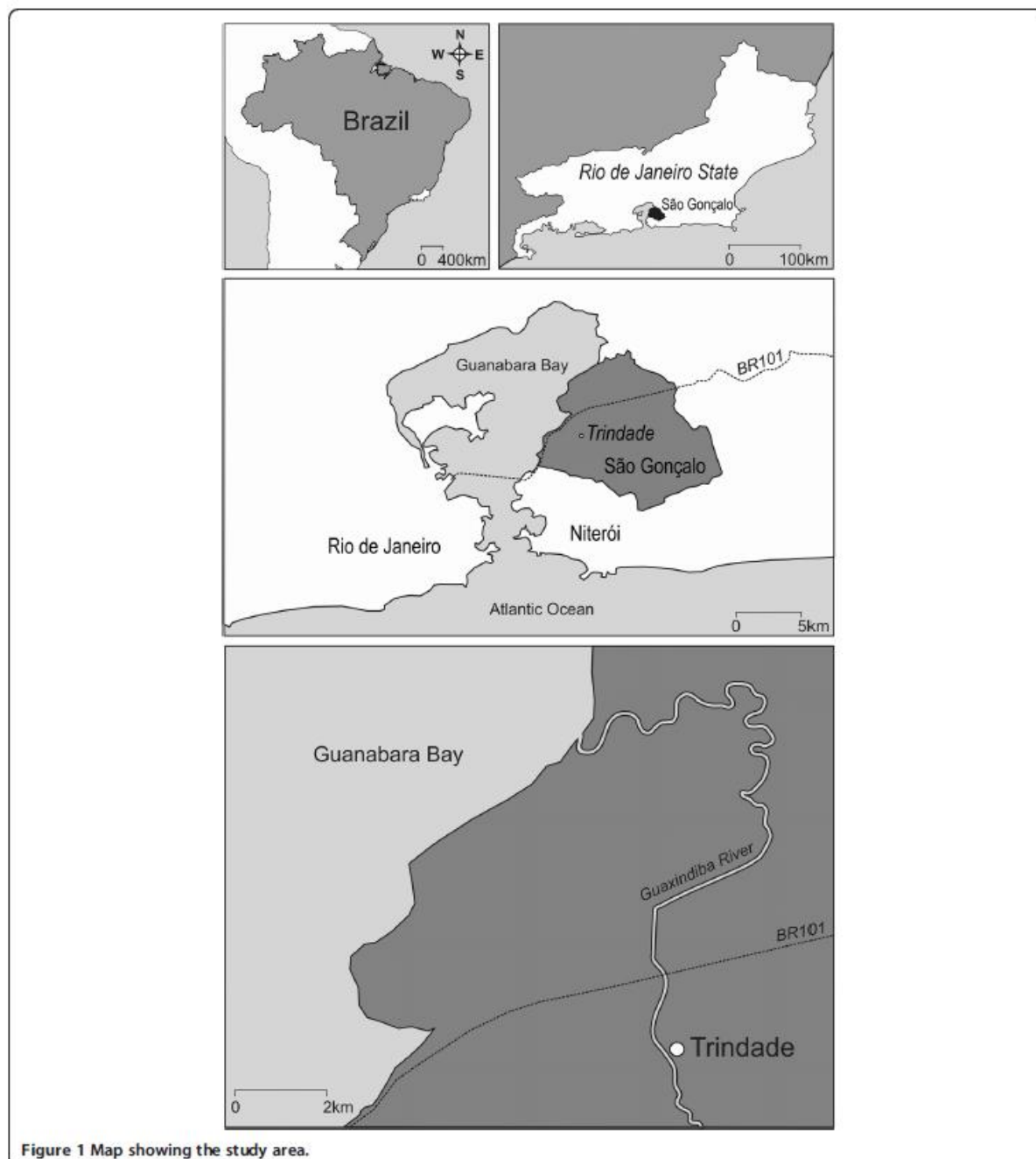
Captured rodents were transported to a field laboratory, where they were euthanized in a CO₂ chamber, sexed, weighed and necropsied. All animal procedures followed the guidelines for capture, handling and care of mammals of the American Society of Mammalogists [19]. The collection permits for rodents were obtained from the Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ) Ethical Committee on Animal Use (Permit Number: LW 24/10) and the Brazilian government's Institute for Wildlife and Natural Resources (Permit Number: 24353-1). Biosafety techniques were used during all procedures involving biological samples [20].

Parasitological procedures

Helminths were collected from the pulmonary arteries and subarachnoid spaces. The organs were separated in Petri dishes and dissected under a stereomicroscope to remove the parasites. The collected worms were washed twice in physiological (0.9%) saline to remove tissue debris and were stored in 70% ethanol. Nematodes were clarified in lactophenol (40% lactophenol, 20% lactic acid, 20% phenol, and water q.s.p. 100 mL) and identified using a Zeiss Standard 20 light microscope. The morphology of the caudal bursa and size of the spicules were used as taxonomic characteristics for species identification according to Maldonado et al. (2010) [13] and Chen (1935) [21].

Data analyses

Prevalences with their Sterne's exact 95% confidence intervals (CI) [22] and the k index of aggregation were calculated using the program Quantitative Parasitology 3.0 [22]. For that, animals were divided into three age classes according to their weight: juveniles (<100 g), sub-adults (100–200 g) and adults (>200 g) [23]. A binary logistic regression was used to investigate the influence of season, year, host gender and host weight (used as a proxy of animal age) on the presence/absence of *A. cantonensis* in rats and a generalized linear model with a negative binomial distribution and log link was performed to verify the contribution of those variables to the observed variation in *A. cantonensis* abundance in pulmonary arteries of rats. We created models consisting of all combinations and interactions of predictors, as well as additional models containing an interaction between gender and weight plus year and/or season as additional variables. These additional models were included because *a priori* analyses pointed out the inclusion



of the interaction “host gender” host weight” on the pool of best-fitting models (see below). All analyses were performed using PASW Statistics Version 18.0. Models were compared using the Akaike Information Criterion corrected for small sample size (AICc). Models were ranked based on the difference between the best approximating model (model with the lowest AICc) and all others in the

set of candidate models (Δ AICc); models with differences within two units of the top model were considered competitive (best-fitting) models with strong empirical support [24]. The relative importance of each predictor (or interaction of predictors) was quantified by calculating relative variable weights (var. weight), which consist on summing the Akaike weights across all the models where the

predictor occurs. To better investigate model fit, we calculated the likelihood ratio chi-square test for the best-fitting model of parasite abundance; we also calculated the Hosmer-Lemeshow statistic and computed the Nagelkerke R^2 for the top model of parasite presence/absence. The Wald Chi-Square test was used to check parameter significance in the best-fitting model.

We used the Mann-Whitney *U*-test and Moses test of extreme reaction in *post-hoc* analyses to test for differences in the parasite abundance and its range between host gender and seasons, whenever these predictors appeared amongst best-fitting models for parasite abundance. Spearman rank correlation was also used in *post-hoc* analyses to verify how parasite abundance varied with host weight in males and females. For all significance tests, $\alpha = 0.05$.

Results

One hundred and fourteen *R. norvegicus* were captured during the study. Fifty-six rats were collected during the rainy season (4 rats were not weighed) and 58 during the dry season (Table 1).

A total of 861 adult worms were recovered from pulmonary arteries and 82 young worms (L5) in the sub-arachnoid space found in all age class. The highest parasite burden (42 adult helminths) occurred in an adult female during the dry season. In addition, the distribution of the nematodes was aggregated ($k = 2.04$).

Four models were considered competing models in the analysis of parasite presence/absence in *R. norvegicus*, but their likelihoods were relatively low (from 0.12 to 0.19; Table 2). Moreover, model fit for the best-fitting model (model 1; Table 2) was also low (Nagelkerke $R^2 = 0.221$; Hosmer-Lemeshow statistic: Chi-squared test = 8.561; $df = 8$; $P = 0.381$). Parasite presence/absence was best predicted by host weight ($\beta_{\text{model 1}} = 0.006$; var. weight = 0.54), host gender ($\beta_{\text{female, model 1}} = 1.191$; var. weight = 0.50), and year ($\beta_{2010, \text{model 1}} = -0.693$; var. weight = 0.50), although "year" was not a significant variable in the top model (Wald Chi-square = 2.20; $df = 1$; $p = 0.138$); All the other predictors in the best-fitting model were significant ($P < 0.05$). The prevalence of *A. cantonensis* varied from 63% to 87%

Table 1 Number of *Rattus norvegicus* infected by *Angiostrongylus cantonensis* organized by age, sex and season

Age*	Rainy Season		Dry Season		Total
	Male	Female	Male	Female	
Juvenile	2 (7)	2 (3)	2 (4)	0	6 (14)
Subadults	1 (1)	7 (8)	2 (6)	6 (8)	16 (23)
Adults	12 (17)	13 (16)	18 (25)	13 (15)	56 (73)

Positive rats (total number of collected rats).
 *n = 110.

Table 2 Ranking of best-fit models describing parasite presence/absence in *Rattus norvegicus* captured at São Gonçalo, Rio de Janeiro/Brazil from 2010 to 2011; k = number of parameters in the models

Model	Log(l)	AICc	k	$\Delta AICc$	AICc weight
1-Year + host gender + host weight	-54.30	116.98	4	0.00	0.19
2-Host gender + host weight	-55.41	117.05	3	0.08	0.18
3-Year + host gender \times host weight	-54.35	117.08	4	0.10	0.18
4-Host gender \times host weight	-55.80	117.82	3	0.85	0.12

(Table 3; Figure 2), and tended to be higher in females (78%; CI 65.2-87.2) than in males (59%; CI 46.4-70.1), while the prevalence in juveniles (43% CI 21.3-67.5) tended to be lower than in sub-adults (70% CI 48.9-84.5) and adults (77% CI 65.7-85.0). Prevalence was marginally larger in 2011, but confidence intervals overlapped considerably in this case (79% CI 66.4-88.1 against 64% CI 51.4-74.9; see also Table 3). The interaction between host weight and gender appeared in the third and fourth the best-fitting models for parasite presence/absence (Table 2), but its relative weight was lowest amongst predictors present in the best-fitting models (var. weight = 0.40). Prevalence increases with age in both host sexes, but the difference between males and females occurs mostly in juveniles and subadults, with females showing larger prevalences than males. The multivariate analyses using host gender, host weight, year and season as independent variables and *A. cantonensis* abundance as the dependent variable indicated that two models were considered competitive (models 1 and 2; Table 4). Season, host weight and host gender contributed to variation in parasite abundance (likelihood ratio chi-square for model 1 = 16.03; $df = 3$; $p = 0.001$), even though Akaike weights indicated that the likelihood of the best-fitting models were relatively low (AICc weights = 0.40 and 0.15; Table 4). The variable "season" (var. weight = 0.87) appeared amongst the best-fitting models because 90% of the animals with abundance greater or equal than 20 worms ($N = 11$) were found in the dry season ($\beta_{\text{dry season, model 1}} = 0.579$). Indeed extreme values of parasite abundance were more likely to occur in the dry season (Moses test of extreme reaction: $P < 0.001$; Figure 3B); parasite abundance, however, did not differ between seasons ($P = 0.221$). The interaction between host gender and host weight (var. weight = 0.57) appeared amongst the best-fitting models because the relationship between parasite abundance and host weight is stronger in females ($\beta_{\text{females*weight, model 1}} = 0.004$) than in males ($\beta_{\text{males*weight, model 1}} = 0.002$), and the β value for males was not significant (Wald Chi-Square = 2.971; $df = 1$; $p = 0.085$). All the other parameters in the top model were significant ($P < 0.05$). *Post-hoc* correlations between parasite abundance and host weight showed that *A. cantonensis*

Table 3 Prevalence (95% confidence interval), median intensity, and mean abundance followed by the standard deviation of *Angiostrongylus cantonensis* in *Rattus norvegicus* collected during 2010 and 2011

Season	Month/year	Number of host	Prevalence	Median intensity	Mean abundance
Rainy	March/2010	15	67% (41.5-85.0)	8 ± 5.7	6.2 ± 6.6
Dry	June/2010	15	67% (41.5-85.0)	18 ± 12.6	12.7 ± 13.5
	September/2010	19	63% (40.9-80.9)	11 ± 9.8	8.8 ± 9.3
Rainy	December/2010	12	67% (51.7-93.2)	8.5 ± 5.1	6.4 ± 5.9
	March/2011	14	79% (38.6-83.8)	10 ± 7.7	6.6 ± 7.8
Dry	June/2011	15	87% (60.9-97.5)	10 ± 9.9	8.2 ± 9.9
	September/2011	10	70% (39.2-89.7)	8 ± 4.4	5.2 ± 5.1
Rainy	December/2011	14	79% (51.7-93.2)	7.5 ± 5	5.2 ± 5.5

abundance increases with host weight in both sexes ($R_{\text{females}} = 0.40$, $N = 50$, $P = 0.004$; $R_{\text{males}} = 0.30$, $N = 60$, $P = 0.002$), which would explain why “host weight” (var. weight = 0.37) appeared as a main effect in the second best model (Model 2, Table 4).

Moreover, females had larger parasite abundance ($P = 0.044$) and extreme values of parasite abundance than males ($P = 0.004$; Figure 3A). Despite differences in parasite abundance between males and females, “host gender” as a main factor had the lowest relative variable weight amongst predictors in the best-fitting models (0.28).

Discussion

The prevalence of *A. cantonensis* in *R. norvegicus* in Rio de Janeiro is relatively high compared to other localities where infected rats have been found [3]. As reviewed by Wang et al. (2008) [3], areas in Cuba and the Dominican Republic (both in the Americas) had a high prevalence of *A. cantonensis* at 60% (12 infected rodents of 20 collected) and 100% (5 infected rodents in 5 collected), respectively. However, the small sample sizes used in these short-term studies do not allow conclusive results and

preclude inference from the helminth infrapopulation structure. In our study, we observed a high and stable prevalence of *A. cantonensis* over two years, which suggests that transmission is continuously high. Prevalences were marginally larger in 2011, but confidence limits overlapped considerably between years (see also Table 3). It would be interesting, however, to investigate whether *A. cantonensis* prevalence in *R. norvegicus* is gradually increasing in the long-term.

The recent settlement of *A. cantonensis* in the study area of São Gonçalo, Rio de Janeiro state could partially explain the high prevalence of this parasite. Additionally, the presence of the exotic intermediate host *A. fulica* in the study area [14], and its recent dispersion to all the 27 federations in Brazil [14,25,26] may contribute to the establishment and increase of *A. cantonensis* transmission to its vertebrate host. However, nothing is known about the population dynamics of the mollusc species present in the study area, although it has been demonstrated that variation in the structure of the intermediate host population plays an important role in the seasonal fluctuations in helminth community parameters in the definitive host [27]. Stability in prevalence may also be caused by the following: (1) a long parasite lifespan in the definitive host and liberation of L_1 larvae over long periods of time, which may maintain parasite transmission to the intermediate host even in times of low snail abundance in the environment; (2) the presence of more than one mollusc species that is able to facilitate development to the infective larval stage L_3 [28]; (3) the lack of factors constraining rat abundance (e.g., constant and high food availability and refuge); and (4) *A. cantonensis* genetic heterogeneity [29,30], which may facilitate adaptation to new environments.

The positive relationship between *A. cantonensis* abundance and rat weight is at least partially associated with higher parasite burdens in older (and heavier) rats. As previously reported [31,32], this observation is likely due to the longer period of exposure to infection, which is also corroborated by the higher parasite prevalence found in

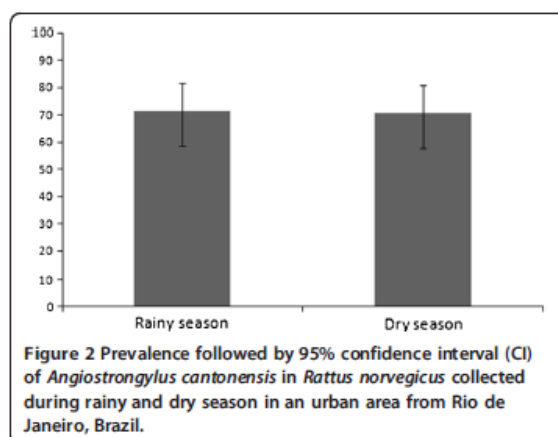


Table 4 Ranking of best-fit models describing parasite abundance in *Rattus norvegicus* captured at São Gonçalo, Rio de Janeiro/Brazil from 2010 to 2011; k = number of parameters in the models

Model	Log(l)	AICc	k	ΔAICc	AICc weight
1-Season + weight × gender	-331.53	671.4	4	0.00	0.40
2-Season + weight + gender	-332.47	673.3	4	1.89	0.15
3-Season + gender × weight + year	-331.51	673.6	5	2.16	0.13
4-Season + gender + weight + year	-332.35	675.3	5	3.83	0.06

Models 3 and 4 are presented for comparison purposes only.

adult rats. Additionally, the relatively weak relationship may also suggest the presence of a regulatory process for parasite density. Indeed, experimental studies demonstrated that rats exposed to *A. cantonensis* are able to modulate the parasite burden when re-infected [33].

Males have higher levels of testosterone and larger home ranges than females [34,35], which would potentially increase the probability of acquiring/maintaining an infection [36,37]. However, females had a higher prevalence and abundance of *A. cantonensis* than males, and the relationship between parasite abundance and host weight was also stronger in females, which somewhat undermines the hypothesis that males are more frequently exposed to infection because of their larger home ranges and/or testosterone levels. Although male mammals generally harbor more helminth parasites than females [37], the hormonal response of each gender may determine their distinct parasitic profiles [38]. Some studies have demonstrated female-biased parasitism [39-41], suggesting that sex-biased parasitism is a complex phenomenon influenced by hormones other than testosterone [39] and that additional variables in the host-parasite relationship can influence predisposition to infection and parasite burdens. For example, female adolescents seem to locomote more and spend more time exploring aversive areas than males of the same age [42]; if that implies that females explore their home ranges

better, then they may be more prone to infection than males. This would explain why prevalences are particularly higher in juvenile and subadult females than males (see Table 3). Notwithstanding, our findings indicate that females may be particularly important for maintaining the parasite at a local scale due to their higher prevalence and abundance of infection and their philopatric behavior, whereas dispersion of the parasite to new areas may be mediated mainly by males that tend to have larger dispersion ability [43,44].

Although the prevalence of *A. cantonensis* did not vary between seasons (Table 3), the range of parasite abundance was greater during the dry season. Because the mollusc intermediate hosts are susceptible to desiccation [45], we would expect a lower abundance of snails and a consequently lower prevalence and abundance of *A. cantonensis* in rats during that season. The presence of a larger number of rats with young larvae of *A. cantonensis* in the subarachnoid space during the rainy season suggests that infection rates may actually be higher during the wet season. In many natural populations, however, animals show seasonal changes in stress hormones as a response to environmental changes (e.g. food or water shortage) and/or biotic factors (e.g. increased intraspecific competition) [46]. If stress hormones in rats were high during the dry season, then individuals may be less able to modulate parasite infection,

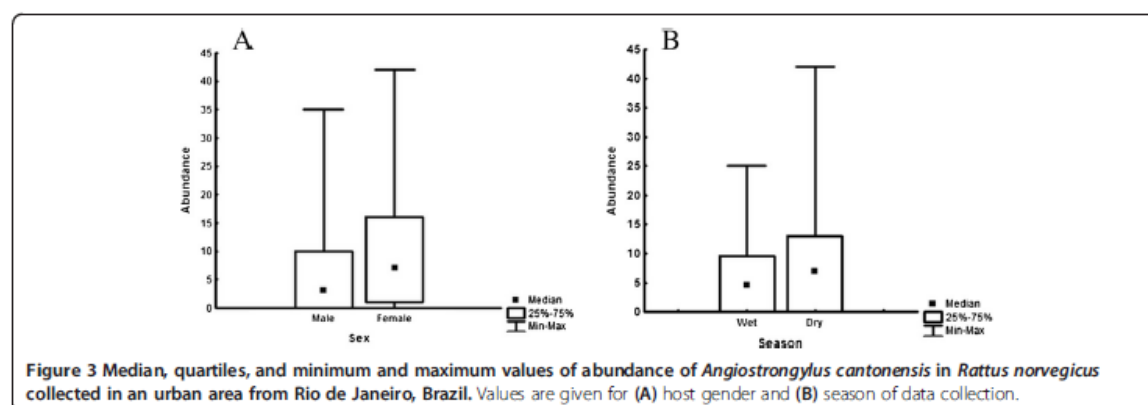


Figure 3 Median, quartiles, and minimum and maximum values of abundance of *Angiostrongylus cantonensis* in *Rattus norvegicus* collected in an urban area from Rio de Janeiro, Brazil. Values are given for (A) host gender and (B) season of data collection.

which would explain the rats with higher burdens in that season. Nevertheless, there are no studies of seasonal changes in glucocorticoids in tropical mammals to support this hypothesis.

In summary, our results demonstrated that mainly host gender and host age (measured as host weight) contributed to variation in *A. cantonensis* prevalence, while season, host gender and host weight influenced parasite abundance. However, model fit for both parasite abundance and prevalence was low, which means that additional variables not investigated may be relatively more important for determining parasite abundance/prevalence in the definitive host. For instance, variables directly linked to infection rates and the abundance of the intermediate hosts might better predict *R. norvegicus* infection rates. Likewise, the host immune system and concomitant infection with other parasites may also be important predictors for the abundance of *A. cantonensis* in *R. norvegicus*. To disentangle the influence of these variables on parasite abundance and prevalence, field studies need to be associated with experimental studies.

Conclusions

The stability of *A. cantonensis* prevalence throughout the duration of this study confirms that this parasite is established in the urban region of São Gonçalo municipality in Rio de Janeiro State and is under adequate conditions for spreading to other areas. We suggest that a multidisciplinary approach that considers ecological aspects (e.g., variation in diet, dispersal ability and home range) of the rats and intermediate hosts, as well as environmental features is required to further understand the dynamic of several zoonoses, including angiostrongyliasis [47]. These studies are therefore essential for the implementation of surveillance and control strategies to reduce the risk of angiostrongyliasis among local residents and to limit the occurrence of new foci.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

Conceived and designed the work: ROS, AMJ and JLL. Performed the work: ROS and JSG. Analyzed the data: ROS, NO, AMJ and JLL. Revised the manuscript for important intellectual content: AMJ, NO, JSG and JLL. Wrote the paper: ROS. All authors read and approved the final version of the manuscript.

Acknowledgments

We would like to thank all that helped with the field work; the staff of CEADE for making a space available for our field laboratory; Secretary of Health of São Gonçalo; Heloisa Diniz of Imaging Service-FIOCRUZ and Geosciences Lab from Geography department (UERJ/FFP).

Author details

¹Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brazil. ²Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, Instituto Oswaldo Cruz, Av. Brasil 4365 Mangueiras, 21040-360 Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

³Departamento de Geografia, Universidade Estadual do Rio de Janeiro/Faculdade de Formação de Professores, Rua Dr. Francisco Portela, 1470, 24435-005 São Gonçalo, RJ, Brazil. ⁴Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Caixa Postal 74540, 23851-970 Seropédica, RJ, Brazil.

Received: 9 September 2013 Accepted: 11 February 2014

Published: 10 March 2014

References

1. Acha PN, Szyfres B: *Zoonoses and Communicable Diseases Man and Animals. Volume 3*. 3rd edition. Washington, DC: Pan American Health Organization, Scientific and Tech. Publications; 2003.
2. Wang QP, Wu ZD, Wei J, Owen RL, Lun ZR: Human *Angiostrongylus cantonensis*: an update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012, **35**:389–395.
3. Wang Q, Lai D, Zhu X, Chen X, Lun Z: Human angiostrongyliasis. *Lancet Infect Dis* 2008, **8**:621–630. doi:10.1016/S1473-3099(08)70229-9.
4. Maldonado AJ, Simões R, Thiengo S: *Angiostrongyliasis in the Americas. In Zoonosis. Volume 1*. 1st edition. Edited by Morales-Lorenzo J. InTech; 2012:303–320. Available from: <http://www.intechopen.com/books/zoonosis/angiostrongyliasis-in-the-americas>.
5. Pascual J, Bouli R, Aguiar H: Eosinophilic meningoencephalitis in Cuba, caused by *Angiostrongylus cantonensis*. *Amer J Trop Med Hyg* 1981, **30**:960–962.
6. Dorta-Contreras A, Padilla-Docal B, Moreira J, Robles L, Aroca J, Fernando Alarcón F, Bu-Coiñu- Fanego R: Neuroimmunological findings of *Angiostrongylus cantonensis* meningitis in ecuadorian patients. *Arq Neuro-Psiquiatr* 2011, **69**:466–469.
7. Lima A, Mesquita S, Santos S, Aquino E, Rosa L, Duarte F, Teixeira A, Costa Z, Ferreira M: Alicata disease: neuroinfestation by *Angiostrongylus cantonensis* in Recife, Pernambuco, Brazil. *Arq Neuro-Psiquiatr* 2009, **67**:1093–1096.
8. Barrow K, St Rose A, Lindo J: Eosinophilic meningitis: is *Angiostrongylus cantonensis* endemic in Jamaica? *West Indian Med J* 1996, **45**:70–71.
9. New D, Little M, Cross J: *Angiostrongylus cantonensis* infection from eating raw snails. *New Eng J Med* 1995, **332**:1105–1106.
10. Aguiar P, Morera P, Pascual J: First record of *Angiostrongylus cantonensis* in Cuba. *Amer J Trop Med Hyg* 1981, **30**:963–965.
11. Espirito-santo MC, Pinto PLS, Mota DJG, Gyschik RCB: The first case of *Angiostrongylus cantonensis* eosinophilic meningitis diagnosed in the city of São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop* 2013, **55**:129–132. doi:10.1590/S0036-46652013000200012.
12. Caldeira R, Mendonça C, Gouveia C, Lenzi H, Graeff-Teixeira C, Lima WS, Mota EM, Pecora IL, Medeiros AMZ, Carvalho OS: First record of molluscs naturally infected with *Angiostrongylus cantonensis* (chen, 1935) (nematoda: metastrongyloidea) in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007, **102**:887–889.
13. Thiengo S, Maldonado A, Mota E, Torres E, Caldeira R, Carvalho OS, Oliveira AP, Simões RO, Fernandez MA, Lanfredi RM: The giant African snail *Achatina fulica* as natural intermediate host of *Angiostrongylus cantonensis* in Pernambuco, northeast Brazil. *Acta Trop* 2010, **115**:194–199.
14. Maldonado A Jr, Simões R, Oliveira A, Motta E, Fernandez M, Pereira ZM, Monteiro SS, Torres EJ, Thiengo SC: First report of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongylidae) in *Achatina fulica* (mollusca: gastropoda) from Southeast and South regions of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2010, **105**:938–941.
15. Moreira VL, Giese EG, Melo FT, Simões RO, Thiengo SC, Maldonado A Jr, Santos JN: Endemic angiostrongyliasis in Brazilian Amazon: natural parasitism of *Angiostrongylus cantonensis* in *Rattus rattus* and *R. norvegicus*, and sympatric giant African land snails, *Achatina fulica*. *Acta Trop* 2012, **125**:90–97.
16. Simões RO, Monteiro FA, Sanchez E, Thiengo SC, Garcia JS, Costa-Neto SF, Luque JL, Maldonado A: Endemic angiostrongyliasis in Rio de Janeiro, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2011, **17**:1331–1333.
17. Ibrahim MM: Prevalence and intensity of *Angiostrongylus cantonensis* in freshwater snails in relation to some ecological and biological factors. *Parasite* 2007, **14**:61–70.
18. Mahajan RK, Almeida AJ, Sengupta SR, Renapurkar DM: Seasonal intensity of *Angiostrongylus cantonensis* in the intermediate host, *Laevicaulis alte*. *Int J Parasitol* 1992, **22**:669–671.
19. Gannon WL, Sikes RS: Guidelines of the American society of mammalogists for the use of wild mammals in research. *J Mammal* 2011, **92**:235–253.

20. Lemos ERS, D'Andrea PS: **Trabalho com Animais Silvestres**. In *Biossegurança, Informação e Conceitos, Textos Básicos*. 1st edition. Edited by Martins EV, Martins AS, Silva FHAL, Lopes MCM, Moreno MLV, Silva PCT. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2006:273–288.
21. Chen HT: **A new pulmonary nematode of rats, *Pulmonema cantonensis* ng. nsp from Canton**. *Ann Parasitol* 1935, **13**:312–317.
22. Reiczgel J, Rózsa L: **Quantitative parasitology 3.0**. Budapest 2005.
23. Webster JP, Macdonald DW: **Parasites of wild brown rat (*Rattus norvegicus*) on UH farms**. *Parasitology* 1995, **111**:247–255.
24. Burnham KP, Anderson DR: **Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach**. New York: Springer; 2002.
25. Thiengo SC, Simões RO, Fernandez MA, Maldonado A Jr: **Angiostrongylus cantonensis and rat lungworm disease in Brazil**. *Hawaii J Med Public Health* 2013, **72**:18–22.
26. Thiengo SC, Faraco FA, Salgado NC, Cowie R, Fernandez MA: **Rapid spread of an invasive snail in South America: the giant African snail, *Achatina fulica* in Brazil**. *Biol Invasions* 2007, **9**:693–702.
27. Maldonado A Jr, Gentile R, Fernandes-Moraes CC, D'Andrea PS, Lanfredi RM, Rey L: **Helminth communities of *Nectomys squamipes* naturally infected by the exotic trematode *Schistosoma mansoni* in southeastern Brazil**. *J Helminthol* 2006, **80**:369–375.
28. Carvalho Odos S, Scholte RG, Mendonça CL, Passos LK, Caldeira RL: **Angiostrongylus cantonensis (nematode: metastrongyloidea) in molluscs from harbour areas in Brazil**. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2012, **107**:740–746.
29. Monte TC, Simões RO, Oliveira AP, Novaes CF, Thiengo SC, Silva AJ, Estrela PC, Maldonado A Jr: **Phylogenetic relationship of the Brazilian isolates of the rat lungworm *Angiostrongylus cantonensis* (nematoda: metastrongylidae) employing mitochondrial COI gene sequence data**. *Parasit Vectors* 2012, **6**:248–256.
30. Tokiwa T, Harunari T, Tanikawa T, Komatsu N, Koizumi N, Tung K-C, Suzuki J, Kadosaka T, Takada N, Kumagai T, Akao N, Ohta N: **Phylogenetic relationships of rat lungworm, *Angiostrongylus cantonensis*, isolated from different geographical regions revealed widespread multiple lineages**. *Parasitol Int* 2012, **61**:431–436.
31. Abu-Madi MA, Lewis JW, Mickall M, Et-Nagger ME, Behnke JM: **Monospecific helminth and arthropod infections in an urban area population of brown rats from Doha, Qatar**. *J Helminthol* 2001, **75**:313–320.
32. Abu-Madi MA, Behnke JM, Mikhail M, Lewis JW, Allaabi ML: **Parasite populations in the brown rat *Rattus norvegicus* from Doha, Qatar between years: the effect of host age, sex and density**. *J Helminthol* 2005, **79**:105–111.
33. Au ACS, Ko RC: **Changes in worm burden, haematological and serological response in rats after single and multiple *Angiostrongylus cantonensis* infections**. *Z Parasitenkd* 1979, **58**:233–242.
34. Lambert MS, Quy RJ, Smith RH, Cowan DP: **The effect of habitat management on home-range size and survival of rural Norway rat populations**. *J Appl Ecol* 2008, **2008**(45):1753–1761.
35. Zuk M, McKean KA: **Sex differences in parasite infections: patterns and processes**. *Int J Parasitol* 1996, **26**:1009–1023.
36. Schalk G, Forbes R: **Male biases in parasitism of study type, host age and parasite taxon**. *Oikos* 1997, **78**:67–74.
37. Innes J: **Advances in New Zealand mammalogy 1990–2000: European rats**. *J R Soc New Zealand* 2001, **31**:111–125.
38. Poulin R: **Sexual inequalities in helminth infections: a cost of being a male?** *Amer Nat* 1996, **147**:287–295.
39. Schuur A, Verheul HAM: **Effects of gender and sex steroids on the immune response**. *J Ster Biochem Mol Biol* 1990, **35**:157–172.
40. Morales-Montor J, Chavarria A, De León MA, Del Castillo LI, Escobedo EG, Sánchez EN, Vargas JA, Hernández-Flores M, Romo-González T, Larralde C: **Host gender in parasitic infections of mammals: an evaluation of the female host supremacy paradigm**. *J Parasitol* 2004, **90**:531–546.
41. Krasnov BR, Morand S, Hawlena H, Khokhlova IS, Shenbrot GI: **Sex-biased parasitism, seasonality and sexual size dimorphism in desert rodents**. *Oecologia* 2005, **146**:209–217.
42. Lynn DA, Brown GR: **The ontogeny of exploratory behaviour in male and female adolescent rats (*Rattus norvegicus*)**. *Dev Psychol* 2009, **51**:513–520.
43. Calhoun JB: *The Ecology and Sociology of the Norway rat*. Bethesda, Maryland: U.S. Department of Health, Education and Welfare; 1963.
44. Taylor KD: **Range of movement and activity of common rats (*Rattus norvegicus*) on agricultural land**. *J App Ecol* 1978, **15**:663–677.
45. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica: *Vigilância e Controle de Moluscos de Importância Epidemiológica, Diretrizes Técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose*. 2nd edition. Brasília: Editora do Ministério da Saúde; 2007.
46. Reeder DM, Kramer KM: **Stress in free-ranging mammals: integrating physiology, ecology, and natural history**. *J Mammal* 2005, **86**:225–235.
47. Himswoth CG, Parsons KL, Jardine C, Patrick DM: **Rats, Cities, people, and pathogens: a systematic review and narrative synthesis of literature regarding the ecology of rat-associated zoonoses in urban centers**. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2013, **13**:1–11. doi:10.1089/vbz.2012.1195.

doi:10.1186/1756-3305-7-100

Cite this article as: Simões et al.: A longitudinal study of *Angiostrongylus cantonensis* in an urban population of *Rattus norvegicus* in Brazil: the influences of seasonality and host features on the pattern of infection. *Parasites & Vectors* 2014 **7**:100.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



8.2 Artigo aceito para publicação

8.2.1 **PREVALENCE OF *Calodium hepaticum* (SYN. *Capillaria hepatica*) IN *Rattus norvegicus* IN THE URBAN AREA OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL.**

PREVALENCE OF *Calodium hepaticum* (SYN. *Capillaria hepatica*) IN *Rattus norvegicus* IN THE URBAN AREA OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL.

Raquel O SIMÕES (1), José L. LUQUE (2), Marta Júlia FARO (3), Ester MOTTA (4) & Arnaldo MALDONADO JR. (3)

SUMMARY

The nematode *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*) is a zoonotic helminth found mainly infecting rats. We studied the prevalence of *C. hepaticum* infection in *Rattus norvegicus* in an urban area of Rio de Janeiro (Brazil) with low urban planning and sanitation. The presence of *C. hepaticum* was identified by visible yellowish-white lesions in liver tissue and histological analyses. The total prevalence of infection was 45%, with no significant differences between sex and age. The presence of infected rodents near the peridomestic area poses substantial risk to human health.

KEYWORDS: *Rattus norvegicus*, *Calodium hepaticum*, prevalence, Rio de Janeiro.

The zoonotic nematode *Calodium hepaticum* (Brancroft, 1893) Moravec, 1982 (syn. *Capillaria hepatica*, *Tricocephalus hepaticus*, *Hepaticola hepatica*) has global distribution and mainly infects rodents and other mammals, including humans^{3,9,10}. Synanthropic rats of

(1) Post-Graduate Program in Vetreinary Science, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465 – Km 7, CEP: 23.890-000, Seropédica, RJ, Brazil. Phone: 55 21 2682-1617.

(2) Departament of Animal Parasitology (UFRRJ).

(3) Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), RJ, Brazil.

(4) Laboratório de Patologia (FIOCRUZ).

Correspondence to: Raquel de Oliveira Simões. E-mail: raquel83vet@gmail.com

the genus *Rattus* are considered the most important hosts and reservoirs of this parasite due to the high prevalence and low pathogenicity of the infection¹⁰.

Adult worms colonize the hepatic parenchyma of the host, where the eggs are released. For successful parasite transmission, host death is necessary, after which the infected tissue needs either to be consumed by a predator and released in the feces (spurious infection) or decomposed in the environment, allowing the eggs to become embryonated and infective. In this stage, humans can be infected ingesting the eggs in water, soil or contaminated fruits and vegetables⁸. The disseminator animals ingest the eggs, which pass through the gastrointestinal tract and are dispersed in the environment¹¹.

In Brazil, this parasite has been reported infecting humans and various species of domestic and wild mammals^{2,12,13,14,15,18,20}. In synanthropic rodents, *C. hepaticum* has been recorded in the states of São Paulo, Bahia and Pará^{5,7,13}. In Rio de Janeiro, a previous survey was performed to monitor *Rattus norvegicus* for detection of zoonotic parasitic diseases in a densely populated urban region¹⁹. The objective of this study was to determine the prevalence of *C. hepaticum* infection in *R. norvegicus* in an urban area with low urban planning and sanitation.

Seventy-four specimens of *R. norvegicus* were captured in the city of São Gonçalo (22°48'26.7"S, 43°00'49.1"W), state of Rio de Janeiro in 2011 using Tomahawk® traps (Model 201; 40.6 x 12.7 x 12.7 cm). Rodent collection permits were obtained from the committee on animal research ethics (CEUA no. LW 24/10) of Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz). Body weight was used as a proxy for host age according to WEBSTER & MACDONALD (1995)²¹. Prevalence was measured as in BUSH *et al.*¹ followed by 95% confidence interval (CI). Chi-squared analyses were used to test significant differences in the prevalence of parasites between the sex and age of the rodents¹⁶. Macroscopic examination of the liver was conducted to screen for the presence of *C. hepaticum*, detected by the presence of yellowish-white lesions caused by adult worms and eggs. These findings were then

confirmed by histology. Collected liver samples were fixed in Milloning and routinely processed for histological examination, then embedded in paraffin and sliced into 5- μ m sections. The material was stained with hematoxylin-eosin (HE). The histological slides were observed under a Zeiss Observer Z1 light microscope, and images were acquired using a Zeiss Axio Cam HRc camera. The images were processed by the Axio Vision Rel. 4.7 software. Two randomly chosen sections of each lesion were included for histological examination.

The overall prevalence of infection was 45% IC 33.8-55.9 (33/74); 52% IC 33.7-66.5 (22/42) in males and 34% IC 20.3-51.7 (11/32) in females. Among the rat ages, the prevalence rates were: 20% IC 4.5-52.1 (2/10) in juveniles (<100g), 40% IC 19.7-64.3 (6/15) in sub-adults (100-200g) and 51% IC 37.6-68.2 (25/49) in adults (>200g). There was no significant difference between sex and age ($P > 0.05$). The histological analysis of the infected livers revealed a granulomatous tissue reaction with different stages of fibrocellular tissue remodeling. We observed granulomas with central necrosis, containing intact eggs, with surrounding intense granulomatous inflammatory infiltration (monocytes and macrophages) and congestion in the infiltration area (Fig. 1A). Pronounced septal fibrosis remodeling the parenchyma was also observed (Fig. 1B).

This is the first report on infection by *C. hepaticum* in *R. norvegicus* in Rio de Janeiro. The prevalence in the present study is high and similar to that found in the states of São Paulo (59%)⁵, Bahia (56%)⁸ with and Pará (42%)¹³. The short life cycle of rats causes rapid liberation of large numbers of eggs in the environment. Moreover, the high rat birth rate provides a sufficient number of hosts to maintain the parasite cycle⁶, contributing to the high prevalence in this host.

The lack influence of sex and age on infection prevalence is in accordance with other studies of urban areas^{4,9}. Probably this occurs because cannibalism, predation, presence of vector vertebrates and invertebrates, soil texture and social behavior are important factors in the spread and maintenance of *C. hepaticum* infection⁴. Moreover, the study area has large

presence of dogs and cats in the streets (both strays and those allowed to wander freely by their owners). These animals often prey on infected rats, perhaps contributing to the dissemination of eggs and serving as a source of infection for other animals and humans.

The histopathological findings in the liver were according to the observations of other studies in naturally infected rats^{4,9,13}. The most characteristic finding in rats infected with *C. hepaticum* is septal fibrosis of the liver, which is characterized by formation of long and thin fibrous septa along the acinar zone III, connection of central veins between them and later the development of portal spaces, forming bridges¹⁷.

From these results, we can conclude that the infected rodents are a potential source of parasite transmission to domestic animals in peridomestic area, with substantial risk to human health, principally to children¹⁸.

ACKNOWLEDGEMENTS

Arnaldo Maldonado Jr., José L. Luque and Raquel O. Simões received financial support from the National Council for Scientific and Technological Research (CNPq).

RESUMO

PREVALÊNCIA DE *Calodium hepaticum* (SIN. *Capillaria hepática*) EM *Rattus norvegicus* EM ÁREA URBANA DO RIO DE JANEIRO, BRASIL.

O nematóide *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*) é uma helminto zoonótico encontrado infectando principalmente ratos. A prevalência da infecção de *C. hepaticum* em *Rattus norvegicus* foi investigada em uma área urbana do Rio de Janeiro (Brasil) com baixo planejamento e saneamento. A presença de *C. hepaticum* foi identificada através da presença de lesões macroscópicas caracterizada por manchas extensas de coloração branco-amarelada difusa por toda superfície do tecido do fígado e através de análise histológica. A prevalência total da infecção foi de 45% sem diferença significativa entre o sexo e idade. A presença de

roedores infectados próximos do peridomicílio representa um risco substancial para a saúde humana.

REFERENCES

1. Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *J. Parasitol.* 1997;83:575–83.
2. Camargo LMA, Camargo JSAA, Vera LJS, Barreto PTC, Tourinho EK, Souza MM. Capillariais (Trichurida, Trichinellidae, *Capillaria hepatica*) in the Brazilian Amazon: low pathogenicity, low infectivity and a novel mode of transmission. *Parasit. Vectors.* 2010;3:11.
3. Carvalho-Costa FA, Silva AG, de Souza AH, Moreira CJC, Souza DL, Valverde JG, *et al.* Pseudoparasitism by *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*; *Hepaticola hepatica*) in the Negro River, Brazilian Amazon. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2009;103:1071–3.
4. Ceruti R, Sonzogni O, Origgi F, Vezzoli F, Cammarata S, Giusti AM, *et al.* *Capillaria hepatica* infection in wild brown rats (*Rattus norvegicus*) from the urban area of Milan, Italy. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health.* 2001;48:235–40.
5. Chieffi PP, Dias RMDS, Mangini ACS, Grispino DMA. *Capillaria hepatica* (Bancroft, 1893), em murídeos capturados no município de São Paulo, SP, Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 1981;23:143–6.
6. Farhang-Azad A. Ecology of *Capillaria hepatica* (Bancroft 1893) (Nematoda). II. Egg-releasing mechanisms and transmission. *J. Parasitol.* 1977;63:701–6.

7. Galvão VA. *Capillaria hepatica*, estudo da incidência em ratos de Salvador, Bahia, e dados imunopatológicos preliminares. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 1976;10:333–8.
8. Galvão VA. *Capillaria hepatica*: an evaluation of its pathogenic role in man. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1981;76:415–33.
9. Kataranovski M, Zolotarevski L, Belij S, Mirkov I, Stosic J, Popov A, *et al.* First record of *Calodium hepaticum* and *Taenia taeniaeformis* liver infection in wild Norway rats (*Rattus norvegicus*) in Serbia. Arch. Biol. Sci. 2010;62:431–40.
10. Layne JN. Host and ecological relationship of the parasitic helminth *Capillaria hepatica* in Florida mammals. Zoologica. 1968;53:107–23.
11. Li C-D, Yang H-L, Wang Y. *Capillaria hepatica* in China. World J. Gastroenterol. 2010;16:698–702.
12. Ilha MRS, Barros CSL. Capilariose hepática em cães e gatos: 15 casos. Ciência Rural. 2000;30:665–9.
13. Moreira VLC, Giese EG, Silva DCB, Melo FTV, Furtado AP, Maldonado A, *et al.* *Calodium hepaticum* (Nematoda: Capillariidae) in synanthropic rodents (*Rattus norvegicus* and *Rattus rattus*) in Eastern Amazonia. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 2013;22:265–9.
14. Piazza R, Correa MO, Fleury RN. On a case of human infestation with *Capillaria hepatica*. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 1963;5:37–41.
15. Quadros RM, Pilati C, Marques SMT, Mazzolli M, Benedet RC. *Capillaria hepatica* in Puma concolor: first report in Brazil. J. Zoo Wildl. Med. 2009;40:586–587.

16. Reiczigel J. and Rózsa L. Quantitative Parasitology 3.0. Budapest; 2005.
17. Santos AB, Tolentino M, Andrade ZA. Pathogenesis of hepatic septal fibrosis associated with *Capillaria hepatica* infection of rats. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2001;34:503–6.
18. Sawamura R, Fernandes MI, Peres LC, Galvão LC, Goldani HA, Jorge SM, *et al.* Hepatic capillariasis in children: report of 3 cases in Brazil. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1999;61:642–7.
19. Simões RO, Monteiro FA, Sanchez E, Thiengo SC, Garcia JS, Costa-Neto SF, *et al.* Endemic angiostrongyliasis, Rio de Janeiro, Brazil. Emerg. Infect. Dis. 2011;17:1331–3.
20. Soares MCP, Nunes HM, Silveira FAA, Alves MM, Souza AJS. *Capillaria hepatica* (Bancroft, 1893) (Nematoda) entre populações indígenas e mamíferos silvestres no noroeste do Estado do Mato Grosso, Brasil, 2000. Rev. Pan-Amazônica Saúde. 2011;2:35–40.
21. Webster JP, Macdonald DW. Parasites of wild brown rats (*Rattus norvegicus*) on UK farms. Parasitology. 1995;111:247–55.

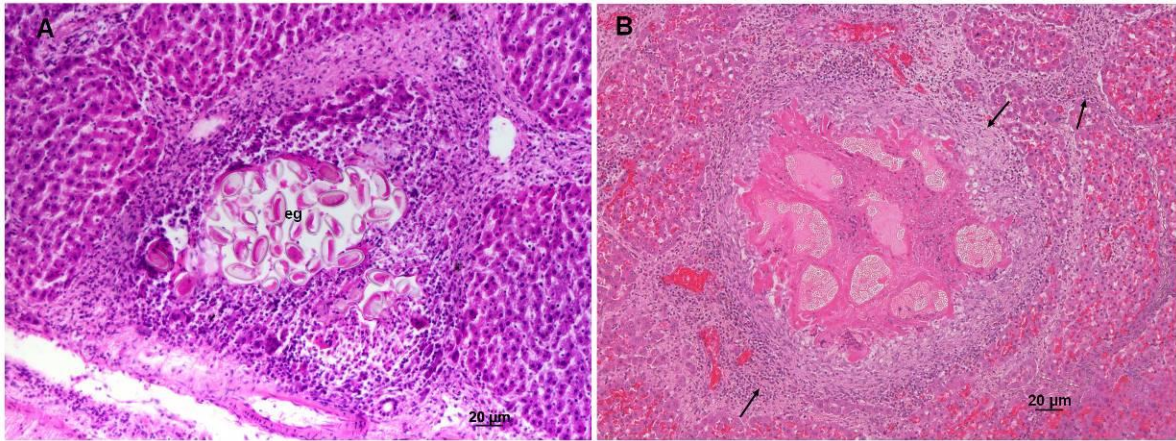


Fig. 1 - Histological features of the liver of *Rattus norvegicus* infected with *Calodium*

hepaticum. A) Hepatic parenchyma characterized by the presence of worm eggs (eg) and reaction of the cellular immune system of the host. B) Hepatic parenchyma with chronic infection characterized by the presence of fibrous tissue (arrows) and buildup of conjunctive tissue adjacent to the body of the parasite filled with eggs.

8.3 Capítulo de livro publicado

8.3.1 **ANGIOSTRONGYLIASIS IN THE AMERICAS-** *Zoonosis* editado por Dr. Jacob Lorenzo-Morales, *Capítulo 17, p. 303-320, 2012.* -

Angiostrongyliasis in the Americas

Arnaldo Maldonado Jr.¹, Raquel Simões^{1,2} and Silvana Thiengo¹

¹Oswaldo Cruz Foundation,

²Federal Rural University of Rio de Janeiro,
Brazil

1. Introduction

Abdominal angiostrongyliasis, a parasitic disease originally from the Americas, and eosinophilic meningoencephalitis, from Asia, are caused by two species of angiostrongylid nematodes, belonging to the family Metastrongylidae Leiper, 1908. In both cases, rats are the main definitive hosts and snails are the intermediate hosts (Acha & Szyfres, 2003).

The helminth *Angiostrongylus costaricensis* Morera & Céspedes, 1971 is endemic to the Americas and is responsible for a pathological abdominal syndrome, caused by the presence of the adult helminth in the mesenteric arteries. This is microscopically characterized by eosinophilic infiltration, vascular abnormality and a granulomatous reaction (Graeff-Teixeira et al., 1987). The disease was first reported in humans by Céspedes et al. (1967) and Morera (1967) in Costa Rica. The adult worm was subsequently described from specimens recovered during surgical procedures by Morera & Céspedes (1971). The parasite's current distribution ranges from the southern United States to northern Argentina (Morera, 1988), with human cases having been reported in Costa Rica, Honduras, Colombia, Martinique, Dominican Republic, Puerto Rico, Nicaragua, Mexico, Venezuela, Guadalupe, El Salvador, Panama and Brazil (Kaminsky, 1995).

In turn, *Angiostrongylus cantonensis*, the agent that causes eosinophilic meningoencephalitis, was first described in Canton, China, by Chen (1935), and is now dispersed to various Pacific islands, Australia, Africa, and more recently, the Americas (Foronda et al., 2010). It is believed that the initial dissemination to islands in the Pacific resulted from the introduction of naturally infected rats in containers coming from Asia (Diaz, 2008). The growing flows of global trade and tourism, as well as the spread of habits and customs among countries, have enabled the dispersion of the definitive and intermediate hosts of *A. cantonensis* (Cross, 1987). Currently there are reports of human infection in the United States (New et al., 1995), Cuba (Aguiar et al., 1981), Jamaica (Slom & Johnson, 2003), Ecuador (Dorta-Contreras et al., 2010) and Brazil (Lima et al., 2009.) In particular the introduction of the *Achatina fulica* in Brazil (Thiengo et al., 2007) and *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) in China are examples of the importance of exotic snails in the spread of this helminthiasis (Lv et al., 2008).

This chapter focuses on the taxonomy, life cycle, endemic and exotic intermediate hosts, natural vertebrate hosts and geographical distribution of these *Angiostrongylus* species together with diagnosis, treatment and prophylaxis of the diseases borne by them.

2. Systematic and general morphology

The system for classifying the *Angiostrongylus* genus basically relies on the morphological characteristics of the rays of the copulatory bursa, host group specificity and/or place where the adult worms are located in the host.

Dougherty (1946) considered the following genera to be synonyms for the genus *Angiostrongylus* Kamensky, 1905: *Haemostromylus* Railliet and Henry, 1907; *Parastrongylus* Bayle, 1928; *Rodentocaulus* Shul'ts, Orlov and Kutas, 1933; *Pulmonema* Chen, 1935; and *Cardionema* Yamaguti, 1941. Drozd (1970) separated species of the genus *Angiostrongylus* into two subgroups based on morphological characteristics of the caudal bursa and systematized them into two subgenera – *Angiostrongylus* and *Parastrongylus* – based on the morphology of the lateral rays of the caudal bursa. *Angiostrongylus* has a ventrolateral ray arising independently from the mediolateral and posterolateral rays, which emerge as a single trunk, and is a parasite of the right heart and pulmonary artery of carnivores. In contrast, the subgenus *Parastrongylus* parasitizes rodents and has as taxonomic characteristics the lateral rays arising in a common trunk and a cleft at the same level. A third subgroup, parasitizing insectivores, was classified as belonging to the genus *Stefanskostrongylus*, comprising species with lateral rays similar to the subgenus *Parastrongylus*, but without the gubernaculum. Anderson (1978) accepted such systematic criteria but did not mention biological aspects such as host specificity or site of infection. Furthermore, Chabaud (1972) proposed eight different genera based on the morphology of the bursal rays, types of hosts and infection site. Ubelaker (1986) reorganized the Angiostrongylidae into six genera, based on bursal morphology and on specific host groups. Nevertheless, the host-specificity criteria need to be studied further since infection has been reported of non-human primates and carnivores by *A. costaricensis* (Miller et al., 2006).

In this chapter we accept the classification of Dougherty (1946). To date, 18 species of *Angiostrongylus* have been reported around the world. Four species have been described infecting carnivores: *Angiostrongylus vasorum* Baillet, 1866; *Angiostrongylus raillieti* Travassos, 1927; *Angiostrongylus gubernaculatus* Dougherty, 1946; and *Angiostrongylus chabaudi* Biocca, 1957. In rodents, 14 species have been described: *Angiostrongylus taterone* Baylis, 1928; *A. cantonensis*; *Angiostrongylus sciuri* Merdevenci, 1964; *Angiostrongylus mackerrasae* Bhaibulaya, 1968; *Angiostrongylus sandarsae* Alicata, 1968; *Angiostrongylus petrowi* Tarjymanova and Tschertkova, 1969; *Angiostrongylus dujardini* Drozd and Doby, 1970; *Angiostrongylus schmidtii* Kinsella, 1971; *A. costaricensis*; *Angiostrongylus malaysiensis* Bhaibulay and Cross, 1971; *Angiostrongylus ryjikovi* Jushkov, 1971; *Angiostrongylus siamensis* Ohbayashi, Kamiya, and Bhaibulaya, 1979; *Angiostrongylus morerae* Robles, Navone, and Kinsella, 2008; and *Angiostrongylus lenzii* Souza et al., 2009.

Angiostrongylus costaricensis was described from three female specimens and one male specimen, recovered from a patient during surgery. Chabaud (1972) raised the species to the new genus *Morerastrongylus*, but this proposal was not accepted by Anderson (1978) in revising the classification of nematodes. *A. costaricensis* (Figs. 1-3; 7) is a filiform nematode. The cephalic end is round and the esophagus is club-shaped (Fig. 1). The copulatory bursa is slightly asymmetric and well developed. The dorsal ray is short and bifurcates into arms terminating in sharp tips. On its ventral side, behind its bifurcation, there is a conspicuous papilla. The lateral rays emerge from a common trunk, widely separated from the ventral

rays, and the mediolateral and the posterolateral rays are fused in their proximal half. The anterolateral ray is thicker and separates from the common trunk just after its emergence from the trunk. The externodorsal ray arises close the lateral trunk and is well separated from the dorsal ray. Its distal end is knoblike. The ventral rays are fused except at the tips and the ventrolateral ray is slightly longer than the ventrolateral one. A gubernaculum is present with two branches that come together just before they terminate in the cloaca (Fig. 7). Behind the cloacal opening, there are three papillae. The spicules are slender, striated and of equal size. The caudal extremity of the female is roughly conical, with a small projection at the tip (Fig. 3) (Morera, 1973).

Angiostrongylus cantonensis was initially described as *Pulmonema cantonensis* Chen, 1935, a new genus, from specimens recovered from the lungs of naturally infected rats (*Rattus norvegicus* and *Rattus rattus*) collected in Canton, China. The adult worms of *cantonensis* (Figs. 4-6; 8) are characterized by a filiform body in both sexes, tapering at the anterior end. Females are larger and more robust than males. The cephalic vesicle is absent, the oral aperture is simple, circular and surrounded by six papillae (two dorsal, two lateral and two ventral) and two lateral amphids. The esophagus is claviform and the excretory pore is posterior to the esophagus (Fig. 4). The nerve ring is anterior to the middle of the esophagus, the male caudal bursa is small and slightly asymmetric, the ventroventral rays are smaller than the ventrolateral ones, with a common origin, bifurcated at the proximal half and do not reach the bursal margins. The dorsal ray is thick, bifurcating into three branches, with digitiform externodorsal rays separated at the base. The right mediolateral ray is thinner than the left one, with the right mediolateral and posterolateral rays bifurcating at the middle of the trunk and the left mediolateral and laterolateral rays at the distal third. The lateral rays arise from a common trunk, with the ventrolateral ray being cleft-shaped and smaller than the other lateral rays (Fig. 5). The gubernaculum is conspicuous and curved. Uterine tubules spiral around the blood-filled intestine, easily seen through the transparent cuticle. The tail is long and rounded without cuticle expansion and papillae, and is slightly ventrally curved (Fig. 6) (Thiengo et al., 2010).

	<i>Angiostrongylus costaricensis</i>		<i>Angiostrongylus cantonensis</i>	
	Male	Female	Male	Female
Body length	19.9	32.8	22.82	32.84
Width	0.28-0.31	0.32-0.35	0.35	0.48
Width at the base of esophagus	0.12-0.14	0.14-0.15	0.04	0.05
Esophagus	0.18-0.23	0.23-0.26	0.31	0.34
Nerve ring	-	-	0.09	0.10
Excretory pore	-	-	0.43	0.40
Spicules	0.32-0.33	-	1.29	-
Gubernaculum	-	-	0.08x0.02	-
Vuva-tail	-	0.24-0.29	-	0.19
Anus-tail	-	0.06-0.07	-	0.06
Eggs	-	-	-	0.06

Table 1. Measurements comparison of *Angiostrongylus costaricensis* from Costa Rica (Morera, 1973) and *Angiostrongylus cantonensis* from Brazil (Thiengo et al., 2010).

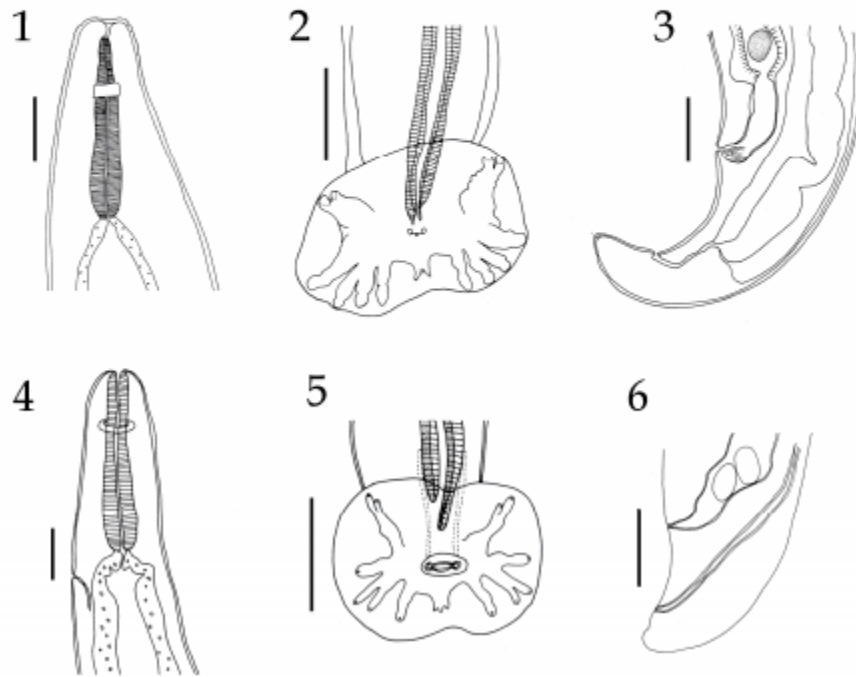


Fig. 1-3. *Angiostrongylus costaricensis*; 1. Anterior extremity, right lateral view, female. Scale bar: 50 μm . 2. Male, caudal bursa, ventral view. Scale bar: 100 μm . 3. Female, posterior extremity, lateral view. Scale bar: 100 μm . 4-6. *Angiostrongylus cantonensis*; 4. Anterior extremity, right lateral view, female. Scale bar: 100 μm . 5. Male, caudal bursa, ventral view. 6. Female, posterior extremity, lateral view. Scale bar: 100 μm .

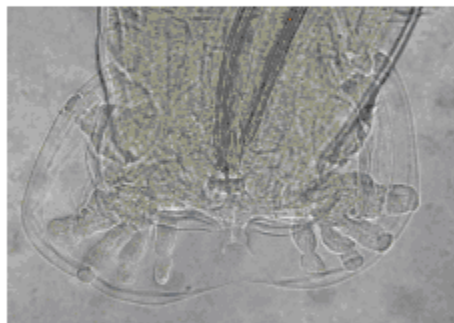


Fig. 7. Light microscopy of *Angiostrongylus costaricensis*. Scale bar: 100 μm .



Fig. 8. Light microscopy of *Angiostrongylus cantonensis*. Scale bar: 100 μ m.

3. Life cycle of main species of *Angiostrongylus* infecting man

Species of *Angiostrongylus* cause a nematode infection in domestic dogs and wild mammals (Anderson, 1978). Some species can accidentally infect humans, causing characteristic clinical symptoms of the disease: *A. cantonensis* and *A. costaricensis*, which respectively cause eosinophilic meningoencephalitis and abdominal disease in humans (Graeff-Teixeira et al., 1991a; Wang et al., 2008). The biological cycle of these helminths requires an intermediate host, usually a snail, and a definitive host, most often a wild rodent. Humans participate in the biological cycle as accidental hosts, since the cycle does not complete itself in people.

Infection by *A. costaricensis* happens when the definitive host ingests the snail, which can be infected with third stage larvae (L₃), or food contaminated with snail mucus. The larvae migrate to the ileocecal region, penetrating the intestinal wall and entering the lymphatic vessels, where they molt twice before migrating to the mesenteric arteries, where they reach sexual maturity. The females release eggs, which are carried by the bloodstream, causing embolisms in the arterioles and capillaries of the intestinal wall. The eggs hatch when they reach the first larval stage (L₁), penetrating the intestinal lumen, where they are released in the feces. To continue the cycle, the L₁ larvae must be ingested or actively penetrate the tissue of the intermediate host (Thiengo, 1996). After 19 days of the initial infection, the larvae will have molted twice (passing through the L₂ and L₃ stages, the latter of which is the infective stage for the definitive host). The wild rodents become infected by ingesting parasitized snails, mainly the species *Vaginulus (Sarasinula) plebeius* in Costa Rica (Morera, 1970) or *Phyllocaulis variegatus* (Semper, 1885) in Brazil (Graeff-Teixeira et al., 1989). The main rodent hosts are *Sigmodon hispidus* (Morera et al., 1970) and *Oligoryzomys nigripes* (Graeff-Teixeira et al., 1990) in these two countries, respectively. The worms reach sexual maturity in the mesenteric arterioles of the rodent *S. hispidus*, where they lay their eggs. The L₁ larvae are found in the feces 24 days after experimental infection (Morera, 1973; Motta & Lenzi, 1995).

Humans become infected by eating raw infected snails or food contaminated by snail mucoid secretions containing L₃ larvae. Although the helminth reaches sexual maturity and releases eggs that stimulate a granulomatous reaction in the infected person intestinal wall due to their degeneration, it does not produce L₁ larvae, thus interrupting the biological cycle.

The nematode *A. cantonensis* is commonly known as the lungworm because its niche in the adult phase is in the pulmonary arteries of the definitive host, in general the rodents *R. rattus* and *R. norvegicus*. In experimental infection of *R. norvegicus*, the female worm lays eggs inside the pulmonary arterioles, where they develop into the first-stage larvae (L₁), which then move to the interior of the alveoli. The larvae then migrate to the pharynx and are eliminated in the feces (Bhaibulaya, 1975; Yousif & Ibrahim, 1978). Land or freshwater snails are the principal intermediate hosts. They can become infected by ingestion of or penetration by L₁ larvae. The helminths then molt two times and become infective L₃ larvae, generally within 21 days after infection. Rats become infected by ingesting the intermediate hosts infected by L₃ larvae. These larvae then penetrate the intestinal wall and enter the bloodstream a few hours after being ingested. They reach the pulmonary circulation from the heart and are dispersed to various other organs by the arterial circulation. Many reach the brain and molt again, becoming L₄ larvae. The fifth molting into L₅ occurs in the subarachnoid space, from where after developing they migrate to the pulmonary arteries where they are found as of 25 days after infection. The worms then reach sexual maturity at around 35 days and the L₁ larvae can be found in the rodent's feces as of 42 days after the exposure to the previous generation of L₁ larvae (Weinstein et al., 1963; Bhaibulaya, 1975).

Humans become infected by eating raw or undercooked snails and slugs or through paratenic hosts (crabs, freshwater shrimps). In humans, the young larvae reach the brain, where they die rather than migrating further and terminating their development. This causes eosinophilic meningoencephalitis, which has neurological symptoms. Normally the infection is regenerative and does not kill the victim, but the parasitism can be serious enough to kill when there is massive exposure to infective L₃ larvae (Lima et al., 2009) (Fig. 9).

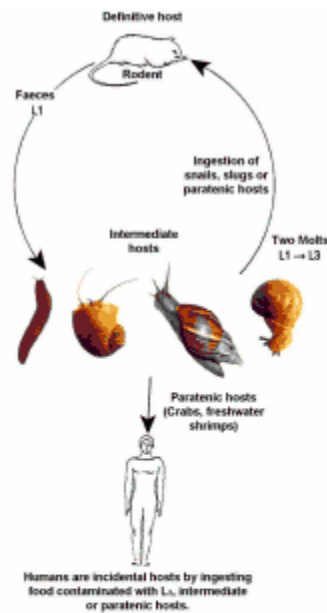


Fig. 9. Life cycle of *Angiostrongylus cantonensis*.

4. Endemic and exotic mollusks as intermediate hosts

The life cycle of *A. cantonensis* (Fig. 9) involves different species of terrestrial and freshwater gastropods as intermediate hosts. Mollusks become infected either by ingestion of L₁ present in the rat feces or by penetration of these larvae through the body wall or respiratory pores. In the mollusk tissues the L₁ molts twice (L₂ and L₃) and the period necessary for the development is around 15 days. Details of the life cycle may be seen in Cheng & Alicata, 1965; Chao et al. 1987 and Graeff-Teixeira et al. 2009.

Because the parasite displays broad nonspecificity for intermediate hosts, various species of terrestrial and freshwater mollusk species had been found naturally infected, such as: *Achatina fulica* Bowdich, 1822, *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821), *Subulina octona* (Bruguière, 1792), *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822), *Pomacea lineata* (Spix in Wagner, 1827); *Deroceras laeve* (Muller, 1774), *Pila* spp. (Wallace and Rosen, 1969; Malek and Cheng, 1974; Caldeira et al., 2007; Thiengo et al., 2010).

It is noteworthy in the epidemiology of the transmission of *A. cantonensis* the occurrence of paratenic hosts (or carrier hosts) such as land crabs, freshwater prawns, frogs and planarians. Those are passive hosts where the parasite does not undergo any development. However, they play an important role as they improve parasite opportunities (in time and space) to get the definitive host.

In China where *P. canaliculata* and *A. fulica* are widespread in the south of the country, the number of cases of eosinophilic meningoencephalitis has been increasing, and the transmission is linked to both species (Lv et al., 2008, 2009). In the last years, various outbreaks have been reported and the transmission in most of the cases was directly related to the consumption of *P. canaliculata*, considered currently the main cause of the spread of angiostrongyliasis in China (Lv et al. 2011).

The first cases of eosinophilic meningitis recorded to South America were to Brazil in 2007 and in 2008 and *A. fulica* was considered the vector for three out of the four reported cases. One of the cases reported to Pernambuco, Northeastern region, was attributed to the ingestion of undercooked *P. lineata* specimens (Caldeira et al., 2007; Lima et al., 2009; Thiengo et al., 2010). In fact, specimens of *A. fulica* have been found infected with *A. cantonensis* larvae from two of the main Brazilian regions, South and Southeast, in the last five years (Maldonado et al., 2010). Hence, the emergence of eosinophilic meningitis is a matter of concern in Brazil as it is currently experiencing the explosive phase of the invasion of *A. fulica*, recorded in 24 out of the 26 states and the Federal District (Thiengo et al., 2007; Zanol et al., 2010).

The life cycle of *A. costaricensis* is quite similar to that of *A. cantonensis*, although paratenic hosts do not occur.

To continue the cycle, the L₁ larvae must be ingested or actively penetrate the tissue of the intermediate host (Thiengo, 1996). After 19 days of the initial infection, the larvae will have molted twice (passing through the L₂ and L₃ stages, the latter of which is the infective stage for the definitive host). The wild rodents become infected by ingesting parasitized snails, mainly the species *Vaginulus (Sarasinula) plebeius* in Costa Rica (Morera, 1970) or *Phyllocaulis variegatus* (Semper, 1885) in Brazil (Graeff-Teixeira et al., 1989; Motta & Lenzi, 1995).

5. Parasitism by *Angiostrongylus costaricensis* and *Angiostrongylus cantonensis* in naturally infected rat populations

The nematode *A. costaricensis* has little specificity for its definitive host. The main hosts involved in its life cycle in nature are rodents of the Cricetidae family, although rodents of the Heteromyidae and Muridae families have also been found to be infected (Table 2). The rodent *S. hispidus* has been indicated as the principal natural host due to its abundance, parasite prevalence rates in Panama and aspects of its ecology (Rodríguez et al., 2000).

Definitive Host	Family	Country	References
Rodentia			
<i>Sigmodon hispidus</i>	Cricetidae	Costa Rica; Panamá; United States	Morera, 1970; Tesh et al., 1973; Ubelaker & Hall, 1979
<i>Rattus rattus</i>	Muridae	Costa Rica; Panamá; Puerto Rico; Guadalupe	Morera, 1970; Tesh et al., 1973; Andersen et al., 1986; Juminer et al., 1993;
<i>Rattus norvegicus</i>	Muridae	Guadalupe; Dominican Republic; Puerto Rico	Juminer et al., 1993; Vargas et al., 1992; Andersen et al., 1986
<i>Liomys adpersus</i>	Heteromyidae	Panamá	Tesh et al., 1973
<i>Zygodontomys microtinus</i>	Cricetidae	Panamá	Tesh et al., 1973
<i>Oryzomys fulvescens</i>	Cricetidae	Panamá	Tesh et al., 1973
<i>Oryzomys caliginosus</i>	Cricetidae	Colombia	Malek, 1981
<i>Oligoryzomys nigripes</i> (= <i>Oryzomys eliurus</i>)	Cricetidae	Brazil	Graeff-Teixeira et al., 1990
<i>Sooretamys angouya</i> (= <i>Oryzomys Ratticeps</i>)	Cricetidae	Brazil	Graeff-Teixeira et al., 1990
<i>Proechimys</i> sp.	Echimyidae	Venezuela	Santos, 1985
Didelphimorphia			
<i>Didelphis virginiana</i>	Didelphidae	United States	Miller et.al, 2006
Carnivora			
<i>Nasua narica bullata</i>	Procyinidae	Costa Rica	Morera, 1970
<i>Procyon lotor</i>	Procyinidae	United States	Miller et.al, 2006
Primates			
<i>Hylobates syndactylus</i>	Hylobatidae	United States	Miller et.al, 2006
<i>Aotus nancymae</i>	Aotidae	United States	Miller et.al, 2006
<i>Saguinus mystax</i>	Cebidae	Peru	Sly et al., 1982

Table 2. Vertebrate hosts infected with *Angiostrongylus costaricensis* in the Americas.

Other mammals have also been found naturally infected, such as the coati *Nasua narica bullata* in Costa Rica, in which parasitism by *A. costaricensis* was confirmed after experimental infection of *S. hispidus* from isolation of L₁ larvae obtained from the host's feces, and in specimens of the marmoset *Saguinus mystax* imported from Peru after histopathological examination, which demonstrated the presence of the adult worm in the lamina propria of the host's mesenteric artery.

Recently, *A. costaricensis* was reported parasitizing siamangs (*Hylobates syndactylus*), night monkeys (*Aotus nancymaae*), raccoons (*Procyon lotor*) and opossums (*Didelphis virginiana*) in a zoo in the United States (Miller et al., 2006).

In Brazil, only two species of cricetids rodents, *O. nigripes* and *Sooretamys angouya*, are involved in transmission of *A. costaricensis*, in the Southern region of the country (Graeff-Teixeira et al., 1990). Although no evidence has been found of the participation of wild rodents in the Southeastern region (Graeff-Teixeira et al., 2010), there are various reports of abdominal angiostrongyliasis in the Midwestern and Southeastern regions (Pena et al., 1995; Magalhães et al., 1982).

In the Americas in general, the presence of *R. rattus* and *R. norvegicus* infected by *A. cantonensis* confirms the endemism of this zoonosis in Cuba, the United States, Jamaica, Puerto Rico, Dominican Republic, Haiti and Brazil (Table 3). The infection rate of these rodents is highly variable (Wang et al., 2008) and does not suggest specificity among the murids. Some findings of infected rodents in urban areas are associated with epidemiological investigations after the occurrence of cases of eosinophilic meningoencephalitis, such as in Cuba, Jamaica and Brazil (Aguiar et al., 1981; Lindo et al., 2002; Simões et al., 2011).

Definitive Host	Family	Country	References
Rodentia			
<i>Rattus rattus</i>	Muridae	Jamaica; Haiti	Lindo et al., 2002; Raccurt et al., 2003
<i>Rattus norvegicus</i>	Muridae	Cuba; United States; Jamaica; Haiti; Brazil	Aguiar et al., 1981; Campbell & Little, 1988; Lindo et al., 2002; Raccurt et al., 2003; Simões et al., 2011
<i>Neotoma floridanus</i>	Cricetidae	United States	Kim et al., 2002
Didelphimorphia			
<i>Didelphis virginiana</i>	Didelphidae	United States	Kim et al., 2002
Primates			
<i>Varecia variegata rubra</i>	Lemuridae	United States	Kim et al., 2002

Table 3. Vertebrate hosts infected with *Angiostrongylus cantonensis* in the Americas.

Kim et al. (2002) reported *A. cantonensis* infection in a lemur (*Varecia variegata rubra*), in a wood rat (*Neotoma floridanus*) and in 4 opossums (*Didelphis virginiana*) in Louisiana, United States.

How *A. cantonensis* arrived and became established in the Americas is not well established, but Diaz (2008) attributed the spread of *A. cantonensis* to the American continents to the introduction of *R. norvegicus* by containers carried by ships. In Brazil, two arrival routes of this parasite have been postulated: in parasitized rats during the country's colonial period, when there was frequent contact with Africa and Asia (Maldonado et al., 2010) and/or by recent invasion of the African snail *A. fulica*, some two decades ago (Thiengo et al., 2007).

6. Geographic distribution of angiostrongyliasis in the Americas

The first report of abdominal angiostrongyliasis was in 1952 in children in Costa Rica (Céspedes et al., 1967; Morera, 1967). Nearly 20 years later, in the same country, the parasite

was reported naturally infecting *S. hispidus* and *R. rattus* (Cépedes & Morera, 1971). Since the description of this parasite, various cases have been reported in both South and North America, in countries including Honduras (Sierra & Morera, 1972), Venezuela (Zambrano, 1973), Mexico (Zavala et al., 1974), El Salvador (Sauerbrey, 1977), Brazil (Ziliotto et al., 1975), Ecuador (Lasso, 1985), Nicaragua (Duarte et al., 1991) and Guatemala (Kramer et al., 1998).

In the United States (Ubelaker & Hall, 1979; Hulbert et al., 1992), Colombia (Malek, 1981), Panama (Tesh et al., 1973) and Caribbean islands (Juminer et al., 1993; Jeandel et al., 1998), reports of the presence of the parasite in the definitive host preceded the finding of cases of abdominal angiostrongyliasis. It is thus possible that the distribution of this zoonosis in the Americas and the world at large is more ample than currently known.

Angiostrongyliasis caused by *A. cantonensis* was originally reported in Asia. It has been postulated that this zoonosis spread to the Americas in the twentieth century (Pascual et al., 1981), where there have been reports of sporadic outbreaks. The first report of eosinophilic meningoencephalitis occurred in Cuba (Aguar et al., 1981), followed by United States (News et al., 1995), Jamaica (Barrow et al., 1996), Brazil (Lima et al., 2009) and more recently Ecuador (Dorta-Contreras et al., 2011). After the reports of parasitism in humans, the naturally infected definitive host was identified, except in Ecuador. In contrast, in Puerto Rico, Dominican Republic and Haiti, only the parasite infecting snails and/or rats has been reported (Andersen et al., 1986; Vargas et al., 1992; Raccurt et al., 2003), with no cases of diseased reported so far.

7. Diagnostic methods for detection of abdominal angiostrongyliasis and eosinophilic meningoencephalitis

Abdominal angiostrongyliasis is caused by the presence of *A. costaricensis* worms in the mesenteric arteries of the ileocecal plexus, where they cause a predominantly eosinophilic granulomatous reaction in the mesentery, intestinal wall and lymph nodes. Although it is not generally a serious disease and frequently clears up spontaneously, its evolution to occlusion or perforation of the intestine can lead to death (Palomino et al., 2008). The main clinical signs include acute eosinophilic abdominal pain and occasionally fever (Morera, 1995). Palpation of the tumoral mass in the lower right abdominal quadrant, vomiting and anorexia suggest parasitism, but definitive diagnosis is only confirmed by observation of the worms inside the arteries after histological examination of biopsy material (Graeff-Teixeira et al., 1991). Laboratory diagnosis includes the serological latex agglutination test (Morera & Amador, 1998), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) Graeff-Teixeira et al., 1997) and indirect immunofluorescence assay (Abrahams-Sandi et al., 2011). Nevertheless, the choice of the antigen and specificity of the tests need improvement.

Presumptive diagnosis of angiostrongyliasis caused by *A. cantonensis* is mainly based on the clinical signs presented by the patients, which include eosinophilic meningitis, eosinophilic encephalitis and ocular angiostrongyliasis. The symptoms in general are not very specific and can include headache, vomiting, fever, history of paresthesia and neck stiffness (Sawanyawisuth & Sawanyawisuth, 2008). Results of laboratory analysis of the blood and cerebrospinal fluid showing readings of eosinophils above 10%, including serological tests, despite their low sensitivity (Eamsobhana & Yong, 2009), along with diagnosis by cerebral imaging, help to confirm the infection (Kampittaya et al., 2000). The information reported by

the patient, such as ingestion of the intermediate host snail or raw or undercooked paratenic hosts, is important to substantiate the diagnosis of eosinophilic meningoencephalitis caused by *A. cantonensis*. Confirmation of the parasitism by observation of the worm in the cerebrospinal fluid is not common (Yii, 1976; Punyagupta et al., 1975). More recently, infection has been confirmed by the presence of the helminth's DNA in the cerebrospinal fluid by real-time polymerase chain reaction (PCR) (Lima et al., 2009). The inflammatory process of the subarachnoid space and meninges is accompanied by intense eosinophilia and associated with an elevation in the number of eosinophils in the peripheral blood and cerebrospinal fluid (Tseng, et al., 2011).

8. Treatment of the infections and prophylaxis

The use of anthelmintics such as diethylcarbamazine, thiabendazole and levamisole to treat abdominal angiostrongyliasis is not recommended, because it can induce erratic migration of the worms and/or worsening of the lesions due to the inflammatory response to the death of the helminths at the infection sites (Morera & Bontempo, 1985). Therefore, any time possible, the treatment of choice is surgery (Cépedes et al., 1967).

The main procedure to treat eosinophilic meningoencephalitis is based on reduction of the symptoms by the use of analgesics and/or corticoids and careful removal of the cerebrospinal fluid (CSF) at frequent intervals (Slom et al., 2003). The combined use of albendazole and prednisolone for two weeks has been shown to be safe and effective (Chotmongkol et al., 2004). Generally, infections caused by *A. cantonensis* are slight or self-limiting and the prognosis is good. In a few weeks most of the symptoms disappear and rarely leave prolonged effects.

Prophylaxis for angiostrongyliasis requires some precautions: (a) consume snails or animals that can be intermediate or paratenic hosts only after adequate cooking; (b) do not consume raw vegetables that have not been hygienized by soaking in a sodium hypochlorite solution; (c) control the populations of snail vectors and synanthropic rats near houses and in planted fields; and (d) provide information to people on the ways *A. costaricensis* and *A. cantonensis* are transmitted as well as the measures to follow to minimize the risk of infection by the parasite.

9. Conclusion

Under public health point of view, the spread of *A. costaricensis* and *A. cantonensis* in the New World and the presence of rats and snails in the peridomestic area poses substantial risk for future outbreaks. Therefore, reinforce the need to awareness the population about the risk of contracting angiostrongyliasis and healthcare providers should consider these parasites in the American continent to detect in time and adequate medical response. Moreover, surveillance and control of intermediate and definitive host as well as health education should be done to avoid human infections.

As for eosinophilic meningitis the epidemiology of its transmission has got importance for travel medicine currently. The increasingly widespread travel of people worldwide has led to the detection of many imported cases of this zoonosis and noteworthy for the differential diagnosis of neurological disease in travel medicine (Graeff-Teixeira et al., 2009).

10. References

- Abrahams-Sandi, E., Mesén-Ramírez, P., Suarez-Chacón, D. & Fernández-Quesada, K. (2011). An indirect immunofluorescence antibody test employing whole eggs as the antigen for the diagnosis of abdominal angiostrongyliasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Vol.106, No.4, pp. 303-304
- Acha, P. & Szyfres, B. (2003). *Zoonoses and Communicable Diseases Man and Animals* (Third edition). Pan American Health Organization, Scientific and Tech. Publications, Washington, DC
- Aguiar, P., Morera, P. & Pascual, J. (1981). First record of *Angiostrongylus cantonensis* in Cuba. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol. 30, No. 5, pp. 963-965
- Alicata, J. & Jindrak, K. (1970). *Angiostrongylosis in the Pacific and Southeast Asia*. Chales C.Thomas, Springfield, Illinois.
- Alicata, J. (1965). Biology and distribution of the rat lungworm, *Angiostrongylus cantonensis*, and its relationship to eosinophilic meningoencephalitis and other neurological disorders of man and animals. *Advances in Parasitology*, Vol.3, pp. 223-248
- Alicata, J. (1991). The discovery of *Angiostrongylus cantonensis* as a cause of human eosinophilic meningitis. *Parasitology Today*, Vol.7, No. 6,pp.151-153
- Andersen, E., Gubler, D., Sorensen, K., Beddard, J. & Ash, L. (1986). First report of *Angiostrongylus cantonensis* in Puerto Rico. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol. 35, No.2, pp. 319-322
- Anderson, R. C. 1978. Keys to genera of the Superfamily Metastrongyloidea, In *CIH Keys to the nematodes parasites of vertebrates*, R.C. Anderson, A.G. Chabaud & S. Willmott (Eds.), 1-40, Common wealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Bucks, U. K.
- Archer, C. , Appleton, C. Mukaratirwa, S. & Hope, K. (2011). The rat lung-worm *Angiostrongylus cantonensis*: A first report in South Africa. *South Africa Medical Journal*, Vol.101, No.3, pp. 174-175
- Asato, R., Taira, K., Nakamura, M., Kudaka, J., Itokazu, K. & Kawanaka, M. (2004). Changing epidemiology of *Angiostrongylus cantonensis* in Okinawa Prefecture, Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, Vol.57, pp.184-186
- Ash, L. (1976). Observations on the role of mollusks and planarians in the transmission of *Angiostrongylus cantonensis* infection to man in New Caledonia. *Revista de Biologia Tropical*, Vol.24, No. 1, pp.163-174
- Bahaibulaya, M. (1975). Comparative studies on the life history of *Angiostrongylus mackerrasae* Bhaibulaya 1968 and *A. cantonensis* (Chen, 1935). *International Journal of Parasitology*, Vol.5, pp. 7-20
- Barrow, K., St Rose, A. & Lindo, J. (1996). Eosinophilic meningitis: is *Angiostrongylus cantonensis* endemic in Jamaica? *West Indian Medical Journal*, Vol. 45, No.2, pp. 70-71
- Caldeira, R., Mendonça, C., Gouveia, C., Lenzi, H., Graeff-Teixeira, C., Lima, W., Mota, E., Pecora, I., Medeiros, A. & Carvalho, O. (2007). First Record of molluscs naturally infected with *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935) (Nematoda: Mestastromyloidea) in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Vol.102, No.7, pp.887-889

- Campbell, R. & Little, M. (1988). The finding of *Angiostrongylus cantonensis* en rats in New Orleans. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol. 38, pp.568-573
- Céspedes, R., Salas, J., Mekbel, S., Troper, L., Mullner, F & Morera, P. (1967). Granulomas entéricos y linfáticos con intensa eosinofilia tisular producidos por um estromgilídeo (*Strongylata*). *Acta Médica Costarricense*, Vol. 10, pp. 235-255
- Chabaud, A. (1972). Description de *Stefanskostrongylus dubosti* n sp. parasite du Potamogale et essai de classification des Nématodes Angiostrongylineae. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, Vol. No., pp. 735-744
- Chao, D., Lin, C-C. & Chen, Y-A. (1987). Studies on growth and distribution of *Angiostrongylus cantonensis* larvae in *Ampullarium canaliculatus*. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, Vol.18, No.7, pp. 248-252
- Chen, H.T., 1935. Un nouveau nematode pulmonare. *Pulmonema cantonensis*, N. G., N sp. des rats de Canton. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, Vol.13, No.4, 312-317
- Cheng, T. & Alicata, J. (1965). On the modes of infection of *Achatina fulica* by the larvae of *Angiostrongylus cantonensis*. *Malacologia*, Vol.2, pp.267-274
- Chotmongkol, V., Wongjitrat, C., Sawadpanit, K. & Sawanyawisuth, K. (2004). Treatment of eosinophilic meningitis with a combination of albendazole and corticosteroid. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, Vol. 35, No. 1, pp.172-174
- Cross, J. & Chi, C. (1982). ELISA for the detection of *Angiostrongylus cantonensis* antibodies in patients with eosinophilic meningitis. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, Vol.13, No. 1, pp. 73-76
- Cross, J. (1987). Public health importance of *Angiostrongylus cantonensis* and its relatives. *Parasitology Today*, Vol. 3, No. 12, pp.367-369
- Dorta-Contreras, A., Padilla-Docal, B., Moreira, J., Robles, L., Aroca, J., Alarcón, F. & Bu-Coifu-Fanego, F. (2011). *Arquivo de Neuropsiquiatria*, Vol. 69, No.3, pp. 466-469
- Diaz, J. (2008). Helminth eosinophilic meningitis: emerging zoonotic diseases in the South. *Journal of the Louisiana State Medical Society*, Vol.160, No. 6, pp. 333-342
- Dougherty, E. (1946). The genus *Aelulostrongylus* Cameron, 1927 (Nematoda : Metastrongylidae) and its relatives with description of *parafilaroides* gen. Nov., and *Angiostrongylus gubernaculatus* sp. nov. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, Vol.13, pp. 16-26
- Drozd, J. (1970). Révision de le systématique du genre *Angiostrongylus* Kamensky, 1905 (Nematoda : Metastronguloidea). *Annales de Parasitologie (Paris)*, Vol.45, No.5, pp. 597-603
- Duarte, Z., Moreira, P. & Vuong, P. (1991). Abdominal angiostrongyliasis in Nicaragua: a clinico-pathological study on a series of twelve case reports. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, Vol.66, No.6, pp. 259-262
- Eamsobhana, P. & Yong, H. (2009). Immunological diagnosis of human angiostrongyliasis due to *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Angiostrongylidae). *International Journal of Infectious Diseases*, Vol.13, No.4, pp. 425-31
- Foronda, P., López-González, M., Miquel, J., Torres, J., Segovia, M., Abreu-Costa, N., Casanova, J., Valladares, B., Mas-Coma, S., Bargues, M. & Feliu, C. (2010). Finding

- of *Parastrongylus cantonensis* (Chen, 1935) in *Rattus norvegicus* in Terrife, Canary Island (Spain). *Acta Tropica*, Vol.114, pp. 123-127, 2010
- Graeff-Teixeira, C., Camillo-Coura, L. & Lenzi, H. (1987). Abdominal angiostrongyliasis-an underdiagnosed disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Vol.82, No.4, pp 353-354
- Graeff-Teixeira, C., Thomé, J., Pinto, S., Camillo-Coura, L. & Lenzi, H. (1989). *Phyllocaulis variegatus* - an intermediate host of *Angiostrongylus costaricensis* in South Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol.84, No.1, pp. 65-68
- Graeff-Teixeira, C., Pires, F., Machado, R., Camillo-Coura, L. & Lenzi, L. (1990). Identificação de Roedores Silvestres como hospedeiros do *Angiostrongylus costaricensis* no sul do Brasil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, Vol.32, No.3, pp. 147-150
- Graeff-Teixeira, C., Camillo-Coura, L., Lenzi, H. (1991a). Angiostrongiliase Abdominal - Nova Parasitose no Sul do Brasil. *Revista da Associação Médica do Rio Grande do Sul*, Porto Alegre, Vol.35, No.2, pp. 91-98
- Graeff-Teixeira, C., Camillo-Coura, L., Lenzi, H. (1991b). Histopathological criteria for the diagnosis on abdominal angiostrongyliasis. *Parasitology Research*, Vol.77, No.7, pp. 606-611
- Graeff-Teixeira, C., Agostini, A., Camillo-Coura, L. & Ferreira-da-Cruz, M. (1997). Seroepidemiology of abdominal angiostrongyliasis: the standardization of an immunoenzymatic assay and prevalence of antibodies in two localities in southern Brazil. *Tropical Medicine & International Health*, Vol.2, No.3, pp. 254-260
- Graeff-Teixeira, C., Silva, A. & Yoshimura, K. (2009). Update on Eosinophilic Meningoencephalitis and its Clinical Relevance. *Clinical Microbiology Reviews*, pp.322-348
- Jeandel, R., Fortier, G., Pitre-Delaunay, C. & Jouannele, A. (1988). *Angiostrongylus intetsinalis* à *Angiostrongylus costaricensis*. A propôs d'un case em Martinique. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, Vol. 2, No. , pp. 390-393
- Juminer, B., Borel, G., Mauleon, H., Durette-Desset, M., Raccurt, C., Roudier, M., Nicolás, M. & Péres, J. (1993). Natural murine infestation by *Angiostrongylus costaricensis* Morera and Céspedes, 1971, in Guadalupe. *Bulletin de la Societé de Pathologie Exotique*, Vol.86, No.5, pp. 502-505
- Kaminsky, R., Caballero, R. & Andrews, K. (1995). Presencia de *Angiostrongylus costaricensis* en Honduras y sus relaciones agro-ecológicas y humanas. *Parasitología al Día*, Vol. 19, No. 1, pp. 81-90
- Kanpittaya, J., Jitipmolmard, S., Tiamkao, S. & Mairiang, E. (2000). MR findings of eosinophilic meningoencephalitis attributed to *Angiostrongylus cantonensis*. *Am. J. Neuroradiol*, Vol.21, No.6, pp. 1090-1094
- Kliks, M. & Palumbo, N. (1992). Eosinophilic meningitis beyond the Pacific basin: The global dispersal of a peridomestic zoonosis caused by *Angiostrongylus cantonensis*, the nematode lungworm of rats. *Social Science and Medicine*, Vol.34, No.2, pp.199-212
- Kramer, M., Greer, G., Quinonez, J., Padilla, N., Hernandez., Barana, B., Lorenzana, R., Moreira, P., Hightower, A., Eberhard, M. & Herwaldt, B. (1998). First reported outbreak of abdominal angiostrongyliasis. *Clinical Infectious Diseases*, Vol.26, No.2, pp. 365-372

- Lasso, R. 1985. Angiostrongyliasis em Ecuador. *Universidad de Guayaquil Comisión de Ciencia y tecnología Boletín informativo*, No.3
- Lima, A., Mesquita, S., Santos, S., Aquino, E., Rosa, L., Duarte, F., Teixeira, A., Costa, Z. & Ferreira, M. (2009) Alicata disease: neuroinfestation by *Angiostrongylus cantonensis* in Recife, Pernambuco, Brazil. *Arquivos de Neuropsiquiatria*, Vol.67, No.4, pp. 1093-1096
- Lindo, J., Waugh, C., Hall, J., Cunningham-Myrie, C., Ashley, D., Eberhard, M., Sullivan, J., Bishop, H., Robinson, D., Holtz, T. & Robinson, R. (2002). Enzootic *Angiostrongylus cantonensis* in rats and snails after outbreak of human eosinophilic meningitis Jamaica. *Emerging Infectious Diseases*, Vol.8, No.3, pp. 324-326
- Lv S, Zhang Y, Steinmann P. & Zhou XN 2008. Emerging angiostrongyliasis in mainland China. *Emerging Infectious Diseases*, Vol.14, No.1, pp.161-164
- Lv, S., Zhang, Y, Liu H., Zhang, C., Steinmann, P., Zhou, X. & Utzinger, J. (2009). *Angiostrongylus cantonensis*: morphological and behavioral investigation within the freshwater snail *Pomacea canaliculata*. *Parasitology Research*, Vol.3, No.2, 368
- Lv, S., Zhang, Y., Steinmann, P., Yang, G-J., Yang, K., Zhou, X-N. & Utzinger, J. (2011). The emergence of angiostrongyliasis in the People's Republic of China: the interplay between invasive snails, climate change and transmission dynamics. *Freshwater Biology*, Vol.56, No.4, pp. 717-734
- Magalhães, A., Andrade, G., Koh, L., Soares, M., Alves, E., Tubino, P., Santos, F. & Raick, A. (1982). Novo caso de angiostrongilose abdominal. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, Vol.24, No.4, pp. 252-256
- Maldonado Jr., A, Simões, R., Oliveira, A., Motta, E., Fernandez, M., Pereira, Z., Monteiro, S., Torres, E., Thiengo, S. (2010) First report of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongylidae) in *Achatina fulica* (Mollusca: Gastropoda) from Southeast and South regions of Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* Vol.105, No.7, pp. 938-941
- Malek, E. & Cheng, T. (1974). *Medical and Economic Malacology*. Academic Press, New York, London
- Malek, E. (1981). Presence of *Angiostrongylus costaricensis* Morera and Céspedes, 1971 in Colombia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol.30, No.1, pp. 81-83
- Miller, C., Kinsella, J., Garner, M., Evans, S., Gullet, P. & Schmidt, R. (2006). Endemic infections of *Parastrongylus* (= *Angiostrongylus*) *costaricensis* in two species of non human primates, raccons, and opossum from Miami, Florida. *Journal of Parasitology* Vol.92, No.2, pp. 406-408
- Morera, P. (1967). Granulomas entericos y linfaticos con intensa eosinophilia tisular producidos por um strongilideo (Strongylata; Railliet y Henry, 1913): II. Aspectos parasitológico. *Acta Médica Costarricense*, Vol. 10, pp. 257-265
- Morera, P. (1970). Investigación del huésped definitivo de *Angiostrongylus costaricensis* (Morera y Céspedes, 1971). *Boletín Chileno de Parasitología*, Santiago, Vol.25, pp.133-134
- Morera, P. (1973). Life History and Redescription of *Angiostrongylus costaricensis* Moreira and Céspedes. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol.22, No.5, pp. 613-621

- Morera, P. (1988). Angiostrongilosis abdominal: um problema de salud pública? *Revista de la Sociedad Guatemalteca de Parasitología y Medicina Tropical*, Vol.2, No.1, pp. 9-11
- Morera, P. (1995). Abdominal angiostrongyliasis, In: *Enteric infection: intestinal helminths*, P. Morera (Ed.), 225-230, Chapman & Hall, London
- Morera, P. & Céspedes, R. (1971). *Angiostrongylus costaricensis* n. sp. (Nematoda: Metastrongyloidea), a new lungworm occurring in man in Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, Vol.50, No.2, pp. 377-394
- Morera, P. & Bontempo, I. (1985). Accion de lagunos antohelminticos sobre *Angiostrongylus costaricensis*. *Revista Medica del Hospital Nacional de Niños Costa Rica*, Vol.20, pp.165-174
- Morera, P. & Amador, J. (1998). Prevalencia de la angiostrongilosis abdominal y la distribución estacional de la precipitación. *Revista Costarricense de Salud Pública*, Vol.7, No.13, pp. 1-14, ISSN 1409-1429
- Motta, E. & Lenzi, H. (1995). *Angiostrongylus costaricensis* life cycle: a new proposal. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Vol.90, No.6. PP.707-709
- Narain, K., Mahanta, J., Dutta, R. & Dutta, P. (1994). Paddy Field dermatitis in Assam: A cercarial dermatitis. *Journal of Communicable Disease*, Vol.26, No.1, pp.26-30
- Narain, K., Mahanta, J., Dutta, R. & Dutta, P. (1994). Paddy Field dermatitis in Assam: A cercarial dermatitis. *Journal of Communicable Disease*, Vol.26, No.1, pp.26-30
- New, D., Little, M. & Cross, J. (1995). *Angiostrongylus cantonensis* infection from eating raw snails. *The New England Journal of Medicine*, Vol.332, No.16, pp. 1105-1106
- Palominos, P., Gasnier, R., Rodriguez, R., Agostini, A. & Graeff-Teixeira, C. (2008). Individual serological follow-up of patients with suspected or confirmed abdominal angiostrongyliasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Vol.103, No.1, pp. 93-97
- Pascual, J., Bouli, R. & Aguiar, H. (1981). Eosinophilic meningoencephalitis in Cuba, caused by *Angiostrongylus cantonensis*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol. 30, No. 5, pp. 960-962
- Prociv, P., Spratt, D. & Carlisle, M. (2000). Neuro-angiostrongyliasis: unresolved issues. *International Journal of Parasitology*, Vol.30, No.12-13, pp.1295-1303
- Punyagupta, S., Juttijudata, P. & Bunnag, T. (1975). Eosinophilic meningitis in Thailand. Clinical studies of 484 typical cases probably caused by *Angiostrongylus cantonensis*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol.21, No.6, pp. 921-931
- Raccurt, C., Blaise, J. & Durette-Desset, M. (2003). Présence d'*Angiostrongylus cantonensis* en Haiti. *Tropical Medicine and International Health*, Vol.8, No.5, pp. 423-426
- Rodríguez, B., Gonzáles, R. & Chinchilla, M. (2000). Helmintos parásitos de la rata *Sigmodon hispidus* (Rodentia: Cricetidae) de un hábitat estacional y otro perenne en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, Vol.48, No. 1, pp. 121-123
- Sauerbrey, M. (1977). A precipitin test in the diagnosis of human abdominal angiostrongyliasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol. 26, No.6, pp. 1156-1158
- Sawanyawisuth, K. & Sawanyawisuth, K. (2008). Treatment of angiostrongyliasis. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol.102, No.10, pp. 990-996
- Sierra, E. & Morera, P. (1972). Angiostrongilosis abdominal. Primer caso humano encontrado em Honduras (Hospital Evangélico de Siguatepeque). *Acta Médica Costarricense*, Vol.14, pp. 95-99

- Simões, R., Monteiro, F., Sánchez, E., Thiengo, S., Garcia, J., Costa-Neto, S., Luque, J. & Maldonado Jr., A. (2011). Endemic Angiostrongyliasis, Rio de Janeiro, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, Vol.17, No.7, pp. 1331-1333
- Slom, T. & Johnson, S. (2003). Eosinophilic Meningitis. *Current Infection Disease Reports*, Vol.5, No.4, pp. 322-8
- Tesh, R., Ackermann, L., Dietz, W. & Williams, J. (1973). *Angyostrongylus costaricensis* in Panamá. Prevalence and Pathologic Findings in wild rodents infected with this parasite. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol.22, No.3, pp.348-356
- Thiengo, S. (1996). Mode of infection of Molluscs with *Angiostrongylus costaricensis* larvae (Nematoda). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Vol.91, No.3, pp. 277-288
- Thiengo, S., Faraco, F., Salgado, N., Cowie, R. & Fernandez, M. (2007). Rapid spread of an invasive snail in South America: the giant African snail, *Achatina fulica*, in Brasil. *Biological Invasions*, Vol.9, No.6, pp.693-702
- Thiengo, S., Maldonado, A., Mota, E., Torres, E., Caldeira, R., Oliveira, A., Simões, R., Fernandez, M. & Lanfredi, R. (2010). The giant African snail *Achatina fulica* as natural intermediate host of *Angiostrongylus cantonensis* in Pernambuco, northeast Brazil. *Acta Tropica*, Vol.115, No.3, pp. 194-199
- Ubelaker, J. & Hall, N. (1979). First report of *Angiostrongylus costaricensis* Morera and Céspedes, 1971 in the United States. *Journal of Parasitology*, Vol.65, pp. 307, ISSN 0399-8320
- Ubelaker, J. (1986). Systematics of species referred to the genus *Angiostrongylus*. *Journal of Parasitology*, Vol.72, No.2, pp. 237-244
- Ubelaker, J., Bullick, G. & Caruso, J. (1980). Emergence of third-stage larvae of *Angiostrongylus costaricensis* Morera and Céspedes 1971 from *Biomphalaria glabrata* (Say). *Journal of Parasitology*, Vol.66, pp.856-857
- Vargas, M., Gomez Perez, J. & Malek, E. (1992). First record of *Angiostrongylus cantonensis* (Chen 1935) (Nematoda: Metastrongylidae) in the Dominican Republic. *Tropical Medicine and Parasitology*, Vol.43, No.4, pp. 253-255
- Wang, Q., Lai, D., Zhu, X., Chen, X. & Lun, Z. (2008). Human angiostrongyliasis. *The Lancet Infectious Diseases*, Vol.8, No.10, pp. 621-30
- Wallace, G. & Rosen, L. (1969). Studies on eosinophilic meningitis V- Molluscan hosts of *Angiostrongylus cantonensis* on Pacific Islands. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol.18, No.2, pp.206-216
- Weinstein, P., Rosen, L., Laqueuer, G. & Sawyer, T. (1963). *Angiostrongylus cantonensis* infection in rats and rhesus monkeys, and observations on the survival of the parasite in vitro. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol.12, pp. 358-377
- Yü, C. (1976). Clinical observations on eosinophilic meningitis and meningoencephalitis caused by *Angiostrongylus cantonensis* on Taiwan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol.25, No.2, pp. 233-249
- Yousif, F. & Ibrahim, A. (1978). The first record of *Angiostrongylus cantonensis* from Egypt. *Vol.56*, pp. 73-80
- Zambrano, Z. (1973). Ileocolitis pseudotumoral eosinofílica de origen parasitario. *Revista Latinoamericana de Patología*, Vol.12, No., pp.43-50

- Zanol, J., Fernandez, M., Oliveira, A., Russo, C. & Thiengo S. (2010). The exotic invasive Snail *Achatina fulica* (Stylommatophora, Mollusca) in the State of Rio de Janeiro (Brazil): current status. *Biota Neotropica*, Vol.10, No.3, pp. 447-451
- Zavala, V., Ramírez, B., Reyes, P. & Bates, F. (1974). *Angiostrongylus costaricensis*. Primeiros casos Mexicanos *Revista de investigación clínica (Mexico)*, Vol.26, No. ,pp.389-394
- Zilioto, A., Kunzle, J., Rus Fernandes, L., Prates-Campos, C. & Britto-Costa, R. (1975). Angiostrongilíase: apresentação de um provável caso. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, Vol.17, No.5, pp. 312-318.



Zoonosis

Edited by Dr. Jacob Lorenzo-Morales

ISBN 978-953-51-0479-7

Hard cover, 436 pages

Publisher InTech

Published online 04, April, 2012

Published in print edition April, 2012

Zoonotic diseases are mainly caused by bacterial, viral or parasitic agents although "unconventional agents" such as prions could also be involved in causing zoonotic diseases. Many of the zoonotic diseases are a public health concern but also affect the production of food of animal origin thus they could cause problems in international trade of animal-origin goods. A major factor contributing to the emergence of new zoonotic pathogens in human populations is increased contact between humans and animals. This book provides an insight on zoonosis and both authors and the editor hope that the work compiled in it would help to raise awareness and interest in this field. It should also help researchers, clinicians and other readers in their research and clinical usage.

How to reference

In order to correctly reference this scholarly work, feel free to copy and paste the following:

Arnaldo Maldonado Jr., Raquel Simões and Silvana Thiengo (2012). Angiostrongyliasis in the Americas, Zoonosis, Dr. Jacob Lorenzo-Morales (Ed.), ISBN: 978-953-51-0479-7, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/zoonosis/angiostrongyliasis-in-the-americas>

INTECH

open science | open minds

InTech Europe

University Campus STeP Ri
Slavka Krautzeka 83/A
51000 Rijeka, Croatia
Phone: +385 (51) 770 447
Fax: +385 (51) 686 166
www.intechopen.com

InTech China

Unit 405, Office Block, Hotel Equatorial Shanghai
No.65, Yan An Road (West), Shanghai, 200040, China
中国上海市延安西路65号上海国际贵都大饭店办公楼405单元
Phone: +86-21-62489820
Fax: +86-21-62489821