

Efeito de variáveis ambientais na evolução de ovos de *Toxocara canis* em condições experimentais

Effects of some environmental factors on *Toxocara canis* eggs evolution in experimental conditions

Maisa Leite Queiroz¹, Fernanda Moreira Gomes Mehlmann¹, Maria Aparecida Paschoalotti¹,
Susana Angélica Zevallos Lescano², Pedro Paulo Chieffi^{1,2}

Resumo

Estudou-se o efeito da exposição de ovos de *Toxocara canis*, obtidos por dissecação de fêmeas e mantidos por cinco semanas em amostras de solo arenoso, contidas em placas de Petri, a diversas variáveis de ordem ambiental. Testou-se o efeito da temperatura, luminosidade, umidade e salinidade sobre a capacidade de se formarem larvas no interior dos ovos. Os resultados obtidos indicam efeito deletério de baixas temperaturas, da falta de luminosidade e do baixo teor de umidade sobre os ovos de *Toxocara canis*, nas condições em que foi realizado o experimento. A manutenção dos ovos a temperatura ambiente (variável entre 20 e 24°C), bem como sua exposição a temperaturas baixas (4 a 8°C) durante duas semanas, seguida de três semanas a temperatura ambiente, a elevado teor de umidade e a ambiente com salinidade equivalente à da água do mar, resultou em evolução para formas infectantes da maioria dos ovos testados.

Descritores: *Toxocara canis*, Ovos/parasitologia, Temperatura ambiente, Luz, Umidade, Salinidade

Abstract

Eggs of *Toxocara canis*, obtained after dissection from the uterus of females, had been experimentally tested with some environmental factors on Petri dishes filled up with sandy samples, during a period of five weeks. The effects of

environmental temperature, luminosity, humidity and salinity were analyzed. Low temperatures, lack of luminosity and low level of environmental humidity showed deleterious effects on the development of *Toxocara canis* eggs. On the other hand, the maintenance of eggs at temperatures ranging from 20 to 24°C or at 4 – 8°C during two weeks and after to 20 – 24°C for the next three weeks resulted in high level of egg's development. Similar results had been found when *Toxocara canis* eggs were exposed either to high level of environmental humidity or to soil samples with high level of salinity.

Key words: *Toxocara canis*, Egg/parasitology, Temperature, Light, Humidity, Salinity

Introdução

A contaminação do solo por ovos de *Toxocara canis*, eliminados por cães infectados, é o principal fator responsável pela infecção de seres humanos por esse ascarídeo, ocasionando zoonose com distribuição cosmopolita, que pode resultar na síndrome de larva migrans visceral^(1,14,16). Inúmeros trabalhos têm assinalado a frequente contaminação do solo por ovos de *Toxocara* spp.⁽¹⁾; vários realizados em diversas regiões brasileiras^(3,4,8,9,12) e alguns assinalaram a ocorrência de variações sazonais na presença de ovos de *Toxocara* no solo^(5,15).

No presente trabalho procurou-se determinar o efeito de variações na temperatura, luminosidade e umidade ambientais, bem como da concentração salina do solo, no processo de evolução de ovos de *T. canis*, condição indispensável para garantir sua viabilidade e capacidade de infectar hospedeiros paratênicos, entre os quais se destacam seres humanos.

Material e métodos

Placas de Petri contendo amostras de solo arenoso, previamente esterilizadas por aquecimento a 150°C por 40 minutos, foram contaminadas com ovos de *T.*

1. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – São Paulo - Brasil

2. Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (LIM 06) – São Paulo - Brasil

Trabalho realizado: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (LIM 06)

Endereço para correspondência: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Departamento de Ciências Patológicas. Rua Dr. Cesário Mota Jr, 112 – Santa Cecília - 01221-020 – São Paulo – SP / Fone: 3226.7499

canis e mantidas nas condições do experimento durante 5 semanas.

Em seis placas testou-se o efeito da variação da temperatura sobre o embrionamento de ovos de *T. canis*, segundo a seguinte critério:

- temperatura ambiente (20°C – 24°C)
- 37°C (placa mantida em estufa)
- 4°C a 8°C (placa mantida em refrigerador)
- 4°C a 8°C durante duas semanas e temperatura ambiente nas outras três semanas
- -18°C (placa mantida em freezer)
- -18°C durante duas semanas e temperatura ambiente nas outras três semanas

Na estufa, no refrigerador e no freezer foram instalados dispositivos que permitiram manter as placas em ambiente que alternava ciclo claro/escuro a cada 12 horas.

O efeito da luminosidade foi testado em quatro placas, todas mantidas a temperatura ambiente, conforme consta abaixo:

- ciclo claro/escuro, com 12 horas de duração
- escuridão total
- ambiente claro continuamente
- ambiente escuro durante duas semanas e ciclo claro/escuro cada 12 horas nas outras três

A influência da umidade foi avaliada em duas placas a temperatura ambiente; uma mantida em câmara úmida e outra em ambiente submetido à dessecação. Por fim, em uma única placa, mantida em temperatura ambiente, acrescentou-se solução de NaCl (3,5g/100ml) para determinar a influência da salinidade no embrionamento de ovos de *T. canis*.

Ao final de cinco semanas coletaram-se 10 alíquotas de cada placa utilizada no experimento. As amostras obtidas foram submetidas a exame, por meio de técnica de flutuação em solução supersaturada de

dicromato de sódio (d=1,35), para recuperação dos ovos de *Toxocara canis*. Os ovos recuperados foram classificados de acordo com o estágio evolutivo em que se encontravam em larvados, quando se verificou a presença de larva em seu interior com ou sem movimento ou não larvados, quando mantinham aspecto morfológico semelhante ao observado no início do experimento, denotando parada no processo de evolução do embrião.

Resultados

Os resultados obtidos em cada experimento estão resumidos na tabela abaixo.

Discussão

Há referências na literatura acerca da influência positiva de solos de constituição argilosa na evolução de ovos de ascarídeos⁽²⁾, quando comparados aos de natureza arenosa. Todavia, em condições experimentais, observou-se maior facilidade de recuperação de ovos de *Toxocara canis* em solos do tipo arenoso⁽⁶⁾, provavelmente por apresentarem menor adesividade, facilitando o encontro e recuperação de ovos desse ascarídeo. Por esse motivo a presente investigação foi efetuada utilizando-se amostras de solo arenoso.

Ovos de ascarídeos e, em particular, de *Toxocara canis* são bastante resistentes a condições ambientais, mantendo-se viáveis no solo por longos períodos⁽²⁾. Lescano et al⁽¹³⁾, trabalhando em condições experimentais observaram que ovos de *Toxocara canis*, armazenados a 28°C, em solução de formol a 2%, conservavam-se viáveis até pelo menos 11 meses. Por outro lado, Chung et al⁽⁷⁾ verificaram que se mantidos a 4°C, em formol a 2%, ovos de *Toxocara canis* poderiam conser-

Tabela 1

Frequência (%) de ovos de *Toxocara canis* recuperados, após manutenção por cinco semanas em amostras de solo arenoso submetidas a condições variáveis

Variáveis	Ovos não larvados (%)	Ovos larvados (%)
Temperatura ambiente (20-24°C)	20,5	79,5
37°C	64,7	35,3
4-8°C	100,0	-
4-8°C/temp. ambiente	32,2	67,8
-18°C	100,0	-
-18°C/temp. ambiente	0,5	99,5
Ciclo claro/escuro cada 12 horas	21,0	79,0
Escuridão total	94,2	5,8
Claridade contínua	39,3	60,7
Escuridão duas semanas e ciclo claro/escuro três semanas	11,8	88,2
Câmara úmida	43,4	56,6
Ambiente seco	92,9	7,1
Salinidade alta	31,3	68,7

var por cerca de 21 meses sua viabilidade, sendo capazes ainda de infectar camundongos. É possível, entretanto, que em condições naturais, quando submetidos à influência da presença de outros microrganismos, os ovos de ascarídeos se comportem de forma diversa, permanecendo viáveis por períodos menores.

A exposição à luz mostrou-se decisiva na evolução e viabilidade de ovos de *Toxocara canis* no experimento efetuado por Guillen-Llera et al⁽¹¹⁾: ovos mantidos em obscuridade não conseguiram evoluir para a fase de larva de primeiro estágio. Por sua vez, Gamboa⁽¹⁰⁾ mostrou que ovos de *Toxocara canis* desenvolvem-se mais rapidamente quando mantidos a temperaturas mais elevadas; entretanto, quando submetidos a 34°C observou-se diminuição nas taxas de sobrevivência e viabilidade. Ao mesmo tempo esse autor verificou melhor sobrevivência de ovos de *Toxocara canis* quando mantidos em ambiente com umidade mais elevada.

No presente experimento os ovos de *Toxocara canis* foram submetidos a condições mais próximas das naturais, não se utilizando solução de formol, que impediria o desenvolvimento de outros microrganismos na placa onde foram semeados. Este fato talvez explique discrepâncias observadas com os resultados de outros autores^(7,10) na taxa de viabilidade observada. Assim, a manutenção a baixas temperaturas foi deletéria para os ovos, verificando-se ausência de larvas em seu interior, após 35 dias. Entretanto, quando após duas semanas de exposição a temperatura variável entre 4 e 8°C os ovos foram submetidos a temperatura ambiente, que variou entre 20 e 24°C, 67,8% apresentaram formação de larva em seu interior (Tabela 1). O mesmo não ocorreu, todavia, quando nas duas primeiras semanas os ovos foram expostos a temperatura de -18°C, mesmo que apenas por duas semanas.

No que diz respeito à influência da luz os resultados do presente trabalho coincidem com os de Guillen-Llera et al⁽¹¹⁾, revelando que ovos mantidos em regime de alternância de períodos de escuridão e luminosidade, a cada 12 horas, apresentaram formação de larva em seu interior em 79% dos casos. Também não exerceu efeito deletério sobre a evolução dos ovos sua manutenção por duas semanas em ambiente escuro, quando nas três semanas seguintes foram submetidos a regime de alternância de escuridão e luminosidade (Tabela 1).

A investigação do efeito da umidade na evolução dos ovos de *Toxocara canis* coincidiu com os dados de Gamboa⁽¹⁰⁾, que assinalou a importância do teor de umidade ambiente para a manutenção de viabilidade dos ovos. No presente trabalho notou-se a não formação de larvas no interior de 92,9% dos ovos mantidos em ambiente seco, enquanto 56,6% daqueles armazenados em câmara úmida apresentaram evolução favorável.

Finalmente é importante destacar que, no presente trabalho, ovos de *Toxocara canis* mantidos em ambiente cujo teor de salinidade se compara ao da água do mar apresentaram taxa de evolução semelhante a daqueles que foram mantidos em solo com baixa salinidade, sugerindo possibilidade de evolução e sobrevivência dos ovos em regiões litorâneas submetidas à influência das marés.

Referências Bibliográficas

1. Barriga OO. A critical look at the importance, prevalence and control of toxocarasis and the possibilities of immunological control. Vet Parasitol. 1988; 29:195-234.
2. Beaver PC. Biology of soil-transmitted helminths: the massive infection. Health Lab Sci. 1975; 12:116-25.
3. Campos DMB, Leão DA, Isac E, Calil F. Pesquisa de ovos de *Toxocara* SP. em localidades públicas de Goiânia, Goiás. II. Comparação de métodos de exame. Rev Patol Trop. 1987; 16:7-11.
4. Chieffi PP, Müller EE. Prevalência de parasitismo por *Toxocara canis* em cães e presença de ovos de *Toxocara* sp. no solo de localidades públicas da zona urbana do município de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. Rev Saúde Públ. 1976; 10:167-72.
5. Chieffi PP, Müller EE. Estudo da variação mensal na contaminação do solo por ovos de *Toxocara* sp. (Nematoda, Ascaroidea), na zona urbana do município de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. Rev Inst. Adolfo Lutz. 1978; 38:13-6.
6. Chieffi PP, Queiroz, ML, Mehlman F, Paschoalotti MA. Recovering of *Toxocara canis* eggs from samples of experimentally contaminated soil. Rev Inst Med Trop S Paulo. 2008; 50: 361-2.
7. Chung LY, Fang BH, Chang JH, Chye SM, Yen CM. The infectivity and antigenicity of *Toxocara canis* eggs can be retained after long-term preservation. Ann Trop Med Parasitol. 2004; 98:251-60.
8. Coelho LMPS, Dini CY, Milman MHSA, Oliveira SM. *Toxocara* sp. eggs in public squares of Sorocaba, São Paulo State, Brazil. Rev Inst Med Trop S Paulo. 2001; 43:189-91.
9. Costa-Cruz JM, Nunes RS, Buso AG. Presença de ovos de *Toxocara* spp. em praças públicas da cidade de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. Rev Inst Med Trop S Paulo. 1994; 36:39-42.
10. Gamboa MI. Effects of temperature and humidity on the development of eggs of *Toxocara canis* under laboratory conditions. J Helminthol. 2005; 79:327-31.
11. Guillen-Llera JL, Cuellar Del Hoyo C, Aguila De La Puente C. Fotodependencia del desarrollo embrionário de *Toxocara canis* (Werner, 1782) Stiles, 1905. Rev Ibér Parasitol. 1986; 46:67-74.
12. Guimarães AM, Alves EGL, Rezende GF, Rodrigues MC. Ovos de *Toxocara* sp. e larvas de *Ancylostoma* sp. em praça pública de Lavras, MG. Rev Saúde Públ. 2005; 30:293-5.
13. Lescano SAZ, Nakhle MC, Chieffi PP. Effect of "in vitro" cultivation time on the infectivity of *Toxocara canis* eggs. Rev Inst Med Trop S Paulo. 1998; 40:201-2.
14. Overgaauw PAM. Aspects of *Toxocara* epidemiology: human toxocarosis. Crit Rev Microbiol. 1997; 23:215-31.
15. Queiroz ML, Simonsen M, Paschoalotti MA, Chieffi PP. Frequency of soil contamination by *Toxocara canis* eggs in the South Region of São Paulo municipality (SP, Brazil) in a 18-month period. Rev Inst Med Trop S Paulo. 2006; 48:317-9.
16. Schantz PM. *Toxocara* larva migrans now. Am J Trop Med Hyg. 1989; 41(Suppl): 21-34.

Trabalho recebido: 27/10/2008

Trabalho aprovado: 11/12/2008