

Acervo - FMVZ 021590



DEDALUS - Acervo - FMVZ



11300001640

ARNALDO ROCHA

**ESTABELECIMENTO E DESENVOLVIMENTO DO *Lagochilascaris major*
(LEIPER, 1910) EM CAMUNDONGOS E FELINOS INFECTADOS
EXPERIMENTALMENTE.**

Dissertação apresentada como um dos requisitos para
obtenção do título de mestre, junto à Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses

Orientadora:

Maria Cecília Reale Vieira Bressan

T.1106
FMVZ
ex.1

**São Paulo
2002**

ARNALDO ROCHA

**ESTABELECIMENTO E DESENVOLVIMENTO DO *Lagochilascaris major*
(LEIPER, 1910) EM CAMUNDONGOS E FELINOS INFECTADOS
EXPERIMENTALMENTE.**

Dissertação apresentada como um dos requisitos para
obtenção do título de mestre, junto à Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses

Orientadora:

Maria Cecília Reale Vieira Bressan

São Paulo
2002

Acervo - FMVZ 021590



N.º CLASSIFICAÇÃO
T. 1106
Fmvz
eif
N.º TOMBO
021590

545N01 J248J80

1D 1336

A Ana Cristina, minha companheira e amiga, fonte de amor e carinho;

Aos meus pais, Armando e Iva, com o apoio constante sem o qual não poderia
ter chegado até aqui;

A todas as pessoas que de alguma forma acreditaram e incentivaram este
trabalho.

AGRADECIMENTOS

Dra. Maria Cecília Reale Vieira Bressan por ser quem primeiro acreditou no meu potencial como pesquisador e pelos ensinamentos, compreensão e paciência.

Dr. Fernando Paiva pelo companheirismo e colaboração, sempre disponível para os assuntos ciência e política.

Aos mestres Ricardo Jensen e Ricardo Osório Oliveira pela vivência no laboratório e experiências que as pesquisas proporcionaram.

Ao mestre Marcelo Sato pelo convívio e amizade.

À Universidade de São Paulo, especialmente ao Instituto de Ciências Biomédicas e à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, por permitirem que eu desenvolvesse o mestrado, com a estrutura surpreendente que possui.

À CAPES pela bolsa - Auxílio Social recebida.

À sociedade que paga os impostos que sustentam a Universidade São Paulo.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS.....	06
LISTA DE FIGURAS.....	08
RESUMO.....	12
SUMMARY.....	14
1 - INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA.....	22
1.1 Aspectos Gerais.....	22
1.1.1 Morfologia.....	22
1.1.2 Distribuição.....	22
1.1.3 Hospedeiros.....	23
1.1.4 Patogenicidade.....	24
1.1.5 Biologia.....	25
1.1.6 Diagnóstico.....	25
1.1.7 Tratamento.....	25
1.1.7.1 Histórico do tratamento da lagochilascariás em humanos.....	26
1.1.8 Ocorrência de lagochilascariase em animais.....	29
1.1.9 Histórico de casos registrados em literatura sobre lagochilascariase em humanos.....	32

2 - OBJETIVOS.....	40
2.1 Objetivos gerais.....	40
2.2 Objetivos específicos.....	40
2.2.1 Aspectos a serem estudados a partir da incubação de ovos de <i>L. major</i> e de infecções experimentais de camundongos com ovos larvados.....	40
2.2.2 Aspectos a serem estudados após infecção experimental dos felinos domésticos com cistos de <i>L. major</i>	41
2.2.3 Pesquisar a ocorrência de <i>L. major</i> em felídeos silvestres, mantidos em cativeiro, em Parques e/ou Zoológicos, de algumas cidades do Estado de São Paulo.....	41
3 - MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.1 Animais experimentais.....	42
3.2 Delineamento experimental.....	42
3.2.1 Experimento 1: Desenvolvimento embrionário do <i>Lagochilascaris major</i>	42
3.2.2 Experimento 2: Migração das larvas de terceiro estágio de <i>L. major</i> nos camundongos.....	43
3.2.3 Experimento 3: Estimativa do período mínimo para formação de cistos parasitários nos camundongos.....	44
3.2.4 Experimento 4: Influência do nível de infecção no estabelecimento da parasitose em camundongos.....	45

3.2.5 Experimento 5: Infecção experimental em felinos domésticos.....	47
3.2.6 Experimento 6: Levantamento epidemiológico da lagochilascaríase em felídeos silvestres em Parque e/ou Zoológicos de algumas cidades no Estado de São Paulo.....	49
3.3 Obtenção dos ovos de <i>L. major</i> para infecção dos camundongos.00.....	49
3.4 Incubação dos ovos de <i>L. major</i>	50
3.5 Infecção dos camundongos com ovos de <i>L. major</i>	50
3.6 Manutenção dos camundongos.....	50
3.7 Detecção da infecção experimental nos camundongos.....	51
3.8 Obtenção dos cistos com L3 de <i>L. major</i> para infecção dos felinos.....	51
3.9 Infecção dos felinos com cistos de <i>L. major</i>	52
3.10 Manutenção dos felinos.....	52
3.11 Exames parasitológicos de fezes.....	52
3.12 Necrópsia e colheita de parasitos.....	53
3.13 Exames histopatológicos.....	54
3.14 Colheita de sangue.....	54
3.15 Hemograma.....	55
3.16 Análise estatística.....	56

4 RESULTADOS.....	57
4.1 Experimento 1: Desenvolvimento embrionário do <i>L. major</i> ..	57
4.2 Experimento 2: Migração das larvas de 3º estágio nos camundongos.....	61
4.3 Experimento 3: Estimativa do período mínimo para formação de cistos parasitários nos camundongos.....	63
4.4 Experimento 4: Influência do nível de infecção no estabelecimento da parasitose em camundongos.....	64
4.5 Alterações histológicas nos tecidos dos camundongos parasitados com <i>L. major</i>	67
4.6 Hemograma.....	69
4.6.1 Hemácias.....	69
4.6.2 Hematócrito.....	70
4.6.3 Hemoglobina.....	71
4.6.4 Leucócitos	72
4.6.5 Neutrófilos.....	73
4.6.6 Linfócitos.....	75
4.6.7 Monócitos.....	76
4.6.8 Eosinófilos.....	77
4.7 Proteínas totais plasmáticas	78
4.8 Experimento 5: Infecção experimental com <i>L. major</i> em felinos.....	79

4.8.1 Sinais clínicos	79
4.8.2 Contagem de ovos de <i>L. major</i> por grama de fezes (OPG)	80
4.8.3 Determinação do período pré-patente.....	81
4.8.4 Local de parasitismo de <i>L. major</i> nos felinos.....	81
4.8.5 Parasitos adultos.....	83
4.8.6 Alterações histológicas no Local de parasitismo de <i>L. major</i>	84
4.8.7 Hemograma.....	86
4.8.7.1 Hemácias	86
4.8.7.2 Hematócrito.....	87
4.8.7.3 Hemoglobina.....	87
4.8.7.4 Leucócitos	88
4.8.7.5 Neutrófilos.....	89
4.8.7.6 Linfócitos.....	90
4.8.7.7 Monócitos.....	91
4.8.7.8 Eosinófilos.....	92
4.9 Experimento 6: Ocorrência de <i>L. major</i> em felídeos selvagens mantidos em cativeiro em Parques e/ou Zoológicos de algumas cidades do Estado de São Paulo.....	93
5 - DISCUSSÃO	96
6 - CONCLUSÕES.....	105

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	107
8 - ANEXOS.....	114

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Necrópsias seriadas para o estudo da migração das larvas de *L. major* no camundongo.....44
- Tabela 2 - Infecção experimental dos camundongos com ovos larvados de *L. major*.....46
- Tabela 3 - Grupos experimentais de felinos machos infectados com cistos de *L. major*.....48
- Tabela 4 - Comprimento de larvas, em mm, extraídas de ovos de *L. major* em diferentes tempos de incubação.....58
- Tabela 5 - Migração das larvas de 3^o estágio, de *L. major*, nos tecidos dos camundongos.....62
- Tabela 6 - Número total de cistos contados nas carcaças de camundongos infectados com diferentes doses de ovos larvados de *L. major* decorridos 6 meses após a infecção.....62
- Tabela 7 - Distribuição do número médio dos cistos parasitários, por região corporal, nos camundongos, decorridos 6 meses de infecção.....66
- Tabela 8 - Ovos por grama de fezes dos felinos infectados com *L. major*, durante o período experimental.....81
- Tabela 9 - Resultados de exames parasitológicos de fezes dos felídeos selvagens mantidos em Parques e/ou Zoológicos de algumas cidades do Estado de São Paulo..... 94

Figura 34 - Neutrófilos por mm ³ de sangue periférico de felinos infectados com <i>L. major</i> e grupo controle não infectado.....	90
Figura 35 - Linfócitos por mm ³ de sangue periférico de felinos infectados com <i>L. major</i> e grupo controle não infectado.....	91
Figura36 - Monócitos por mm ³ de sangue periférico de felinos infectados com <i>L. major</i> e grupo controle não infectado.....	92
Figura 37 - Eosinófilos por mm ³ de sangue periférico de felinos infectados com <i>L. major</i> e grupo controle não infectado.....	93

Figura 23 - Eosinófilos dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de <i>L. major</i> e do grupo controle não infectado, nos dias 0, 22, 70 e 173 do início do experimento.....	78
Figura 24 - Proteínas Totais Plasmáticas (g/dl) no sangue dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de <i>L. major</i> e do grupo controle negativo nos dias 0, 22, 70 e 173 do início do experimento.....	79
Figura 25 - Fossa da tonsila palatina com <i>Lagochilascaris major</i> ...	82
Figura 26 - Fossa da tonsila palatina durante necrópsia.....	82
Figura 27 - Adulto de <i>Lagochilascaris major</i> , clarificado por fenol (x 1700).....	83
Figura 28 - Corte histológico da região da fossa da tonsila palatina de felino infectado com 25 unidades de <i>Lagochilascaris major</i> (x425).....	85
Figura 29 - Corte histológico da região da fossa da tonsila palatina de felino infectado com 1 <i>L. major</i> (x 425).....	85
Figura 30 - Hemácias por mm ³ de sangue periférico de felinos infectados com <i>L. major</i> e grupo controle não infectado.....	86
Figura 31 - Hematócrito por mm ³ de sangue periférico de felinos infectados com <i>L. major</i> e grupo controle não infectado.....	87
Figura 32 - Hemoglobina por mm ³ de sangue periférico de felinos infectados com <i>L. major</i> e grupo controle não infectado.....	88
Figura 33 - Leucócitos por mm ³ de sangue periférico de felinos infectados com <i>L. major</i> e grupo controle não infectado.....	89

Figura 13 - Larva de terceiro estágio inicial (a), final (b) e ovo larvado de <i>L. major</i> (c) (x 850).....	67
Figura 14 -Corte histológico de cisto parasitário de <i>L. major</i> (x1700).....	68
Figura 15 - Fibroblastos, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, e macrófagos de cisto parasitário de <i>Lagochilascaris major</i> (x1700).....	68
Figura 16 - Hemácias por mm ³ de sangue dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de <i>L. major</i> e do grupo controle não infectado, nos dias 0, 22, 70 e 173 a partir do início do experimento.....	70
Figura 17 - Volume globular dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de <i>L. major</i> , e grupo controle não infectado, nos dias 0, 22, 70 e 173 após o início do experimento.....	71
Figura 18 - Hemoglobina (g/dl) dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de <i>L. major</i> e do grupo controle negativo , nos dias 0, 22, 70 e 173 do início do experimento.....	72
Figura 19 - Leucócitos totais dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de <i>L. major</i> e do grupo controle não infectado, nos dias 0, 22, 70 e 173 do início do experimento.....	73
Figura 20 - Neutrófilos dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de <i>L. major</i> e do grupo controle não infectado, nos dias 0,22, 70 e 173 do início do experimento.....	75
Figura 21 - Linfócitos dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de <i>L. major</i> e do grupo controle não infectado, nos dias 0, 22, 70 e 173 da infecção.....	76
Figura 22 - Monócitos dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de <i>L. major</i> e do grupo controle não infectado, nos dias 0, 22, 70 e 173 da infecção.....	77

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Regiões adotadas para contagem dos cistos, durante necrópsia dos camundongos.....47
- Figura 2 - Ovo de *Lagochilascaris major* (x1700).....59
- Figura 3 - Ovo de *Lagochilascaris major* com 2 células Embrionárias(x1700).....59
- Figura 4 - Ovo de *Lagochilascaris major* com 4 células germinativas(x 1700).....59
- Figura 5 - Ovo de *Lagochilascaris major* com 8 células germinativas (X1700).....59
- Figura 6 - Larva recém eclodida artificialmente de ovo de *Lagochilascaris major* , após 14 dias de incubação (x 850).....59
- Figura 7 - Larva de 3º estágio de *L. major* , mostrando as cutículas correspondentes à 1ª e 2ª mudas no ovo (X1700).....60
- Figura 8 - Larva de 3º estágio de *Lagochilascaris major* com duas cutículas (x4250).....60
- Figura 9 - Larva de *L. major* encontrada em pulmão de camundongo 24 horas após a infecção (x 850).....62
- Figura 10 - Cistos parasitários em camundongo, 30 dias após a infecção.....63
- Figura 11 - Cisto parasitário clarificado por fenol (x 1700).....64
- Figura 12 - Larva de 3º estágio final de *L. major* , recuperada de cisto após 6 meses de infecção (x170).....66

RESUMO

ROCHA, A. **Estabelecimento e desenvolvimento do *Lagochilascaris major* (LEIPER, 1910) em camundongos e felinos infectados experimentalmente.** [Establishment and development of *Lagochilascaris major* (LEIPER, 1910) in experimental infected mice and cats] 2002. 117 f. Tese (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Estudou-se a infecção experimental, com *L. major*, em camundongos e felinos domésticos e a ocorrência desses parasitos em felinos selvagens, mantidos em cativeiro, em Parques e/ou Zoológicos de algumas cidades do Estado de São Paulo.

Durante o estudo do desenvolvimento embrionário de *L. major* foram observadas duas mudas dentro do ovo, sendo a primeira em torno do dia 15º de incubação e a 2ª aos 20 dias de incubação. Ovos larvados, com larvas de 3º estágio inicial foram utilizados para a infecção em camundongos. Observou-se a migração, estabelecimento e desenvolvimento das larvas até a formação de cistos parasitários com larva de terceiro estágio final, aos 30 dias e 6 meses de infecção. A infecção dos felinos com cistos parasitários, obtidos de camundongos, permitiu a maturação e reprodução dos nematóides adultos nas fossas das tonsilas palatinas, assim como a determinação do período pré-patente da infecção de cerca de 15 dias. Alterações hematológicas, histopatológicas, dosagens de proteínas plasmáticas foram acompanhadas durante as infecções experimentais dos camundongos e felinos.

A pesquisa da infecção em felinos selvagens mantidos em Parques e/ou Zoológicos de algumas cidades do Estado de São Paulo, verificada através de exames parasitológicos de fezes e de aplicação de questionário , não detectou a lagochilascaríase.

Unitermos: *Lagochilascaris major*, felinos, camundongos

SUMMARY

ROCHA, A. **Establishment and development of *Lagochilascaris major* (LEIPER, 1910) in experimental infected mice and cats** [Estabelecimento e desenvolvimento do *Lagochilascaris major* (LEIPER, 1910) em camundongos e felinos infectados experimentalmente] 2002. 117 f. Tese (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

We studied the experimental infection, with *L. major*, in mice and domestic felines, and those parasites's presence in savage felines kept in captivity within Parks or Zoos from some towns and cities of São Paulo.

Through the study of *L. major's* embryonic development, we noticed two ecdyses inside the egg, the first one around the fifteenth day of incubation, and the second one at the twentieth day of incubation. We employed larval eggs, with larvae at the third initial stage, to cause the infection in mice. We observed the larvae's migration, establishment and development till the formation of parasitic cysts with larvae at the third final stage, within thirty days and six months of infection. The infection of felines with parasitic cysts obtained from mice, allowed the maintenance and reproduction of adult nematodes in the dimples of the palatal tonsils, as well as the determination of the fifteen day pre-patent period of the infection. We followed the hematologic and histologic alterations and the plasmatic protein dosage during the experimental infections of mice and felines. The experimental infections of mice and felines the research of the infection in savage felines kept in Parks and/or Zoos from some towns

and cities of São Paulo, carried out through parasitic faeces tests and the application of a questionnaire, didn't detect the lagochilascariasis.

Key words: *Lagochilascaris major*, cats em mices

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Aspectos Gerais

1.1.1 Morfologia

Lagochilascaris spp são pequenos ascarídeos com comprimento variável, de 5 a 26 mm nos adultos, identificados genericamente pela morfologia característica de três lábios guarnecendo a boca, sulco interlabial, estrangulamento da cutícula logo abaixo dos lábios e ausência de asas cervicais (LEIPER, 1909).

1.1.2 Distribuição

A distribuição do agente causador da lagochilascariase é restrita a regiões quentes e/ou tropicais, como vários Países da América Central e do Sul (Trinidad e Tobago, Suriname, Costa Rica, Colômbia, Bolívia, Venezuela, Brasil e Argentina), Congo na África e o Texas nos Estados Unidos da América.

Na África existem apenas dois casos documentados: O primeiro caso descrito da espécie *L. major*, por LEIPER (1910), de um leão e o descrito por DURETTE (1963), também tendo um leão como hospedeiro.

Nos EUA poucos casos de gambás e raccons parasitados pela espécie *L. major* foram descritos (CRAIG et al. 1980) e apenas um caso em cão (CRAIG et al. 1982).

É na América Central e na América do Sul que mais acontece a lagochilascaríase. O Brasil é o país recordista em casos desta doença, sendo que a concentração dos casos brasileiros se dá na região amazônica e na bacia dos rios Tocantins e Araguaia.

1.1.3 Hospedeiros

Nematóides do gênero *Lagochilascaris* foram encontrados parasitando animais domésticos, selvagens e o homem (SPRENT, 1971). Dentre os animais domésticos estes helmintos foram encontrados em *Canis familiaris* (VIDOTTO et al., 1982) e em *Catus catus domesticus* (LED et al., 1968). As espécies *Felis leo* (DURETTE, 1963) *Felis pardalis mearnsi* (BRENES-MADRIGAL et al., 1972), *Procyon lotor* (Craig et al., 1980), *Didelphis virginiana* (BOWMAN et al., 1983) e *Speothos venaticus* (

VOLCAN et al., 1991) são exemplos de animais selvagens acometidos naturalmente pelo gênero *Lagochilascaris*.

O parasito tem baixa especificidade de hospedeiros, verificada pela ampla gama de espécies parasitadas. Por outro lado, se o homem e outros animais podem ser considerados hospedeiros definitivos, não há a certeza de qual espécie animal seja o hospedeiro definitivo habitual.

1.1.4 Patogenicidade

A patogenicidade dos *Lagochilascaris* sp, embora não totalmente conhecida, é variável. As infecções por *L. major* podem apresentar sinais clínicos discretos nos felinos domésticos e auto-cura (ROCHA et al., 1999) até, no outro extremo, infecções por *L. minor* seguidas de morte, em humanos, por encefalite (ROSEMBERG et al., 1986) ou pneumonia (MORAES et al. , 1985).

1.1.5 Biologia

O *L. major* foi encontrado e identificado aproximadamente 90 anos atrás e ainda existem lacunas no conhecimento sobre a biologia destes parasitos. Não se conhece bem o ciclo de vida, reservatórios naturais, fontes de infecção, formas de infecção, formas de resistência no ambiente, hospedeiros habituais, aspectos relacionados à história natural da doença.

1.1.6 Diagnóstico

Para a identificação da espécie recorre-se à morfometria dos parasitos adultos. O número de depressões (pits) na região do equador da casca dos ovos pode colaborar para a identificação da espécie.

1.1.7 Tratamento

Diversas drogas tem sido empregadas no tratamento da lagochilascariase, como: dietilcarbamazina, cambendazole, mebendazole, tiabendazole, levamisole, praziquantel e ivermectina.

São comuns as recidivas dos problemas de saúde causados pelo *L. minor* em pacientes humanos após tratamento. Essas recidivas são descritas desde os primeiros protocolos terapêuticos utilizados para o tratamento da lagochilascariase (LEÃO et al., 1978) até os últimos (OLLÉ-GOIG et al., 1996). Suspeita-se que a dificuldade no tratamento é a destruição das larvas infectantes que estão dentro dos ovos, protegidas por sua casca grossa (MORAES et al., 1983).

Os tratamentos com melhores resultados tem sido aqueles instituídos por longos períodos e ainda constituem um desafio para a medicina.

1.1.7.1 Histórico do tratamento da lagochilascariase em humanos

As dificuldades e as evoluções no tratamento da lagochilascariase humana são bem documentados.

OOSTBURG (1971) utilizou 50 mg de tiabendazol por Kg de peso corporal, por dia, durante 5 dias. Após uma semana repetiu o tratamento e obteve cura clínica.

CORRÊA et al. (1978) utilizaram 150 mg de levamisole em duas tomadas, na tentativa de tratamento da lagochilascariase em humanos. Os autores supracitados não puderam avaliar adequadamente o efeito terapêutico do

levamisol pela impossibilidade de examinarem o paciente no período pós-tratamento.

LEÃO et al. (1978) após tratamento insatisfatório com baixas doses de tiabendazol, por longo período, obtiveram a cura de paciente humano utilizando dietilcarbamazina por longo período.

CHIEFFI et al. (1981) defendem o uso do levamisol por terem obtido cura rápida e total de uma paciente com 25 anos acometida por *L. minor*. A moça foi tratada com 150 mg do princípio ativo por dia, durante 3 dias consecutivos.

GREGORIO et al. (1982) trataram paciente de 6 anos com 50 mg/Kg de tiabendazol durante 5 semanas obtendo involução do quadro parasitário. A garota foi admitida no mesmo hospital com recidiva da moléstia após 1 ano. Institui-se na segunda ocasião tratamento com 150 mg de tiabendazol, por semana, durante 3 meses, resultando na cura sem recidivas até um ano depois.

ROCHA et al. (1984) instituíram tratamento cirúrgico associado a tratamento com tiabendazol, dietilcarbamazina e levamisol. A paciente ficou com paralisia facial esquerda completa após a cirurgia, mas livrou-se da infecção.

BOTER et al. (1984) utilizaram tiabendazole 30 mg/Kg durante 3 dias consecutivos e depois da primeira recidiva 15 mg/Kg durante 6 dias, sem sucesso nas duas etapas. Após dois insucessos utilizaram mebendazole na dosagem de 200 mg por dia durante 4 dias. A paciente eliminou 26 parasitos durante o tratamento com mebendazole. Dois meses após este último tratamento, com mebendazole, houve recidiva. O caso foi solucionado com 150 mg de levamisole 3 vezes ao dia por 8 dias, seguidos de 150 mg duas vezes ao dia por uma semana e depois uma vez por semana por mais 3 meses.

VELOSO et al. (1992) relataram a utilização de levamisole (2,5 mg/Kg de peso/dia/15 dias) e praziquantel (15 mg/Kg de peso/dose única), obtendo regressão das lesões. Após alta médica, dada em seguida à regressão das lesões não puderam acompanhar a paciente por nunca mais retornar. Num segundo caso utilizaram mebendazole (100 mg/Kg BID/ 3 dias) e tiabendazol (50 mg/Kg/ dia/2 dias) com recidiva em menos de 3 anos. Após a recidiva dessa segunda paciente utilizaram levamisole (2,5 mg/Kg/dia/30 dias) e cambendasol (36 mg/dia/20 dias) havendo regressão das lesões. A paciente foi mantida sob controle não apresentando mais a doença. Num terceiro paciente empregaram tiabendazol (50 mg/Kg de peso/dia/2 dias) com várias recidivas que culminaram com a morte após acometimento do Sistema Nervoso Central.

BENTO et al. (1993) foi quem utilizou pela primeira vez ivermectina na dose de 0,2 mg/Kg semanalmente por um mês. O tratamento com ivermectina surtiu efeito e o paciente ficou curado.

AGUILAR-NASCIMENTO et al. (1993) obtiveram sucesso no tratamento da lagochilascaríase humana utilizando 150 mg/dia de levamisole durante um mês.

OLLÉ-GOIG et al. (1996) primeiramente utilizaram 200 mg de mebendazole durante 3 dias, 2 g de tiabendazole por 3 dias e levamisole por uma semana resultando em cura aparente, porém com recidiva. A solução para o problema foi obtido com 150 mg por dia de levamisole durante um mês, período bem mais longo do que o do primeiro tratamento.

1.1.8 Ocorrência de lagochilascaríase em animais

O primeiro caso de lagochilascaríase, em animal, foi descrito por LEIPER, 1910, em um leão da África e deu nome a espécie *Lagochilascaris major*.

O segundo caso descrito de Leão parasitado com *L. major* tem como autor DURETTE, no ano de 1963.

Uma gata doméstica (*Felis catus catus*) de 8 meses de idade morreu após 4 dias de anorexia e paralisia bucal. Durante necrópsia foram encontrados

em seu estômago, esôfago e traquéia exemplares do gênero *Lagochilascaris* (LED, 1968).

Uma jaguatirica (*Felis pardalis mearnsi*) capturada em San Vito de Java, na Costa Rica, foi mantida num zoológico local, apresentando, após 30 dias de cativeiro, diarréia. Constatou-se durante 15 dias a eliminação de ovos de *Lagochilascaris sp* nas fezes deste animal. Estudo necroscópico, confirmou, por histologia, a infecção pelo vírus da panleucopenia, causa de sua morte. Durante a necrópsia encontraram três machos e uma fêmea adulta de *Lagochilascaris sp*. (BRENES-MADRIGAL et al., 1972).

CRAIG et al. (1980) relataram ocorrência de *L. major* em raccons, no Texas, num parque frequentado por pessoas que durante a estadia lanchavam deixando restos de alimentos no local. Um dos animais capturados estava parasitado por *L. major*. Os parasitos estavam contidos em uma massa granulomatosa entre o estômago e o duodeno.

Em 1982, CRAIG et al., identificaram *L. major* expulsos de um cãozinho de 10 semanas de idade através de uma fístula na região abdominal que comunicava a cavidade peritoneal com o exterior do organismo.

No ano de 1982, VIDOTTO et al., identificam *L. minor* em tumorações esofagianas de um cão da região da Foz do Iguaçu, no Estado do Paraná. Sete gambás com infecção natural por *Lagochilascaris sprengi* foram encontrados em Louisiana. Cada animal possuía três, três, cinco, oito, quinze, cento e dezessete e cento e cinquenta e sete vermes, respectivamente, no estômago (BOWMAN et al., 1983). O gambá com 5

vermes no estômago possuía também um abscesso junto ao estômago contendo 4 outros exemplares da mesma espécie (SMITH et al. , 1983).

ROMERO et al., 1985 diagnosticaram lagochilascaríase, por *L. major*, em uma gata, de origem Argentina, possuidora de um abscesso na região massetéica posterior direita.

No ano de 1988, DELL' PORTO et al., identificaram *L. major* proveniente de gata doméstica da região de Piaçaguera, no Estado de São Paulo, primeiro caso de *L. major* em gato doméstico de São Paulo e do Brasil.

Em 1990, AMATO et al., descrevem o segundo e o terceiro casos de *L. major* em gatos domésticos do Brasil, desta vez no Rio de Janeiro.

VOLCAN et al. (1991) identificaram duas fêmeas de *Lagochilascaris spp* em um *Speothos venaticus*, morto acidentalmente em um atropelamento em Bolivar, na Venezuela. O número pequeno de exemplares e a ausência de machos dificultaram a identificação da espécie; O autor sugere ligação deste caso com outro, ocorrido em humano no mesmo município no ano de 1982 (VOLCAN et al., 1982).

ARANTES et al. (1996) relatam caso de *L. major* parasitando gata doméstica no município de Cotia. Os parasitos estavam alojados na região cervical lateral direita, sendo o quarto caso brasileiro de *L. major* em felino doméstico.

1.1.9 Histórico dos casos registrados em literatura sobre lagochilascariase em humanos

LEIPER (1909) descreve um ascarídeo, para o qual deu o nome de *Lagochilascaris minor*, de hábitos e forma incomuns, pequenos e localizados em abcesso de dois pacientes humanos de Trinidad e Tobago.

VERHAGEN (1921) descreve *Lagochilascaris minor* em uma menina com 12 anos de idade, com lesões no ouvido médio e mastóide, residente no Suriname.

PAWAN (1926) encontrou *Lagochilascaris minor* em abscesso tonsilar e mandibular de um paciente humano com 16 anos de idade em Trinidad. No ano seguinte, outro paciente parasitado: um homem com 19 anos com abscesso no pescoço (PAWAN, 1927).

WINCKEL e TREURNIET (1956) descreveram o caso clínico de uma mulher adulta residente no Pará, divisa com Guiana, na região de Paramaribo, com grande quantidade de *Lagochilascaris minor* na região do pescoço.

BRUIJNING (1957) escreveu sobre um paciente com *Lagochilascaris minor* em tumor irregular, com evolução de anos (infecção crônica) e que residia próximo a Guiana Holandesa no vilarejo de Kabel (é o que admite o hospital que lhe prestou serviços). Desta vez os helmintos foram encontrados na massa tumoral localizada na região do mastóide, no

pescoço. BRUIJNING não obteve sucesso na tentativa de estabelecer o ciclo de vida do parasito em laboratório utilizando gatos jovens e cobaias.

BRENES & BRENES (1961) em resumo de congresso descreveram uma mulher com 36 anos nativa da Costa Rica com sinusite e que eliminava vermes pelo nariz há 8 anos. Ovos do parasito também foram encontrados nas fezes, no suco gástrico e em lavado traqueal.

DRAPER (1963) descreve o caso de uma senhora de Tobago que apresenta eliminação de um verme pelo nariz em 1947 e que após 10 anos de obstrução nasal desenvolve um tumor na região do pescoço com presença de *Lagochilascaris minor*. Durante os 10 anos de descarga nasal não foram visualizados outros vermes além daquele primeiro.

ARTIGAS et al. (1968) descrevem o caso de uma paciente de 14 anos com abscessos fistulizados na região lateral esquerda do pescoço há 4 anos. A adolescente residia na região de Piracicaba, Estado de São Paulo. Ao transferir domicílio para a cidade de Santos em 1966 passou a ser atendida na Santa Casa e teve diagnóstico de miíase. Após tratamento sem sucesso foi atendida pelo serviço de dermatologia que encaminhou os parasitos ainda presentes na lesão para análise que resultou na identificação de *L. minor*.

OOSTBURG e VARMA (1968) apresentaram o caso no Suriname de acometimento por *L. minor* em paciente com 10 anos de idade, que veio a óbito. Os familiares não permitiram a autópsia. A menina tinha abscessos no pescoço de onde saíam adultos, larvas e ovos de *L. minor*.

OOSTBURG (1971) reporta outro caso de paciente com 15 anos, em Novembro de 1969, com tumor na região esquerda do pescoço e que residia no vilarejo de Marowijne no Suriname.

LEÃO (1978) apresentou um caso ocorrido no Estado do Pará, em paciente de 14 anos, do sexo masculino, procedente de Mungubal no município de Prainha. Este paciente possuía lesões cervicais bilaterais com as do lado esquerdo ulceradas. Uma pesquisa na área de origem deste paciente não logrou achado de novos casos.

CORRÊA et al. (1978) descrevem um novo caso de lagochilascariase em um trabalhador rural de Cuiabá, Mato Grosso, submetido a cirurgia do mastóide. Tratava-se de pan-mastoidite têmporo-zigomática à direita e sinais de paralisia facial periférica do mesmo lado. O paciente relatava otite purulenta com descarga há 5 meses. Os parasitos foram identificados como *L. minor*.

BORGIO et al. (1978) apresentaram caso de uma criança de 5 anos de idade, do sexo masculino, residente em Ximbioá, Goiás, parasitada por *L. minor*, com nodulações que fistulizaram na região cervical esquerda. Esse paciente desenvolveu insuficiência respiratória devida a massas que empurravam uma amígdala contra a outra e pela própria hipertrofia das amígdalas.

CABRADA-BRAVO (1980) reconhece *L. minor* numa pseudotumoração cervical de uma menina de 11 anos procedente da Vila Azuela, no México.

SANTOS (1981) apresenta um caso sobre abscesso dentário de uma paciente com 11 anos procedente de Xambioá no Estado de Goiás. Essa adolescente tinha mudado domicílio, para Goiânia, há um ano. No abscesso dentário identificou-se apenas 1 fêmea adulta do helminto *L. minor*.

CHIEFFI (1981) descreve um caso clínico de uma mulher de 25 anos, natural de Sabinópolis, Minas Gerais, residente, na época, no Município de Guajará Mirim em Rondônia, onde chegara há 3 anos atrás. As lesões que a paciente apresentou foram um aumento de volume na região cervico-facial direita e outro na região inframentoniana. A paciente relatara que desde que a lesão cervico-facial fistulizou passou a eliminar vermes brancos pela boca sem associação com tosse ou esforços. Os parasitos foram identificados como sendo *L. minor* e o tratamento com levamisol foi eficiente neste caso.

VOLCAN et al. (1982) reportam o caso de uma garota de 6 anos de idade, com sinusite crônica, nódulos inflamatórios no pescoço, febre e desidratação. Os pais da menina esclarecem que a paciente possuía obstruções nasais intermitentes com períodos de desobstrução desde os 2 anos de idade. Essa menina, Venezuelana, do Estado de Bolívar, residia próximo a floresta tropical e sua família possuía baixo nível sócio-econômico-cultural. Os parasitos eliminados foram identificados como sendo *L. minor*.

CAMPOS et al. (1983), descrevem caso de um jovem de 14 anos, do município de Bromínia, em Goiás, com todos os estágios evolutivos de *L. minor* em abscesso retro-auricular.

MORAES et al. (1983) descrevem 2 casos no Estado do Pará : uma criança, do sexo feminino, de 5 anos de idade, residente ao longo da Rodovia Santarém-Cuibá no Km 86, com tumoração na região do mastóide direito com tumefação do conduto auditivo direito e um rapaz de 35 anos, procedente de Paragominas, com nódulos na região cervical esquerda. O diagnóstico para o segundo paciente foi adenopatia e tratado inicialmente apenas com antibiótico. Por ocasião do atendimento realizou-se biópsia que pode constatar a presença dos vermes, mas o paciente não mais retornou para atendimento. O exame histopatológico constatou todos os estágios de vida do *L. minor* permitindo ao autor concluir que, no homem, o *L. minor* se mantém por longos períodos devido a auto-infecção.

ROCHA et al. (1984) detectam caso de lagochilascariase, por *L. minor* em paciente feminina, de 23 anos, residente na zona rural de Marabá, no Estado do Pará. Este autor sugere que a infecção tenha sido contraída pela ingestão de larvas infectantes juntamente com água de bebida contaminada com fezes de um hospedeiro silvestre não identificado.

BOTERO et al. (1984) reportam 2 casos na Colômbia : uma mulher com 21 anos de idade com tonsilite e eliminação de vermes pelo nariz e uma menina de 7 anos de idade com febre, apresentando vômitos, diarreia,

lesões cutâneas nas mãos e um abscesso na região cervical esquerda. A Segunda paciente além de *Lagochilascaris sp* possuía *Leishmania*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e *Strongyloides stercoralis*.

MORAES et al. (1985) descrevem o primeiro e único caso fatal de lagochilascariase com localização dos vermes nos pulmões. A indisponibilidade de vermes adultos para identificação da espécie permite apenas a certeza do gênero *Lagochilascaris*. A paciente, do sexo feminino, oriunda de Curralinho, no Estado do Pará, morreu por insuficiência respiratória em pouco mais de 3 meses de evolução da doença. Submetida a necrópsia constataram ovos, larvas e uma fêmea adulta de *Lagochilascaris sp*. O autor reforça a idéia do homem ser hospedeiro errático devido à localização pouco comum desses parasitos adultos nos pulmões e alerta para a possível migração pulmonar dos mesmos.

ROSEMBERG et al. (1986) reportam o primeiro e único caso, até o momento, de encefalopatia fatal causada por *L. minor* em menino de 14 anos de idade, proveniente de Rondônia.

COSTA et al. (1986) isolaram e estudaram *L. minor* de um garoto de cinco anos de idade com dores de ouvido e corrimento purulento desde os três anos de idade. Desenvolveu intumescência na região cervical direita, que se transformou em abscesso com fístula, destruindo o mastóide.

SANTOS (1990) Relatou caso de infecção humana por *L. minor* com enfoque dermatológico.

VELOSO et al. (1992) apresentam 3 casos de lagochilascariase no Distrito Federal. O primeiro, uma menina de seis anos de idade, procedente de Tucumã, no Estado do Pará. Embora o diagnóstico tenha sido feito no Distrito Federal a mãe da menina esclareceu que dois anos antes a menina tivera tumoração na região cervical esquerda que fistulizou espontaneamente e não regrediu totalmente com antibióticos. O segundo caso, refere-se a uma moça de 22 anos de idade, procedente de Serra Pelada, Estado do Pará, com otalgia e otorréia à esquerda e tumoração na região retroauricular do mesmo lado. O exame radiográfico indicou esclerose e diminuição da pneumatização do mastóide e destruição de elementos dos ouvidos médios e interno. O terceiro caso, uma paciente de 16 anos, natural do Estado de Goiás, mas procedente de Marabá no Estado do Pará com otorréia e ulceração no mastóide esquerdo. A terceira paciente teve várias recidivas e acabou morrendo quando os vermes atingiram o forame magno, causando extensas lesões ósseas.

OOSTBURG (1992) descreve o sexto caso de *Lagochilascariasis minor* no Suriname.

BENTO (1995) comunica um caso de um adolescente de 15 anos, da cidade de Cruzeiro do Sul, no Estado do Acre, com abscessos na região do mastóide esquerdo. Foi o primeiro paciente a ser tratado com antihelmíntico à base de ivermectina. A terapia resultou na cura da parasitose por *L. minor*.

AGUILAR-NASCIMENTO et al. (1993) reportam *L. minor*, em paciente de 24 anos, do sexo feminino, proveniente da zona rural da Rondônia. Possuía aumento de volume na região direita do pescoço. Em anamnese esta paciente dizia ter dores na região da massa cervical. A anamnese detalhada serviu para enriquecer o relato: trabalhadora rural, proveniente de zona endêmica (Região Amazônica), possuía animais domésticos com os quais mantinha contato direto e consumia carne de caça.

OLLÉ-GOIG et al. (1996) descrevem o primeiro caso de infecção por *L. minor* na Bolívia. Um menino de 6 anos de idade com otites bilaterais recorrentes, perda de audição parcial e massas tumorais bilateralmente na região do pescoço. Os tratamentos com mebendazole, tiabendazole e levamisole não foram suficientes para a cura. A recidiva levou os médicos a aumentarem a dose e o período de administração do levamisole para a eliminação dos parasitos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Este trabalho teve a proposta de estudar o ciclo de vida, estabelecimento e desenvolvimento de *L. major* no hospedeiro definitivo, o gato doméstico, e no camundongo, hospedeiro intermediário, assim como alguns aspectos da inter-relação parasito-hospedeiro.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1 Aspectos a serem estudados a partir da incubação de ovos de *L. major* e de infecções experimentais de camundongos com ovos larvados

- Desenvolvimento embrionário do *L. major* nos ovos.
- Migração das larvas de *L. major*.
- Formação de cistos parasitários.
- Influência do nível de infecção no estabelecimento da parasitose e localização dos cistos parasitários.
- Alterações histológicas nos locais de formação dos cistos.
- Hemograma no decorrer da infecção experimental.

2.2.2 Aspectos a serem estudados após infecção experimental dos felinos domésticos com cistos de *L. major*

- Sinais clínicos da infecção.
- Período pré-patente da infecção.
- Estabelecimento da infecção e da carga parasitária.
- Alterações histopatológicas nos tecidos do local de parasitismo por *L. major*.
- Alterações nos hemogramas no decorrer da infecção.

2.2.3 Pesquisar a ocorrência de *L. major* em felídeos selvagens mantidos em cativeiro nos Parques e/ou Zoológicos de algumas cidades no Estado de São Paulo

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais experimentais

Participaram do experimento oito felinos sem raça definida provenientes de fêmeas gestantes, cedidos pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) do município de São Paulo. Os animais foram mantidos livres de endo e ectoparasitas desde o nascimento. Além dos felinos foram utilizados 80 camundongos Balb/c, criados e mantidos no Biotério de Experimentação do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas / USP.

3.2 Delineamento experimental

3.2.1 Experimento 1: Desenvolvimento embrionário do

Lagochilascaris major

Milhares de ovos de *L. major* foram colhidos, a partir de fêmeas colocadas em placas de Petri, com solução fisiológica normal, mantidas em estufa a 27°C. Os ovos foram incubados a 27 °C, em solução aquosa de formol a 1%, logo após a postura.

Duzentos ovos foram analisados em diversos momentos. De hora em hora até 12 horas, de 12 em 12 horas até 7 dias e, diariamente, até 30 dias.

Extraíram-se larvas dos ovos aos 20, 120 e 424 dias de incubação , por compressão entre lâmina e lamínula. Essas larvas foram medidas com auxílio do programa "Metamorphic" disponível na sala de microscopia do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas / USP.

3.2.2 Experimento 2 : Migração das larvas de terceiro estágio de *L. major* nos camundongos

Para o estudo da migração das larvas no organismo dos camundongos foram utilizados 30 camundongos Balb/c, criados e mantidos no biotério do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da USP, infectados com 100 ovos larvados de *L. major* cada um, necropsiados 3 a 3, desde 2 horas até 720 horas (30 dias) depois da infecção, seguindo o cronograma proposto na Tabela 1.

Foram examinados, separadamente, estômagos, intestinos, fígados e pulmões após imersão em água a 37⁰ C, por 6 horas. As larvas encontradas foram colocadas em formol 6 %, a quente, para posterior análise.

3.2.3 Experimento 3: Estimativa do período mínimo para formação de cistos parasitários nos camundongos

Dez camundongos foram infectados com 100 ovos larvados cada e sacrificados dois animais aos 07, 14, 21, 30 e 37 dias após a infecção para estimativa do tempo mínimo de formação do cistos parasitários.

Tabela 1 - Necrópsias seriadas para o estudo da migração das larvas de *L. major* no camundongo.

Número de animais	Tempo após a infecção
3	2 horas
3	6 horas
3	12 horas
3	1 dia
3	2 dias
3	3 dias
3	5 dias

Tabela 1 - Necrópsias seriadas para o estudo da migração das larvas de *L. major* no camundongo (Continuação).

3	8 dias
3	16 dias
3	30 dias

3.2.4 Experimento 4: Influência do nível de infecção no estabelecimento da parasitose em camundongos

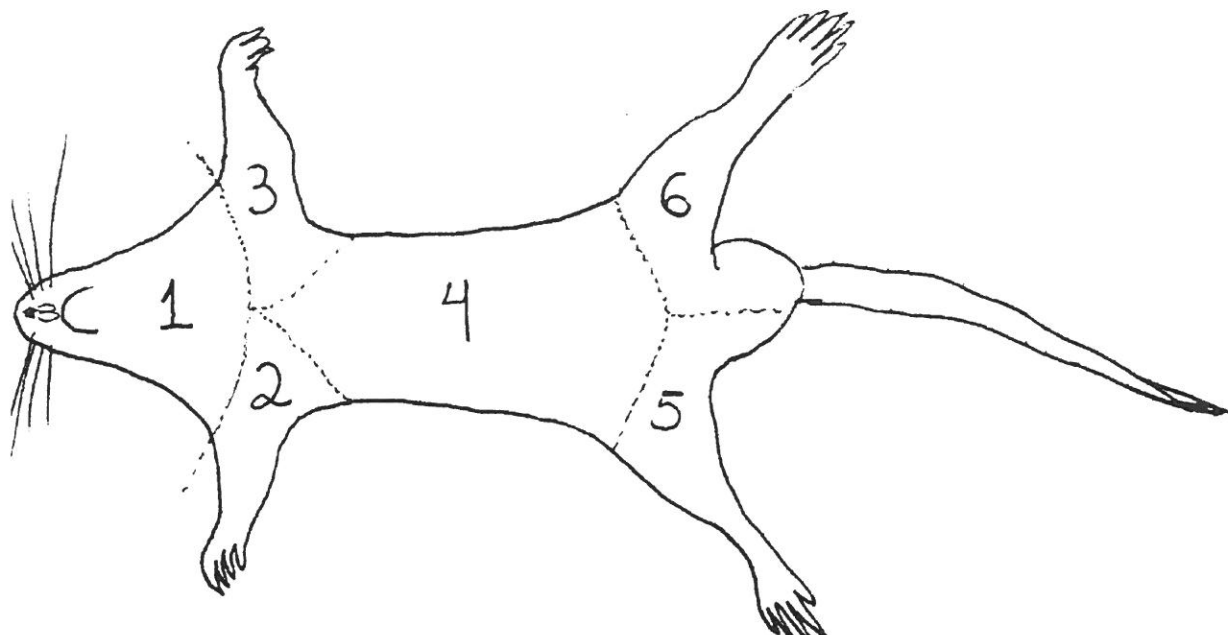
Foram utilizados 40 camundongos distribuídos em 4 grupos, com 10 animais cada um, escolhidos aleatoriamente e mantidos separados de acordo com a quantidade de ovos larvados que receberam (Tabela 2). Utilizou-se 0, 50, 100 e 200 ovos larvados de *L. major*, respectivamente, para os grupos A, B, C e D. Amostras de sangue, para realização de hemogramas e dosagens de proteínas totais, foram colhidos nos dias 0, 22, 70 e 173 após a infecção. Aos 180 dias da infecção os camundongos do experimento 4 foram sacrificados para a

contagem e localização dos cistos parasitários de *L. major*. A distribuição dos cistos parasitários foi estudada dividindo-se os camundongos nas regiões cefálica, carcaça anterior direita, carcaça anterior esquerda, região toracolombar, carcaça posterior direita e carcaça posterior esquerda (Figura 1)

Tabela 2 - Infecção experimental dos camundongos com ovos larvados de *L. major*

Grupos	Número de animais	Grau de infecção em ovos	180 Dias após infecção
A	10	0	N
B	10	50	N
C	10	100	N
D	10	200	N

N = Necrópsia.



1 corresponde à região cefálica, 2 carcaça anterior direita, 3 carcaça anterior esquerda, 4 região toraco-lombar, 5 região carcaça posterior direita e 6 carcaça posterior esquerda

Figura 1 - Regiões adotadas para contagem dos cistos, durante necrópsia dos camundongos.

3.2.5 Experimento 5: Infecção experimental em felinos domésticos

Oito felinos do sexo masculino e com idade de 2 meses e desenvolvimento homogêneo foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos (Tabela 3).

Metade dos animais receberam 50 cistos de *L. major* (Grupo I) e a outra metade permaneceu livre da infecção (Grupo II).

Amostras de sangue foram colhidas semanalmente para realização de hemogramas.

Os felinos foram observados diariamente quanto à temperatura e sinais clínicos.

Palpações e exames ultrassonográficos foram realizados na região cervical correspondente ao local de instalação dos nematóides.

Amostras de fezes foram colhidas diariamente para exames parasitológicos. Após 60 dias da infecção todos foram sacrificados: os felinos infectados para recuperação dos parasitos, caracterização dos locais de parasitismo, contagem dos parasitos adultos e estudo das alterações locais, sendo que os felinos do grupo controle, sem infecção, foram utilizados para estudos comparativos.

Tabela 3 – Grupos experimentais de felinos machos infectados com cistos de *L. major*

Grupos	Número de animais	DAI 0 infecção	DAI 60 Necrópsias
I	4	0	4
II	4	50	4

DAI : Dias após a infecção

Análises anatomopatológicas foram feitas a partir de amostras colhidas durante as necrópsias . Os tecidos adjacentes ao local de parasitismo foram fixados pelo formol a 10% e depois passados para álcool 70^o, onde permaneceram até o processamento. Os parasitos encontrados durante as necrópsias foram colhidos e fixados em álcool fenólico a 5%.

3.2.6 Experimento 6: Levantamento epidemiológico da Lagochilascaríase em felídeos silvestres em Parques e/ou Zoológicos de algumas cidades do Estado de São Paulo

A colheita de fezes para este levantamento contou, em parte, com o consólio de projeto em conjunto com a Associação Mata Ciliar, de Jundiaí. Os exames parasitológicos de fezes foram realizados pela técnica de Willis Mollay, em triplicata. Um questionário foi apresentado aos responsáveis pelos felídeos para a obtenção de informações como: os locais onde vivem no momento da colheita, os locais de origem, aspectos sanitários e presença de sintomas relacionados à patologia em estudo (Anexo 1).

3.3 Obtenção dos ovos de *L. major* para infecção dos camundongos

Fezes frescas de felinos doadores, infectados unicamente com *L. major*, foram submetidas à centrifugação em gradiente de saturação de sacarose para a separação dos ovos das fezes segundo a técnica de MARQUARDT (1961).

3.4 Incubação dos ovos de *L. major*

A incubação dos ovos foi feita em frascos tipo Faulcon, com a tampa rosqueada frouxamente, em solução aquosa de formol a 1%, mantidos em temperatura de 27° C.

Os frascos contendo os ovos foram agitados, periodicamente, para produzir aeração.

3.5 Infecção dos camundongos com ovos de *L. major*

Após incubação dos ovos por 45 dias em solução aquosa com formol 1%, os mesmos foram lavados, três vezes, em água destilada, separados em alíquotas com concentrações de ovos conhecidas e oferecidos, oralmente, para os camundongos através de sonda esofágica.

3.6 Manutenção dos camundongos

Os 90 camundongos Balb/c utilizados foram criados e mantidos no Biotério de Experimentação do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP e utilizados com 30 dias de idade no início dos experimentos. Os animais foram alimentados com ração comercial peletizada e água "ad libitum". Para a forragem das bandejas utilizou-se serragem

esterelizada e os animais foram mantidos em temperatura constante de 25° C e com controle automático das horas de luminosidade disponível. As trocas das forragens das caixas foram feitas uma vez por semana.

3.7 Detecção da infecção experimental nos camundongos

Dez camundongos foram infectados com 100 ovos larvados de *L. major*, como descrito no item 3.5 e sacrificados 2 animais a cada 7 dias para estimativa do tempo mínimo de formação dos cistos parasitários, experimento 3.

A detecção da infecção experimental nos camundongos também pôde ser feita através da pesquisa da presença das larvas de 3° estágio do experimento 2 e através do estudo da localização dos cistos parasitários no experimento 4.

3.8 Obtenção dos cistos com L3 de *L. major* para infecção dos felinos

Os cistos foram obtidos de camundongos Balb/c, doadores, durante necrópsia, após 45 dias da infecção com ovos larvados do parasita. Os cistos foram utilizados até no máximo 6 horas depois de colhidos das carcaças e vísceras dos camundongos.

3.9 Infecção dos felinos com cistos de *L. major*

Os felinos receberam os cistos obtidos dos camundongos por via oral, envoltos em carne bovina moída. A ingestão foi espontânea e assistida para confirmar o consumo total da dose infectante, de acordo com o delineamento experimental.

3.10 Manutenção dos felinos

As felinas domésticas gestantes foram recebidas do CCZ e mantidas até o final da gestação em biotério. Os 8 filhotes utilizados no experimento foram mantidos em gaiolas, alimentados com ração comercial para gatos e água “ad libitum” tendo uma bandeja com areia sanitária para a deposição de seus dejetos. Uma vez por dia as gaiolas foram higienizadas.

3.11 Exames parasitológicos de fezes

Foram realizados exames parasitológicos nas fezes dos felinos segundo a técnica de Mc Master modificada (GORDON e WHITLOCK, 1939) para detecção de ovos de parasitos no início do experimento. As infecções experimentais foram feitas somente depois de confirmados através de vários resultados negativos nos exames parasitológicos. A partir da infecção experimental exames parasitológicos de fezes foram realizados diariamente

para a detecção do período pré-patente e acompanhamento da eliminação de ovos dos parasitos nas fezes durante o período experimental.

Exames parasitológicos de fezes, através da técnica de Willis Mollay foram realizados para a determinação da ocorrência de Iagochilascariase em felídeos mantidos em cativeiros nos Parques e Zoológicos do Estado de São Paulo.

3.12 Necrópsia e colheita de parasitos

Os camundongos foram sacrificados em câmara fechada com éter etílico. Os cistos neles encontrados foram utilizados para manutenção do ciclo em biotério, sendo oferecidos a doadores, reservados para exame histopatológico, separados para obtenção de larvas a serem medidas.

Os fígados, pulmões, estômagos e intestinos dos camundongos do experimento 2 foram retirados, colocados em estufa a 37^oC, imersas em solução salina, por 6 horas, para a liberação das larvas de parasitos que estivessem migrando pelos tecidos desse hospedeiro.

A localização dos cistos durante as necrópsias dos camundongos de experimento 4 foram feitas considerando-se a divisão corporal em regiões (Figura 1).

Os felinos do experimento 5 foram sacrificados com doses excessivas de anestésico à base de Thiopental sódico (Thionembutal[®]) seguida por injeção letal de curarizante (Flaxedil[®]). Os animais foram examinados rigorosamente para verificação do habitat dos parasitos. Porções dos tecidos adjacentes aos

locais parasitados foram colocadas em formol a 10% para fixação e posterior análise histopatológica. Fragmentos de fígado e pulmões foram colhidos e fixados para pesquisa de migrações dos parasitos por esses órgãos. Os parasitos colhidos durante a necrópsia foram armazenados em alcool fenólico 5% para posterior análise.

3.13 Exames histopatológicos

Após a colheita, os cistos envoltos em tecidos de camundongos e os locais de parasitismo nos felinos foram fixados em formol 10% e armazenados em álcool 70^o para posterior processamento em laboratório de histopatologia. Os tecidos foram observados em microscopia após coloração por hematoxilina e eosina. O processamento e coloração dos tecidos para estudo histopatológico foram realizados pelo Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Universidade São Paulo.

3.14 Colheita de sangue

As colheitas de amostras de sangue nos camundongos foram realizadas com pipeta Pasteur, nos plexos oculares, para a realização de hemogramas seriados.

Nos felinos, as veias jugulares foram utilizadas para obtenção de amostras de sangue. As amostras de sangue foram acondicionadas em frascos com EDTA para obtenção de sangue total para a realização dos hemogramas.

3.15 Hemograma

Todas as amostras de sangue para a realização de hemogramas foram homogenizadas com EDTA logo após punção do vaso sanguíneo de origem.

As contagens das hemácias foram feitas a partir de diluições em solução salina normal e contagem em retículo de Neubauer (1/5 de 1 mm²).

Valores de relação glóbulo plasmática, volumes globulares ou hematócritos foram obtidos através de centrifugação em centrífuga de microhematócrito que atinge aproximadamente 11000 rotações por minuto e uma força real de centrifugação de 13000 g, durante 5 minutos.

A dosagem de hemoglobina foi realizada pelo método colorimétrico, onde utilizou-se o Kit comercial Labtest Analisa[®] e espectrofotômetro regulado no comprimento de onda de 540 nm. O processo baseia-se na transformação do ferricianeto de potássio, estado ferroso à férrico, formando um pigmento estável: a cianometahemoglobina.

As dosagens de proteínas totais plasmáticas foram estimadas utilizando-se aparelho refratômetro.

As contagens dos leucócitos totais foram realizadas em retículo de Neubauer (4 x 1 mm²) após diluição 1:20 em líquido de Turk (ácido acético a 2%).

As contagens diferenciais dos leucócitos foram obtidos em leitura de lâminas de microscopia com esfregaço sanguíneo corados pelo panótico rápido[®].

3.16 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram estudados ao longo do tempo, utilizando-se a análise de variância para verificar as interações entre tempo e tratamento.

As comparações das médias foram realizadas utilizando-se o teste de Tukey ou Bonferroni, ao nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS

4.1 Experimento 1: Desenvolvimento embrionário do

Lagochilascaris major

Ovos de *L. major* (Figura 2) foram incubados a 27° C com fina camada de solução aquosa de formol a 1% e apresentaram a seguinte evolução embrionária: as divisões iniciais da célula germinativa dos ovos em 2, 4, 8 (Figuras 3,4 e 5) e 16 células aconteceram rapidamente durante as primeiras horas do primeiro dia de incubação . A partir de 8 células, dentro do ovo, tornou-se difícil a visualização e contagem das mesmas.

Durante as observações 1,0 % das células apresentaram formas irregulares e não se desenvolveram.

Larvas com motilidade dentro dos ovos puderam ser registradas no 9º dia de cultivo dos ovos. Estas primeiras larvas, extraídas de ovos, foram identificadas como sendo do 1º estágio por não apresentarem descolamento de cutícula nas extremidades.

As primeiras mudas (L1 para L2) foram observadas em torno dos dias 14 a 16 do início da incubação, sendo a cutícula bastante fina e tênue. Observou-se um alargamento seguido de constrição na extremidade posterior das larvas de segundo estágio já contendo o esboço da protuberância terminal (Figura 6).

A porção anterior das larvas de 1º e 2º estágios apresentaram uma certa assimetria e forma arredondada.

As segundas mudas (L2 para L3) puderam ser constatadas em torno do 20º dia de incubação.

A figura 7 e 8 mostram a cutícula da 1ª e 2ª muda. Percebe-se, nitidamente, os vestígios correspondentes à formação da abertura oral, na extremidade anterior, e da protuberância terminal, na extremidade posterior.

As larvas de 3º estágio possuíam protuberância terminal bem evidente e na extremidade anterior pequenas saliências correspondentes a formação dos lábios.

As larvas de 3º estágio apresentaram maior resistência à compressão entre lâmina e lamínula, poucas vezes apresentando rupturas.

As medidas de comprimento das larvas extraídas de ovos de *L. major* com 20, 120 e 424 dias de incubação são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$) como mostram os dados da Tabela 4 e Anexo 2.

Tabela 4 - Comprimento de larvas, em mm, extraídas de ovos de *L. major* em diferentes tempos de incubação

	20 dias	120 dias	424 dias
nº de larvas medidas	30	37	30
Média	0,424779 ^a (0,39 - 0,47)	0,37775 ^b (0,32 - 0,47)	0,353598 ^c (0,27 - 0,47)
Mediana	0,417731	0,37867	0,349191
Moda	0,43372	0,37558	0,346938
Desvio padrão	0,0221133	0,0373031	0,045299

Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significantes ($p < 0,05$).

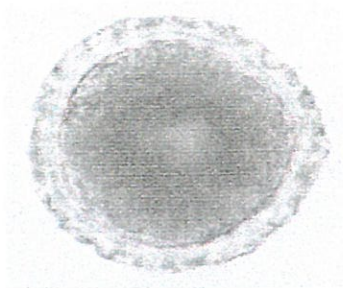


Figura 2 - Ovo de *Lagochilascaris major* (x1700)

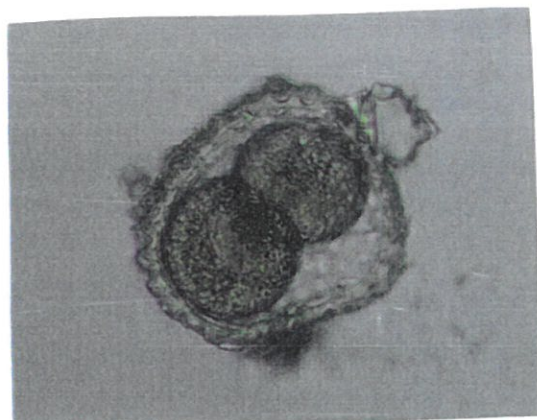


Figura 3 - Ovo de *Lagochilascaris major* com 2 células embrionárias (x1700)

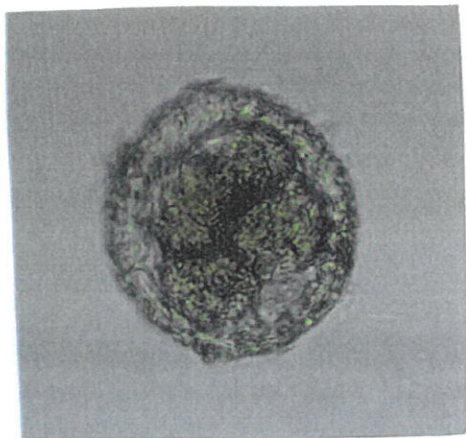


Figura 4 - Ovo de *Lagochilascaris major* com 4 células germinativas(x1700)



Figura 5 - Ovo de *Lagochilascaris major* com 8 células germinativas(X 1700)

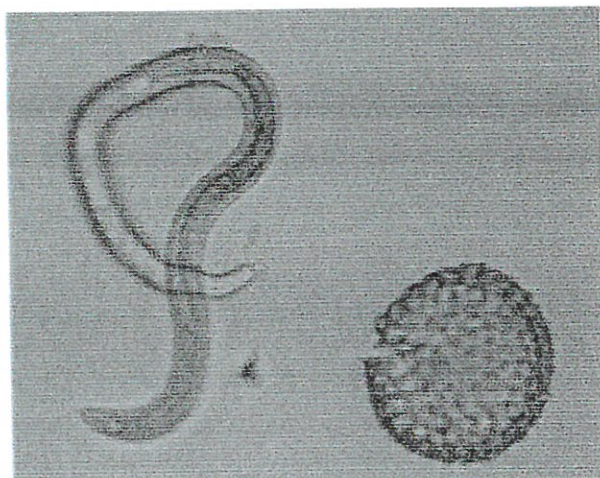


Figura 6 - Larva recém eclodida artificialmente de ovo de *Lagochilascaris major*, após 14 dias de incubação (x 850)

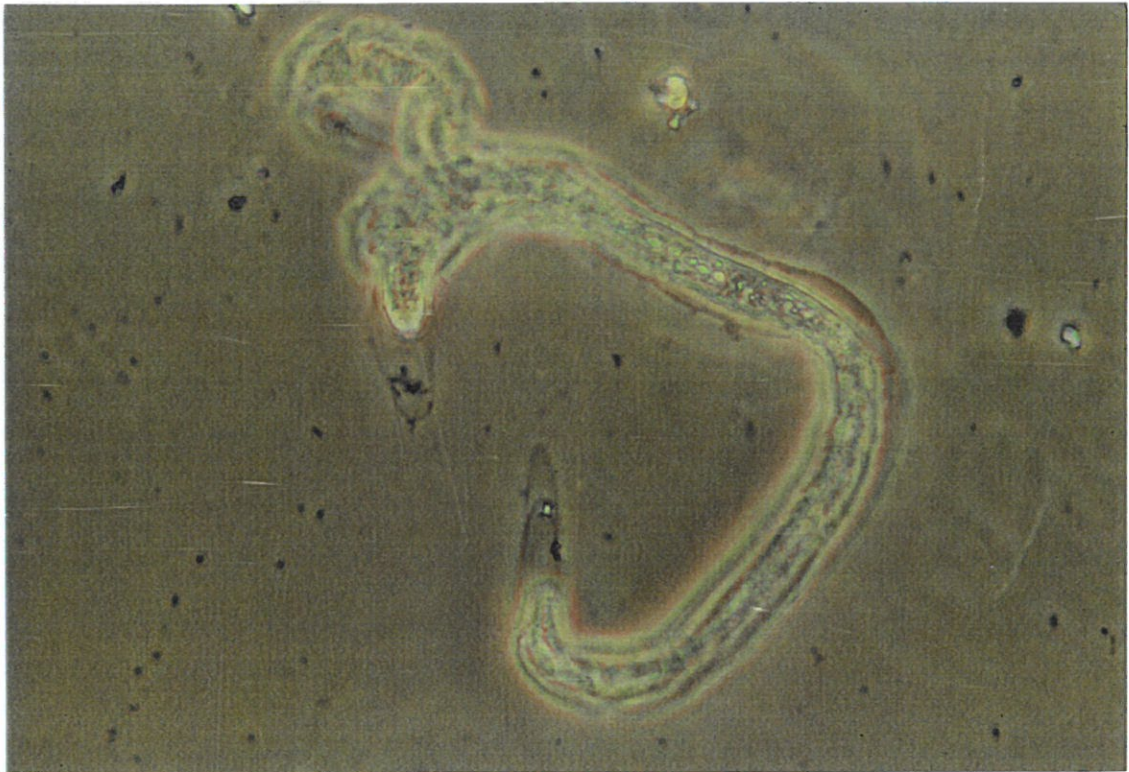


Figura 7 - Larva de 3^o estágio de *Lagochilascaris major*, mostrando as cutículas correspondentes à 1^a e 2^a mudas no ovo (X 1700).

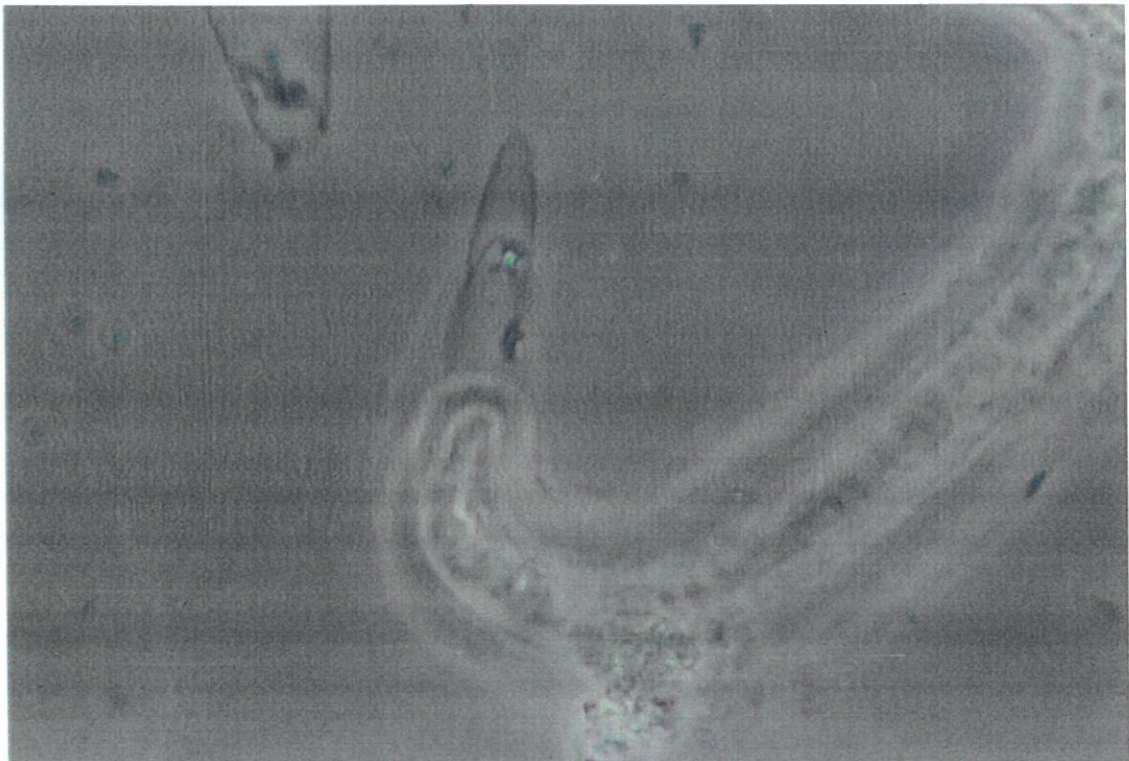


Figura 8 - Larva de 3^o estágio de *Lagochilascaris major* com duas cutículas (X 4250)

4.2 Experimento 2: Migração das larvas de terceiro estágio, de *L. major*, nos camundongos

Os ovos larvados de *L. major* após ingeridos por camundongos liberaram larvas de terceiro estágio no estômago e intestino dos roedores. Essas larvas migraram para diversos tecidos logo nas primeiras horas após a infecção e tenderam a seguir para os músculos estriados e tecido subcutâneo onde se encistaram, deixando de migrar e permanecendo no terceiro estágio larval.

Após 2 horas da infecção dos camundongos com 100 ovos larvados de *L. major* foram encontrados ovos e larvas livres no conteúdo estomacal e no fígado homogeneizado. Após 12 horas, um ovo foi encontrado no conteúdo do intestino, duas larvas nas paredes dos intestinos, uma no fígado e vinte e nove nos pulmões. Após 24 horas da infecção foram encontradas somente larvas nos pulmões, sendo 22 nas 24 horas e 17 após as 48 horas de infecção (Figura 9 e Tabela 5). Decorridas cento e noventa e duas horas após a infecção ainda foi encontrada uma larva no pulmão.

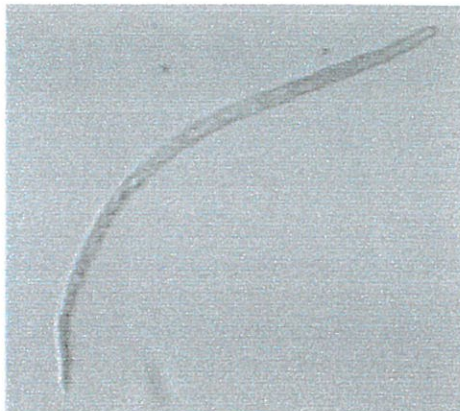


Figura 9 - Larva de *L. major* encontrada em pulmão de camundongo 24 horas após a infecção (x 850)

Tabela 5 - Migração das larvas de 3^o estágio, de *L. major* nos tecidos dos camundongos

	Horas Após a Infecção	Conteúdo Estomacal	Parades estomacais	Conteúdo Intestinal	Paredes Intestinais	Fígado	Pulmões
1	2	1	-	-	-	2	-
2	2	3*	-	-	-	1	-
3	2	-	-	-	-	-	-
4	6	-	-	-	-	-	-
5	6	-	-	-	-	-	-
6	6	-	-	-	-	-	-
7	12	-	-	-	2	1	12
8	12	-	-	-	-	-	-
9	12	-	-	1*	-	-	17
10	24	-	-	-	-	-	-
11	24	-	-	-	-	-	15
12	24	-	-	-	-	-	7
13	48	-	-	-	-	-	12
14	48	-	-	-	-	-	-
15	48	-	-	-	-	-	5
16	72	-	-	-	-	-	-
17	72	-	-	-	-	-	-
18	72	-	-	-	-	-	-
19	120	-	-	-	-	-	-
20	120	-	-	-	-	-	-
21	120	-	-	-	-	-	-
22	192	-	-	-	-	-	-
23	192	-	-	-	-	-	1
24	192	-	-	-	-	-	-
25	384	-	-	-	-	-	-
26	384	-	-	-	-	-	-
27	384	-	-	-	-	-	-
28	720	-	-	-	-	-	-
29	720	-	-	-	-	-	-
30	720	-	-	-	-	-	-

* OVOS

4.3 Experimento 3: Estimativa do período mínimo para formação de cistos parasitários nos camundongos

Cistos parasitários não foram observados até o 21º dia após a infecção dos camundongos com ovos larvados. O período pré-patente da infecção nos camundongos, estimado por necrópsias semanais, ficou entre 21 e 30 dias após a infecção, pois os cistos foram visualizados pela primeira vez no dia 30 após a infecção (Figuras 10 e 11).

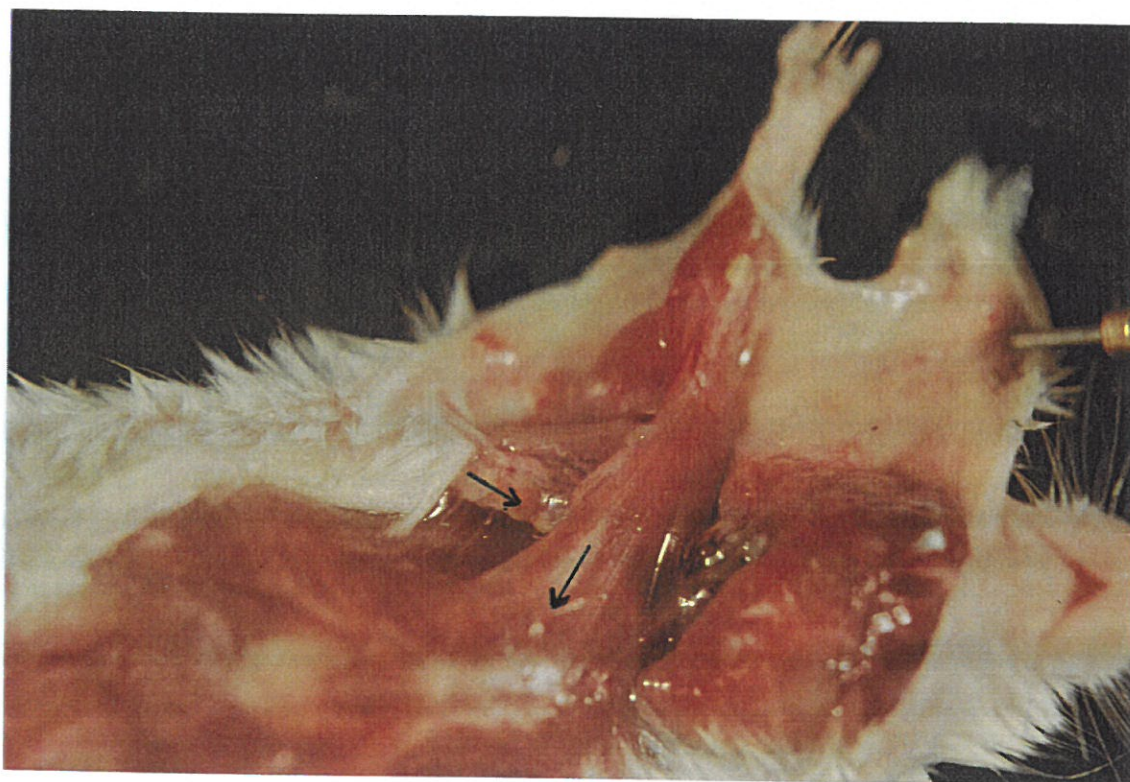


Figura 10 - Cistos parasitários em camundongo, 30 dias após a infecção

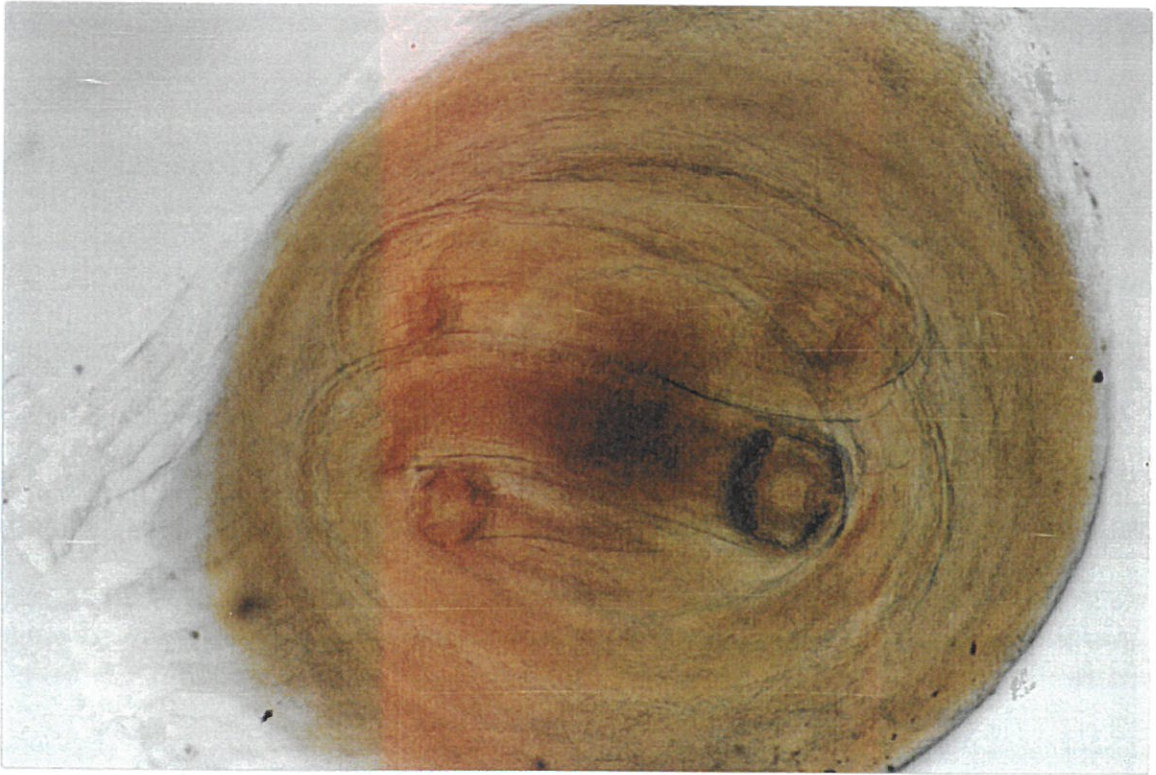


Figura : 11 Cisto parasitário clarificado por fenol (x 1700).

4.4 Experimento 4: influência do nível de infecção no estabelecimento da parasitose em camundongos

Todos os camundongos submetidos aos vários níveis de infecções com ovos larvados de *L. major* apresentaram cistos parasitários.

Após 6 meses da infecção com ovos infectantes de *L. major*, 36 camundongos foram sacrificados para localização dos cistos parasitários.

Não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre os números totais de cistos que se estabeleceram nos camundongos infectados com diferentes doses de ovos larvados, após 6 meses de infecção (Tabela 6).

Tabela 6 - Número total de cistos contados nas carcaças de camundongos infectados com diferentes doses de ovos larvados de *L. major* decorridos 6 meses após a infecção.

	Infectados com 50 ovos	Infectados com 100 ovos	Infectados com 200 ovos
Nº de Animais (n)	9	9	8
Média de Cistos	30 ^a (22 - 39)	30,33 ^a (12 - 46)	37,5 ^a (18 - 78)
Mediana	30	31	34,5
Desvio Padrão	5,91	12,33	19,41

Letras iguais indicam que não há diferença estatística ($p > 0,05$)

Houve influência da dose infectante em relação à distribuição dos cistos. Diferenças significantes foram constatadas entre o número de cistos que se estabeleceram nas diferentes regiões corporais dos camundongos (Tabela 7). Observou-se um maior estabelecimento de cistos nas porções anteriores do corpo, na carcaça anterior direita nos animais infectados com 50 e na carcaça anterior esquerda do infectados com 100 e 200 ovos larvados.

O desenvolvimento das larvas nos cistos, medido através do comprimento foi, em média, de 7,79 mm (6,66 - 8,66), com desvio padrão de 0,61 mm (Figura 12 e Anexo 3). Essas medidas evidenciaram o crescimento da ordem de 20,5 vezes, desde o momento da ingestão das L3 infectantes pelos camundongos, até a formação dos cistos com L3 final encistada (Figura 13).

Tabela 7 - Distribuição do número médio dos cistos parasitários, por região corporal, nos camundongos, decorridos 6 meses de infecção.

Grau de Infecção	Região Cefálica	Carcaça Anterior		Região Toraco-Lombar	Carcaça Posterior	
		Direita	Esquerda		Direita	Esquerda
50 (n=9)	4,55	6,88	5,88	6,77	2,88	2,44
	2,13 *	1,45 *	2,36 *	1,92 *	1,54 *	2,18 *
100 (n=9)	4,11	5,77	6,66	4,88	4,22	4,33
	2,42 *	2,78 *	4,27 *	2,42 *	3,41 *	2,78 *
200 (n=8)	5,37	6,75	10,37	6,25	2,87	5,25
	2,92 *	4,62 *	4,59 *	6,15 *	1,36 *	3,28 *

• desvio padrão

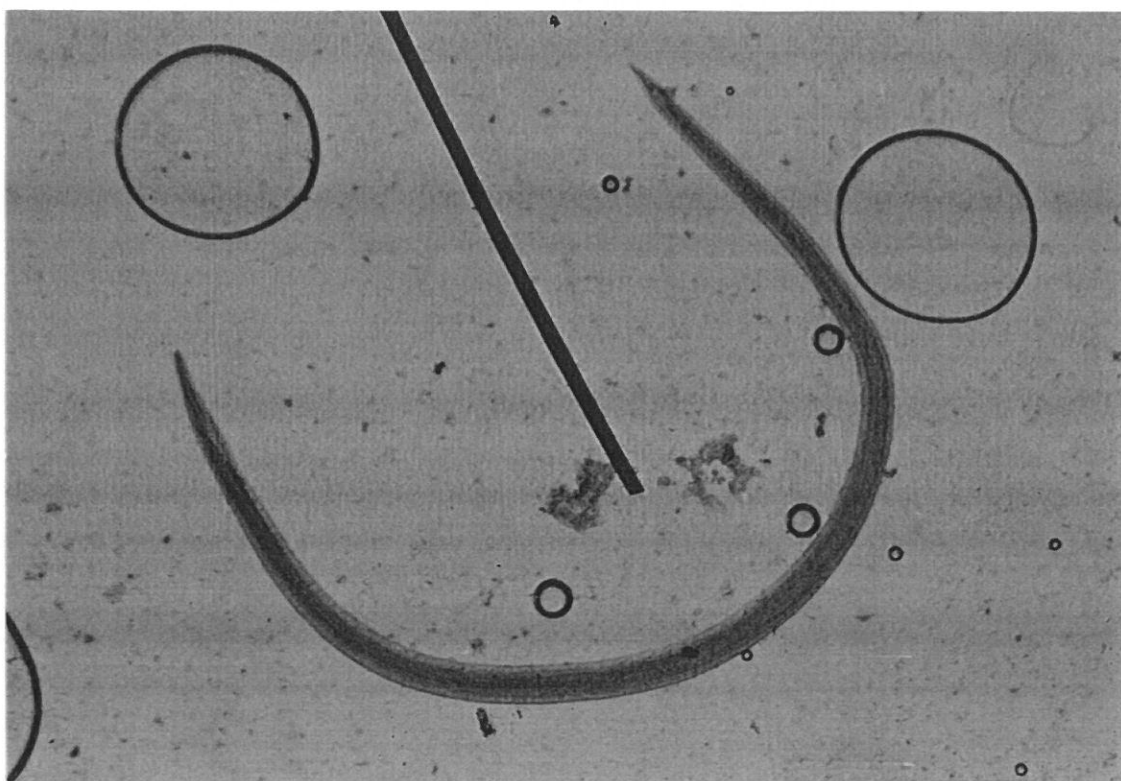


Figura 12 - Larva de 3º estágio final de *L. major*, recuperada de cisto após 6 meses de infecção (x 170)

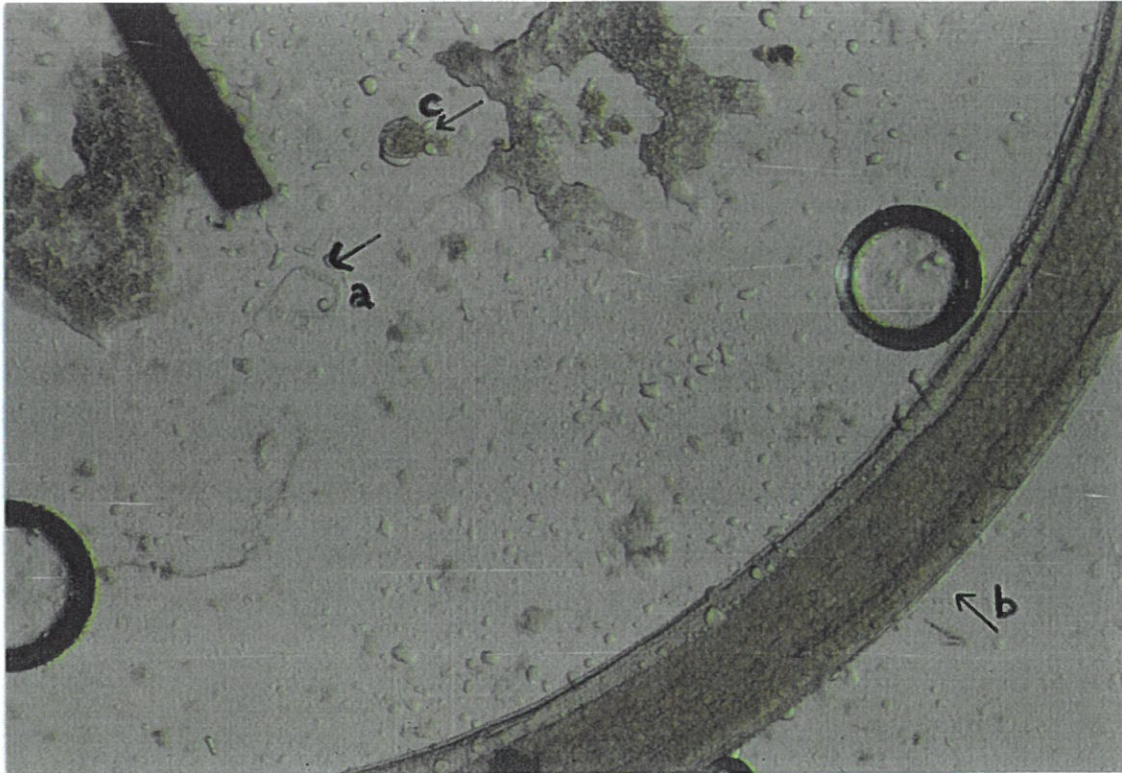


Figura 13 - Larva de terceiro estágio inicial (a), final (b) e ovo larvado de *L. major* (c) (x 850).

4.5 Alterações histológicas de tecidos de camundongos parasitados com *L. major*.

Cortes histológicos dos tecidos dos camundongos apresentaram, ao redor das larvas de terceiro estágio, células de infiltrado inflamatório (Figura 14). As células em maior número ao redor das larvas, nos cistos, foram os fibroblastos, mas também pôde-se perceber, em maior aumento, neutrófilos, eosinófilos e macrófagos (Figura 15).

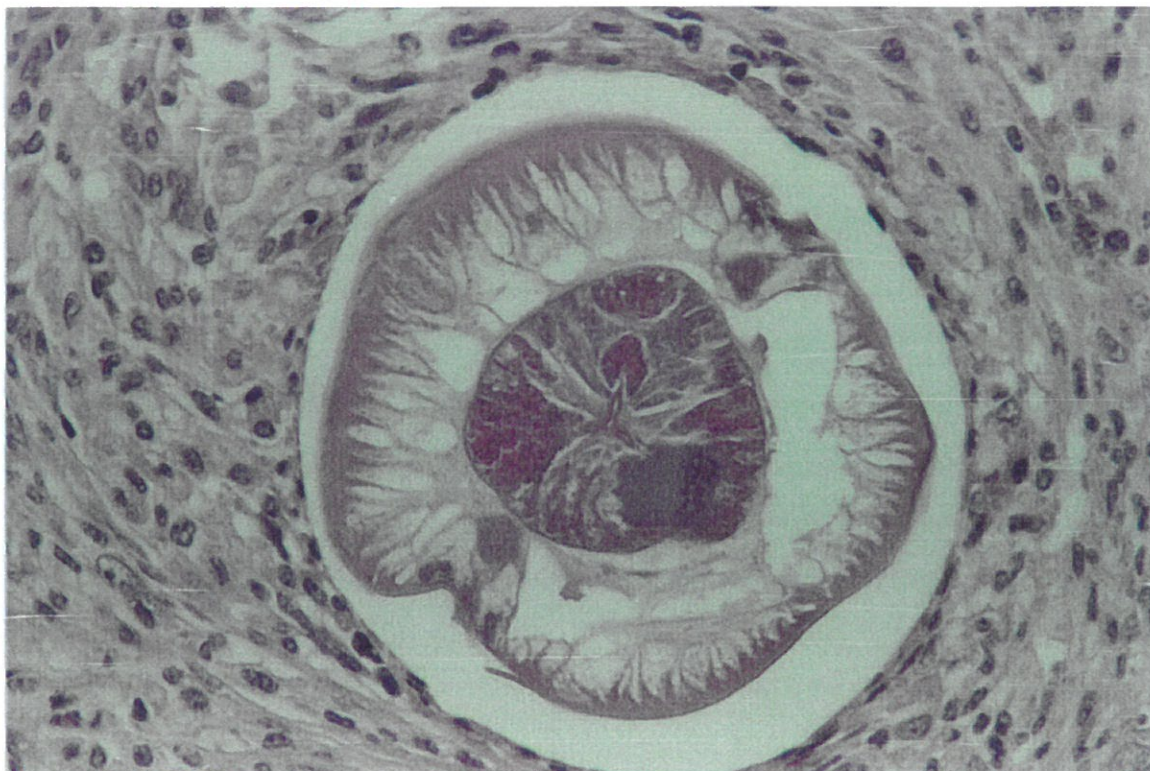


Figura 14 - Corte histológico de cisto parasitário de *L. major* (x 1700)

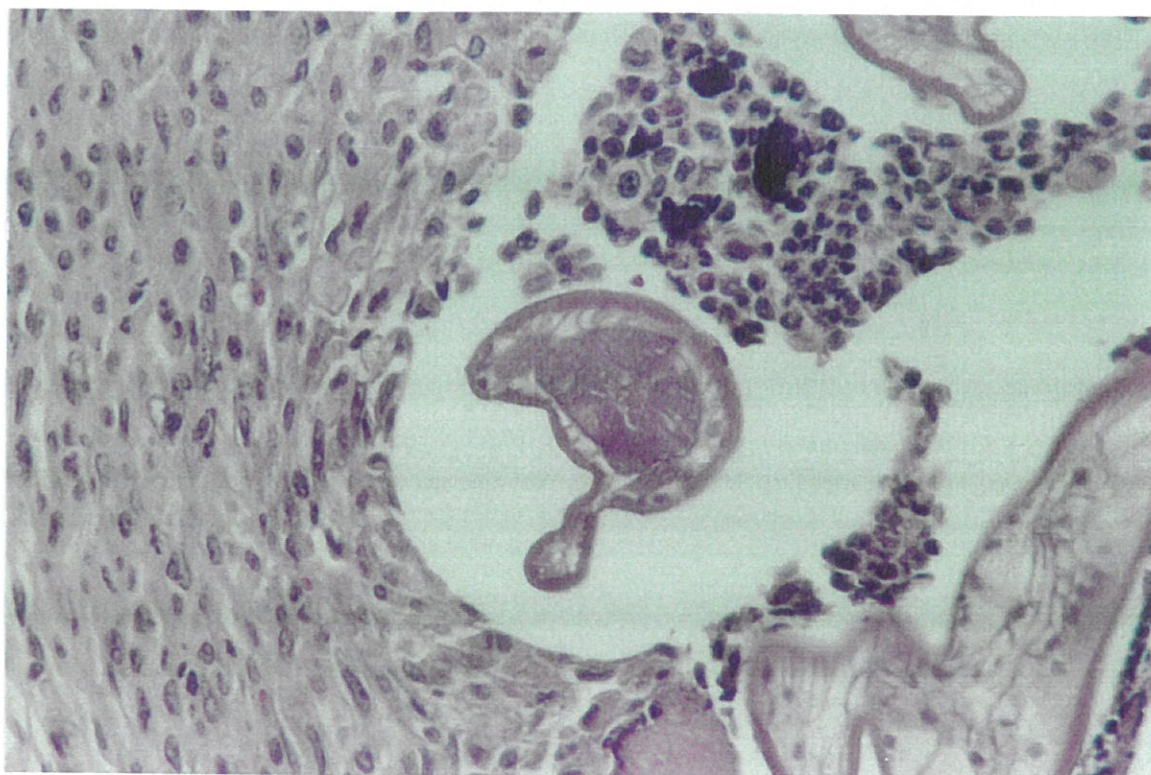


Figura 15 - Fibroblastos, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos e macrófagos em cisto parasitário de *L. major* (x1700).

4.6 Hemograma

4.6.1 Hemácias

Foi constatado efeito do tempo ou da idade do animal sobre a contagem das hemácias no sangue periférico dos camundongos do experimento 4 (Figura 16). O grupo B, de camundongos infectados com 50 ovos, apresentou número de hemácias significativamente diferente ($p < 0,05$) entre o início (dia 22 após infecção) e final do experimento (dia 173 após infecção).

Os camundongos infectados com 100 ovos larvados tiveram contagens de hemácias estatisticamente diferentes entre os dias 22 e 173; 70 e 173 ($p < 0,05$); ficando também sugestiva diferença entre os dias 0 a 173 ($0,05 < p < 0,10$).

Não foram constatados efeitos dos tratamentos ou efeitos cruzados de tratamento e tempo nos camundongos do experimento 4 ao que se refere à contagem de hemácias.

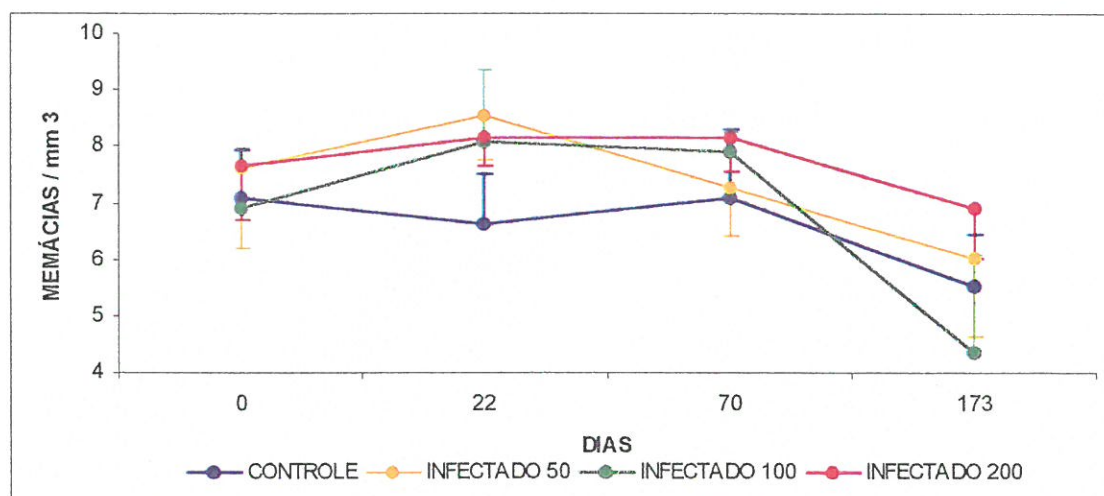


Figura 16 - Hemácias por mm³ de sangue dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de *L. major* e do grupo controle não infectado, nos dias 0, 22, 70 e 173 a partir do início do experimento.

4.6.2 Hematócrito

Os valores dos volumes globulares obtidos apresentaram variabilidade significativamente diferente ($p < 0,05$) entre o dia 0 e os demais dias no grupo controle do experimento 4 (Figura 17).

Houve efeito do tempo no volume globular dos camundongos do experimento 4. As diferenças ocorreram no grupo A (não infectados) entre os dias 0 e 22; 0 e 70; 22 e 173; 70 e 173 após a infecção.

No grupo de camundongos infectados com 50 ovos obteve-se valor sugestivo de diferença estatística ($0,05 < p < 0,10$) entre os dias 22 e 173 após a infecção.

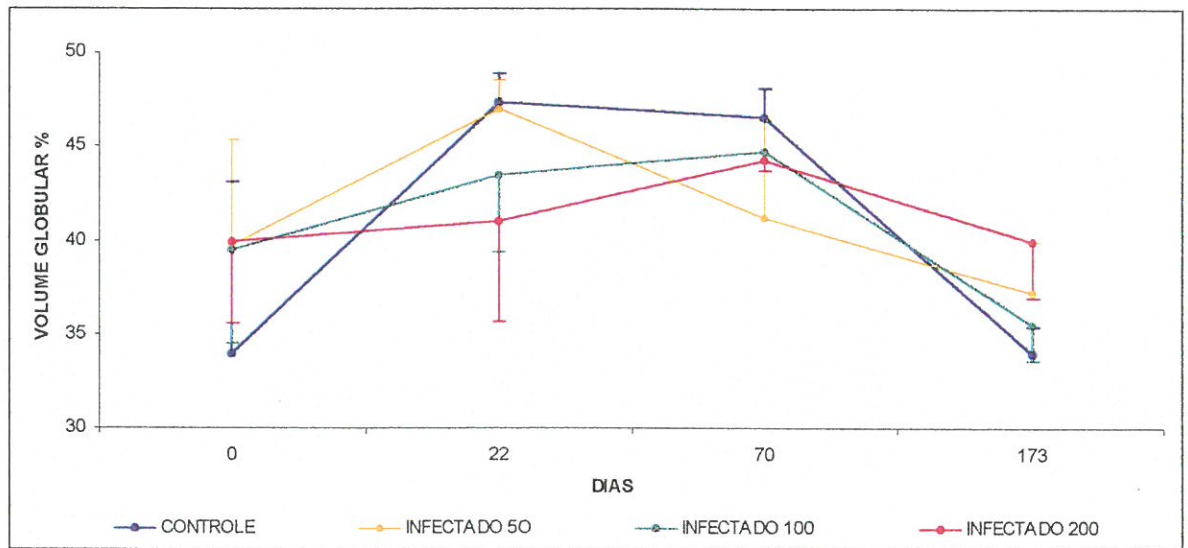


Figura 17 - Volume globular dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de *L. major*, e grupo controle não infectado, nos dias 0, 22, 70 e 173 após o início do experimento.

4.6.3 Hemoglobina

A hemoglobina variou com o tempo, mas não sofreu efeito relacionado à dose infectante (Figura 18). Considerando as dosagens de cada dia isoladamente, não apresentaram variações estatísticas significantes entre os grupos ($p > 0,05$).

No grupo não infectado houveram diferenças nas dosagens de hemoglobina entre os dias 0 e 22 e também entre os dias 70 e 173 após o início do experimento.

No grupo dos infectados com 100 ovos, houve diferença nas dosagens de hemoglobina entre os dias 0 e 70 após a infecção.

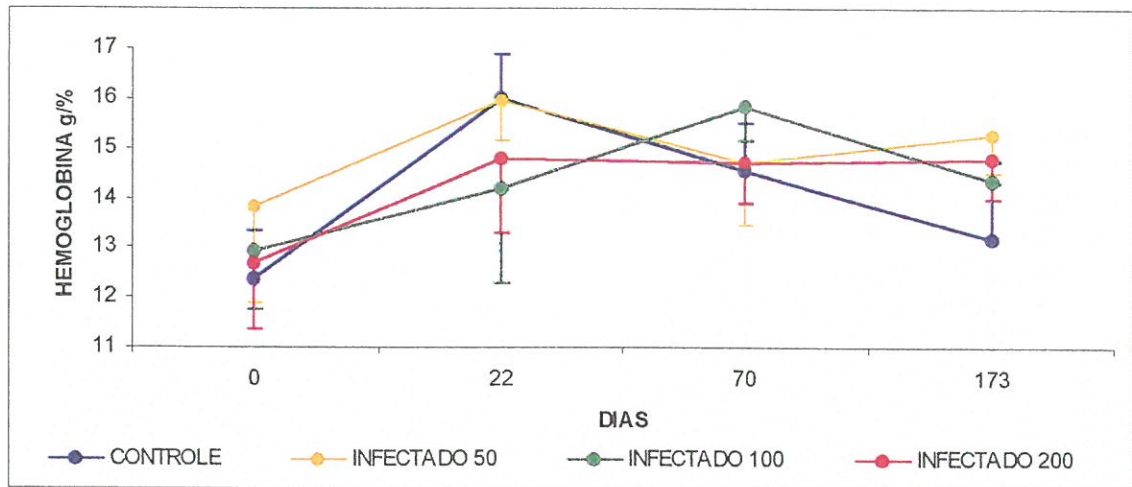


Figura 18 - Hemoglobina (g/dl) dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de *L. major* e do grupo controle negativo, nos dias 0, 22, 70 e 173 do início do experimento.

4.6.4 Leucócitos

Os leucócitos variaram significativamente em relação ao tempo e também em relação ao tratamento (Figura 19).

Houve diferença entre o grupo A, não infectados e o D, infectados com 200 ovos, no dia 70 após a infecção.

Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) foi observada no grupo D, infectados com 200 ovos, entre os dias 22 e 70.

Verificou-se a tendência de diferença estatística ($0,05 < p < 0,10$) entre os dias 70 e 173 no grupo C, infectados com 100 ovos larvados, mostrando uma diminuição dos valores médios.

No dia 173 após a infecção, houve diferença entre o número médio de leucócitos totais dos animais infectados com 50 e 100 ovos, enquanto que, entre o número médio de leucócitos dos animais do grupo controle e infectados com 100 ovos houve uma tendência de diferença estatística ($0,05 < p < 0,10$).

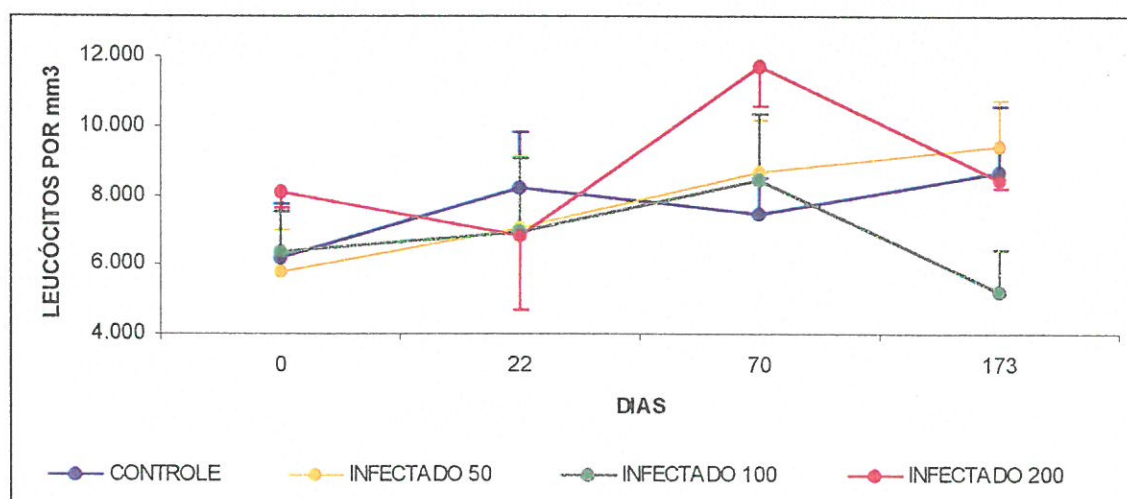


Figura 19 - Leucócitos totais dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de *L. major* e do grupo controle não infectado, nos dias 0, 22, 70 e 173 do início do experimento.

4.6.5 Neutrófilos

Houve diferença estatística ao considerar-se o tempo, o tratamento e os dois em interação (Figura 20).

No grupo controle não infectado houve diferença entre os dias 22 e 173 ($p < 0,05$). Verificou-se uma tendência de diferença entre os dias 0 e 173 após a infecção ($0,05 < p < 0,10$).

Nos animais infectados com 50 ovos houve um aumento significativo ($p < 0,05$) no número médio de neutrófilos, quando se observa o início e o fim do experimento, dias 0 e 173 e também quando se compara o decorrer da infecção ao final, nos dias 22 e 173.

Já no grupo de camundongos infectados com 100 ovos larvados, houve diferença no número médio de neutrófilos apenas entre o início e o final do experimento, dias 0 e 173 após a infecção.

As contagens de neutrófilos dos animais de grupos diferentes não apresentaram diferenças estatísticas quando avaliados pontualmente, quanto ao tempo, em cada dia de coleta e análise, apresentando sempre a mesma tendência nos dias estudados (0,22,70 e 173).

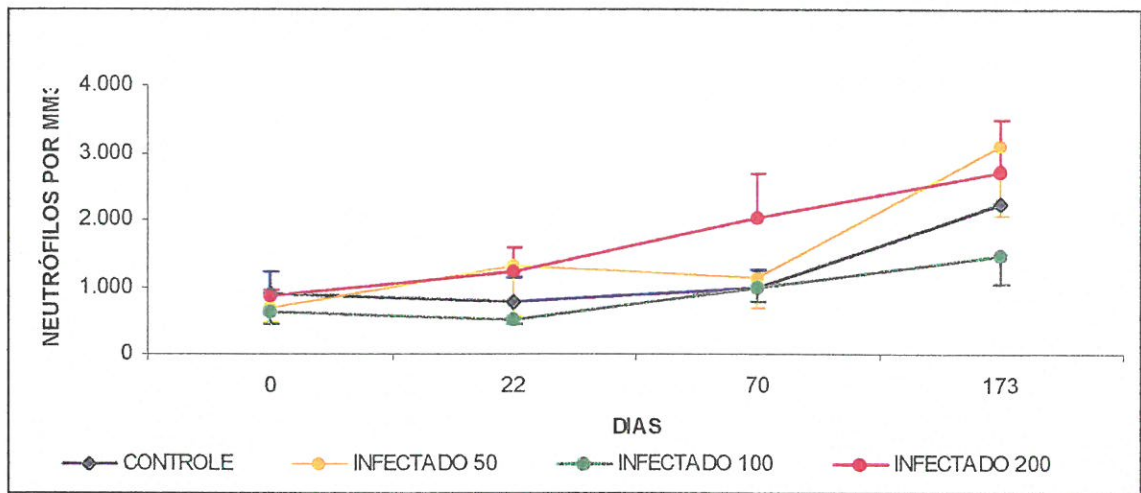


Figura 20 - Neutrófilos dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de *L. major* e do grupo controle não infectado, nos dias 0, 22, 70 e 173 do início do experimento.

4.6.6 Linfócitos

Houve efeito do tempo e do tempo juntamente com tratamento (Figura 21).

Observando-se dados de tratamento isoladamente não se constatou diferença estatística, porém, apenas na variável tempo percebe-se diferença entre os dias 22 e 70; 22 e 173; 70 e 173 ($p < 0,05$). Tendo a tendência de diferença entre os dias 0 e 70 ($p = 0,059$).

Considerando-se o tempo e tratamento: o grupo C, infectados com 100 ovos, apresentou diferença entre os dias 22 e 173 e também entre o 70 e 173; e o grupo D, infectados com 200 ovos, apresentou diferença entre o dia 22 e 70. Ainda deve-se considerar tendência de diferença no grupo C, entre os dias 0 e 173 ($0,05 < p < 0,10$).

Considerando-se o dia da coleta e o grau de infecção dos grupos percebe-se diferença significativa entre as médias das contagens de linfócitos entre os grupos A, não infectados e C, infectados com 100 ovos larvados, no dia 173. Os

demais grupos não se alteraram no decorrer do tempo, seguindo um mesmo padrão de variação não apresentando diferenças significantes.

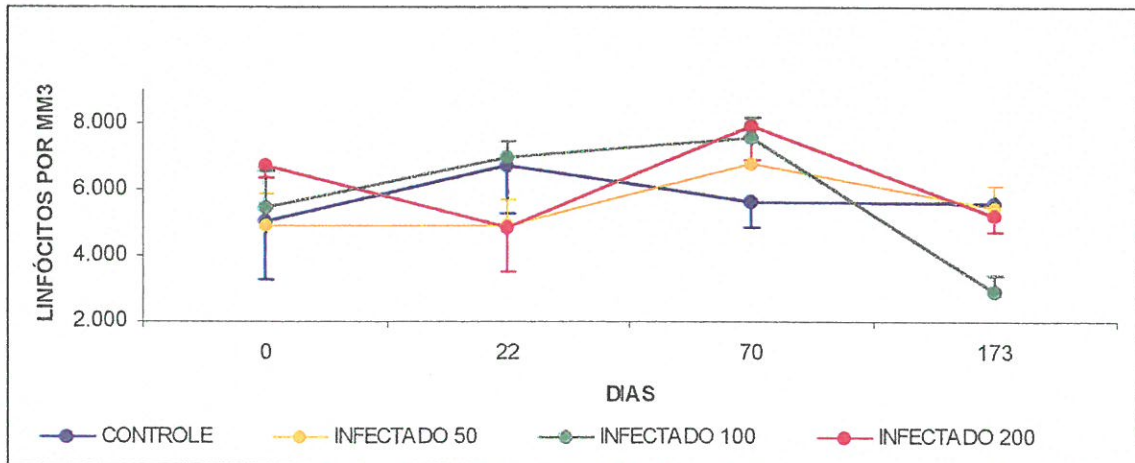


Figura 21 - Linfócitos dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de *L. major* e do grupo controle não infectado, nos dias 0, 22, 70 e 173 da infecção.

4.6.7 Monócitos

Os monócitos apresentaram diferenças estatísticas quanto ao tratamento e também no decorrer do tempo, sem apresentarem diferenças quanto à interação dessas duas variáveis (Figura 22).

Houve diferença entre os grupos C, infectados com 100 ovos, e o D, infectados com 200 ovos. O tempo exerceu seu efeito resultando em contagens com diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre os dias 70 e 173 e também entre os dias 0 e 70.

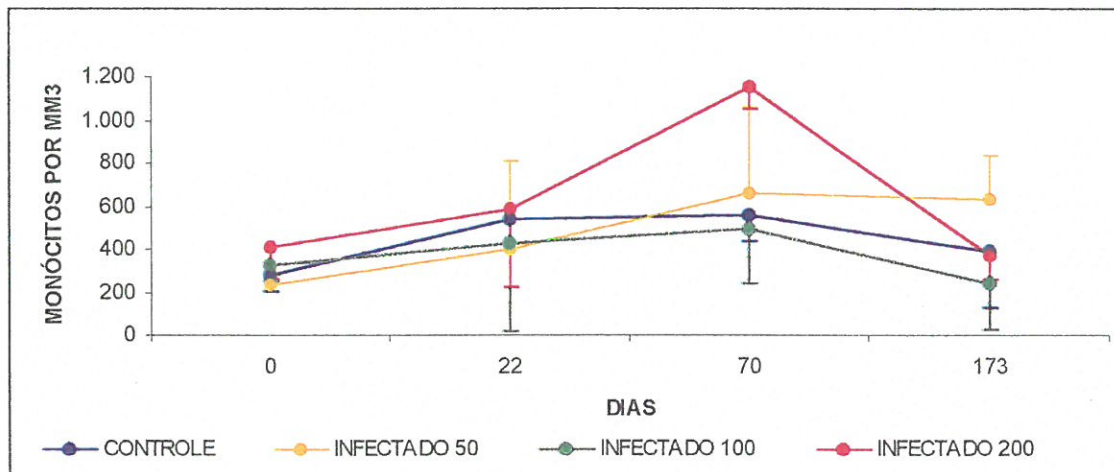


Figura 22 - Monócitos dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de *L. major* e do grupo controle não infectado, nos dias 0, 22, 70 e 173 da infecção.

4.6.8 Eosinófilos

Houveram diferenças entre os tempos 0 e 22; 0 e 70; 0 e 173, efeito do tempo de vida ou idade (Figura 23).

Diferenças estatísticas não foram constatadas entre as contagens de eosinófilos por mm^3 de sangue quando foram considerandos os efeitos da dose infectante e também o efeito cruzado entre dose infectante e tempo.

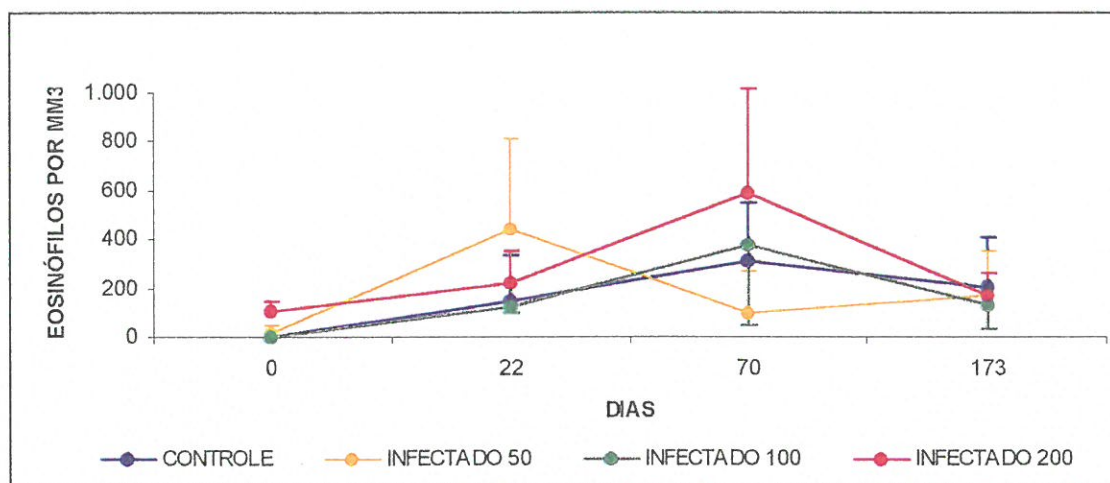


Figura 23 - Eosinófilos dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de *L. major* e do grupo controle não infectado, nos dias 0, 22, 70 e 173 do início do experimento.

4.7 Proteínas totais plasmáticas

Não ocorreram diferenças estatísticas entre os grupos de camundongos quanto à proteína total plasmática durante todo o experimento ($p > 0,05$).

Os grupos apresentaram o mesmo comportamento com tratamentos diferentes, durante o tempo (Figura 24).

Mesmo não havendo diferença estatística dos valores da proteína total plasmática percebeu-se uma tendência crescente nos valores no decorrer do tempo.

Deve-se considerar que mesmo não havendo diferença estatística para a proteína total plasmática entre os grupos e no decorrer do tempo, houveram

diferenças nas variâncias entre os dias 0 e 70, 0 e 173 e entre os grupos de animais infectados com 50 e 100 ovos larvados.

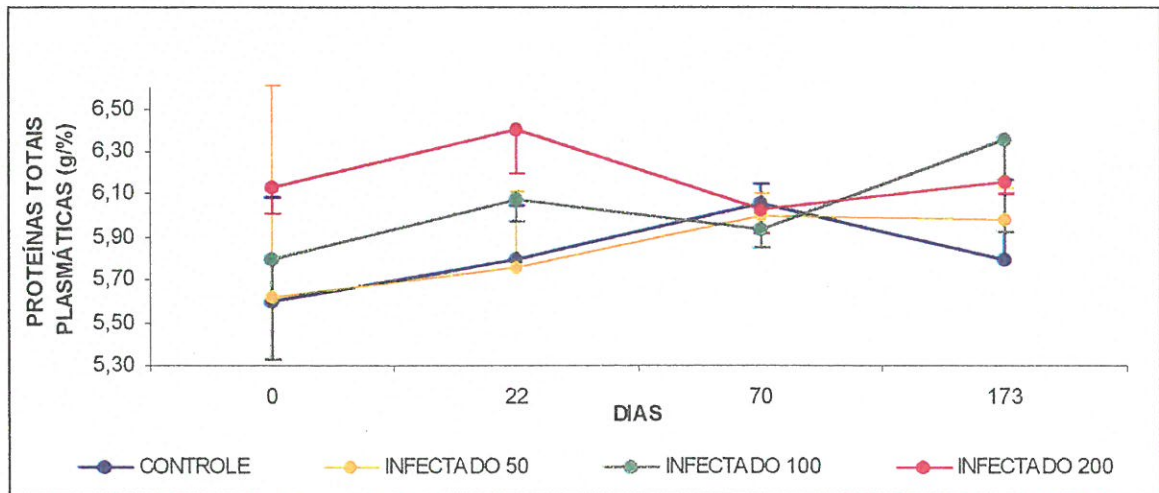


Figura 24 - Proteínas Totais Plasmáticas (g/dl) no sangue dos camundongos infectados com 50, 100 e 200 ovos larvados de *L. major* e do grupo controle negativo nos dias 0, 22, 70 e 173 do início do experimento.

4.8 Experimento 5: Infecção experimental com *Lagochilascaris major* em felinos domésticos

4.8.1 Sinais clínicos

Nenhum felino infectado apresentou temperatura corporal alterada, as temperaturas mantiveram-se entre 28 e 29 °C.

Movimentos mandibulares, de desconforto, semelhantes a movimentos mastigatórios, mas observados quando o animal não estava se alimentando, foram observados entre a 2^a e 3^a semana após a infecção no felino C, que recebeu 50 cistos e se livrou da infecção aos 60 dias e os movimentos mandibulares de desconforto também foram vistos durante a 4^a e 5^a semana no felino A, infectado com 50 cistos parasitários de *L. major* e no qual foi recuperado um nematóide fêmea.

Àtravés de palpação e exame ultrassonográfico da região cervical correspondente ao local de parasitismo não foram constatadas quaisquer alterações.

O apetite dos animais manteve-se constante durante todo o experimento.

As fezes dos felinos não apresentaram alterações como sangue, muco ou consistência amolecida.

4.8.2 Contagem de ovos de *L. major* por grama de fezes (OPG)

Apenas ovos de *L. major* foram encontrados nas fezes dos felinos infectados.

Nos felinos controles, não infectados, não foram encontrados ovos, seja de *L. major* ou outros parasitos.

As contagens de ovos por grama (OPG) de fezes foram realizadas diariamente.

As médias semanais de OPG encontram-se na Tabela 8.

Dois felinos deixaram de eliminar ovos de *Lagochilascaris major* nas fezes antes do término do experimento.

Tabela 8 - Ovos por grama de fezes dos felinos infectados com *L. major*, durante o período experimental.

SEMANAS	1	2	3	4	5	6	7	8
Animais								
A	0	0	50	500	850	700	600	300
B	0	200	1100	2000	2250	2000	2000	1800
C	0	0	850	1350	100	0	0	0
D	0	200	1450	1200	900	850	300	0
E	0	0	0	0	0	0	0	0
F	0	0	0	0	0	0	0	0
G	0	0	0	0	0	0	0	0
H	0	0	0	0	0	0	0	0

4.8.3 Determinação do período pré-patente

O período desde a infecção dos felinos com cistos contendo larvas de 3º estágio de *L. major* até a eliminação dos ovos postos pelos parasitas adultos, encontrados nas fezes dos felinos, foi de 15 dias em média, apresentando um mínimo 14 e máximo 16 dias após a infecção.

4.8.4 Local de parasitismo de *Lagochilascaris major* nos felinos

Todos os vermes adultos estavam alojados nas fossas das tonsilas palatinas, na orofaringe dos felinos domésticos, do experimento 5 (Figura 25 e 26).

Não foram encontradas formas jovens dos parasitos no local de parasitismo 60 dias após a infecção. A confirmação que o parasito em estudo era *L. major* foi obtida através da medida dos nematóides adultos (Anexo 4).

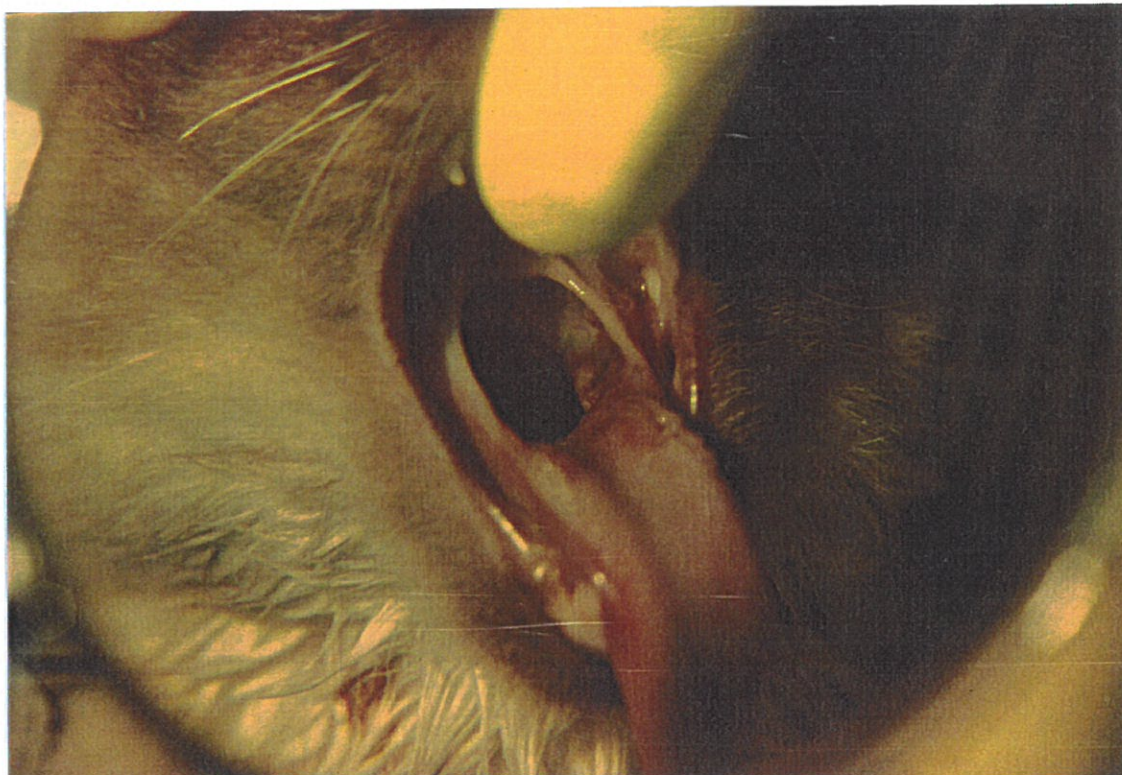


Figura 25 - Fossa da tonsila palatina com *Lagochilascaris major*



Figura 26 - Fossa da tonsila palatina durante necrópsia

4.8.5 Parasitos adultos

Dos 4 felinos infectados com 50 cistos de *L. major*, 2 eliminaram a infecção e 2 permaneceram infectados até o final do experimento.

De um dos felinos que se manteve infectado foram colhidos 25 nematóides adultos, sendo 10 fêmeas e 15 machos.

Do outro felino que se manteve infectado até o final do experimento colheu-se uma fêmea adulta.

Nos locais de parasitismo foram identificados ovos e adultos de *L. major* (Figura 27) e ao exame do conteúdo e secreção local não foram visualizadas as formas intermediárias de desenvolvimento do parasito.

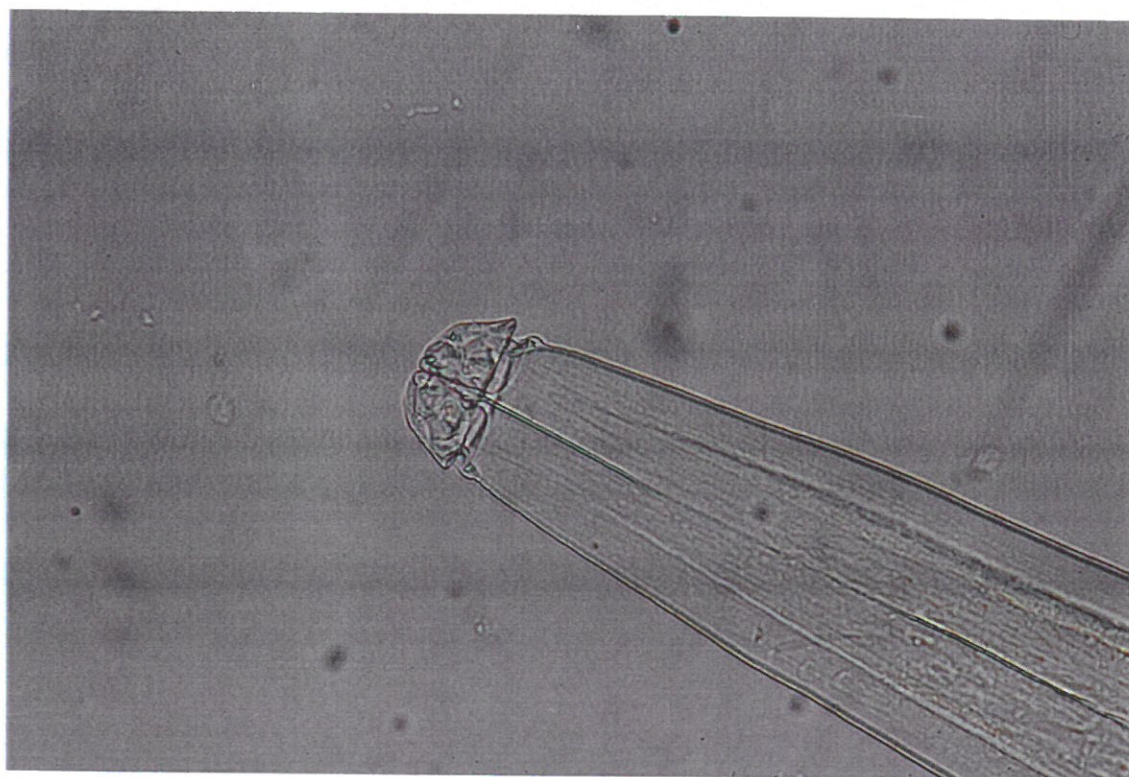


Figura 27 - Adulto de *Lagochilascaris major*, clarificado por fenol (850)

4.8.6 Alterações histológicas no local de parasitismo do

L. major

A fossa da tonsila palatina direita do felino parasitado com 25 vermes adultos apresentou na lâmina própria da orofaringe, processo inflamatório com deposição de colágeno, vasos neoformados e infiltrado com predomínio de células mononucleares (Figura 28). Os folículos linfóides exibiram discreta hiperplasia dos centros germinativos. Na necrópsia observou-se um aumento de volume do linfonodo submandibular. Ao exame microscópico constatou-se acentuada hiperplasia dos centros germinativos associada a hiperplasia interfolicular.

A fossa da tonsila palatina esquerda do felino parasitado com apenas 1 verme adulto de *L. major* apresentou as mesmas alterações histopatológicas observadas no felino que apresentou maior carga parasitária (Figura 28), porém de forma mais discreta (Figura 29).

Em cortes histológicos de fígados e pulmões de todos felinos, infectados e não infectados, não se observou quaisquer formas evolutivas do parasito *Lagochilascaris major*.

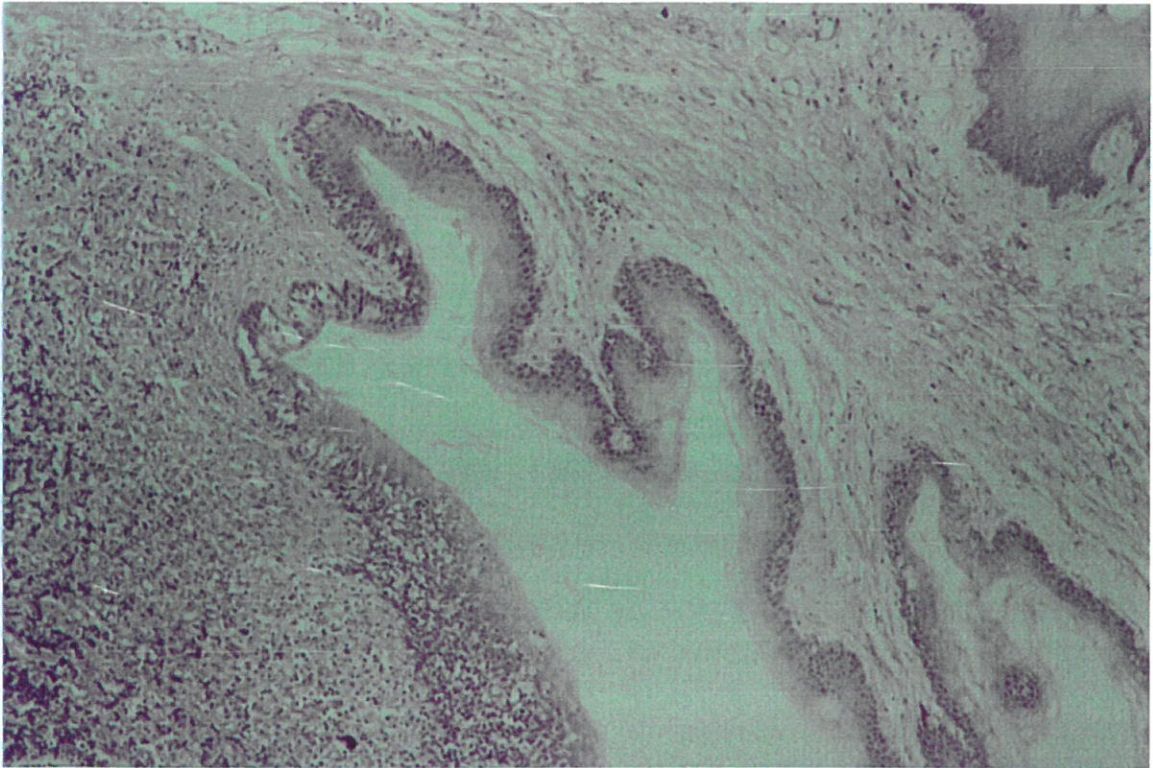


Figura 28 - Corte histológico da região da fossa da tonsila palatina de felino infectado com 25 unidades de *Lagochilascaris major* (x 425).

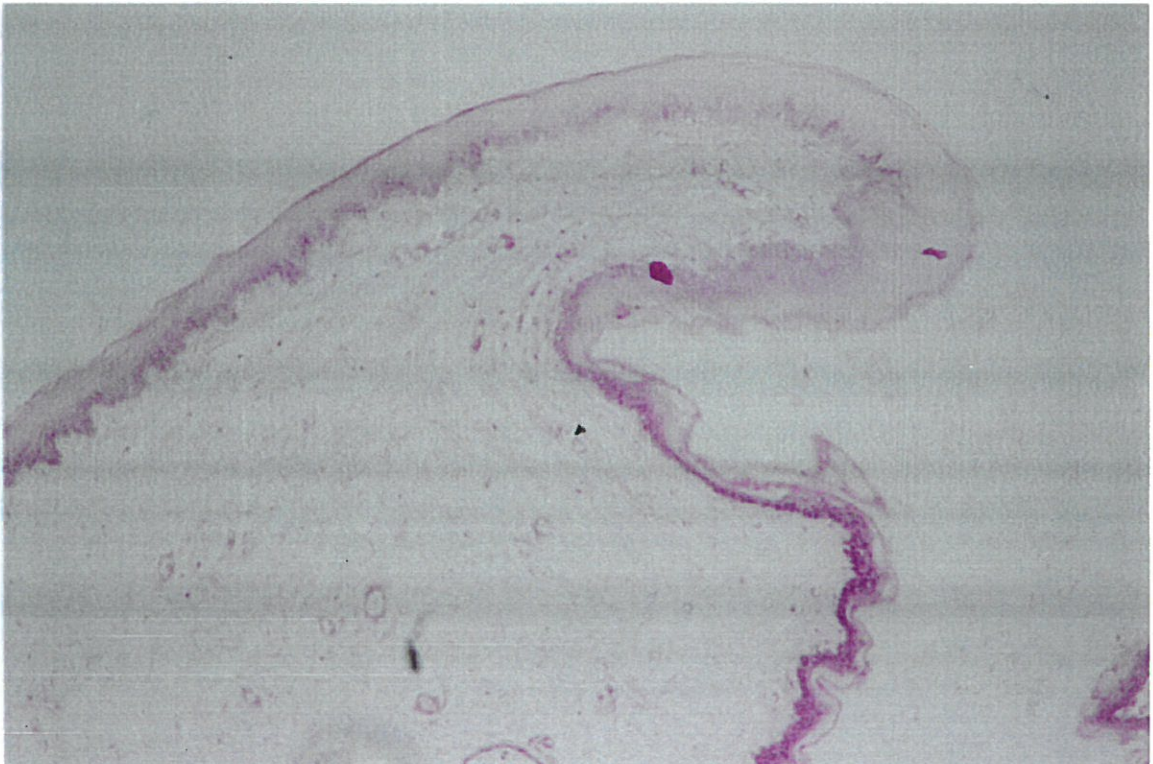


Figura 29 - Corte histológico da região da fossa da tonsila palatina de felino infectado com 1 *Lagochilascaris major* (x 425).

4.8.7 Hemograma

4.8.7.1 Hemácias

As hemácias variaram apenas em função da idade dos animais (Figura 30), com o tempo ($p < 0,05$). No grupo controle entre a 1ª e a 8ª semanas e entre a 3ª e a 8ª semanas, sempre com os maiores valores na 8ª semana. No grupo infectado variou entre a 2ª e 8ª semanas e entre a 3ª e 8ª semanas, também com os maiores valores na 8ª semana.

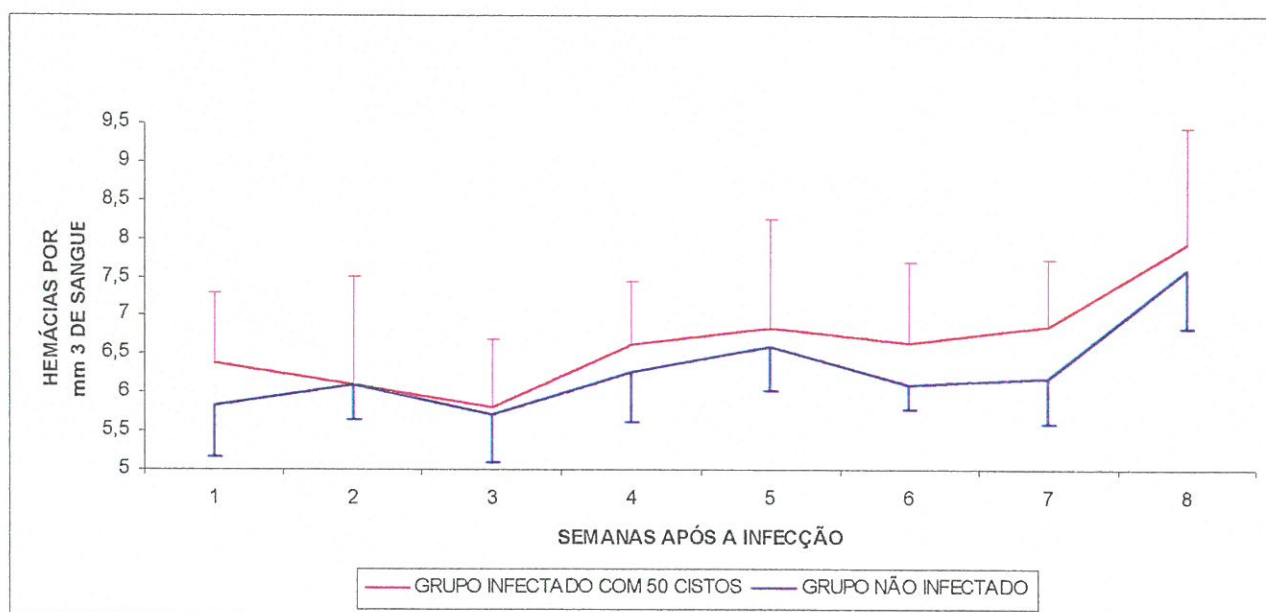


Figura 30 - Hemácias por mm³ de sangue periférico de felinos infectados com *L. major* e grupo controle não infectado

4.8.7.2 Hematócrito

Não houve diferença estatística detectável nos valores de hematócrito ($p > 0,05$), durante o período experimental (Figura 31).

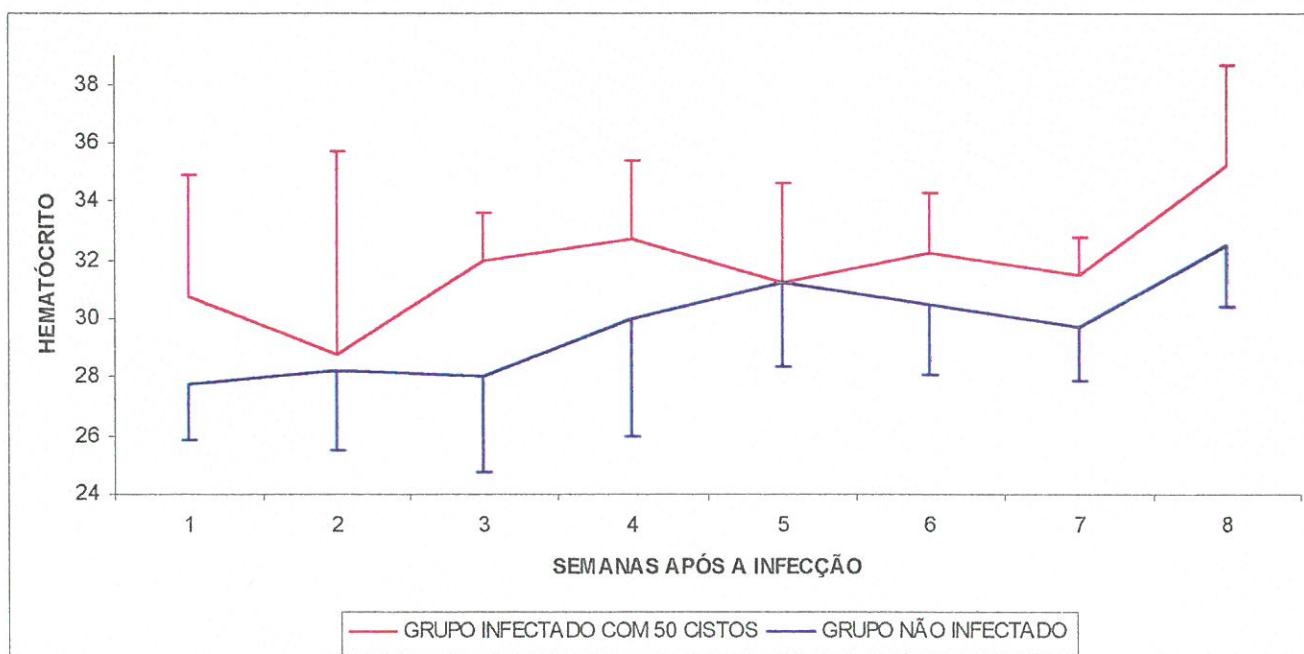


Figura 31 - Hematócrito por mm^3 de sangue periférico de felinos infectados com *L. major* e grupo controle não infectado

4.8.7.3 Hemoglobina

A dados de hemoglobina variaram com o tempo e não apresentaram os efeitos da infecção ($p < 0,05$) (Figura 32). O valor de $p = 0,056$ entre a semana 1 e 8 deixa a indicação de alguma importância nas variações entre as dosagens médias de hemoglobina dessas semanas. Diferenças estatísticas ($p < 0,05$)

foram observadas nas dosagens médias de hemoglobina em relação ao tempo, entre a 1^a e a 8^a semanas no grupo controle não infectado e entre a 1^a e 8^a. Também foram detectadas diferenças entre a 2^a e 8^a semanas após a infecção no grupo infectado com 50 cistos de *L. major*.

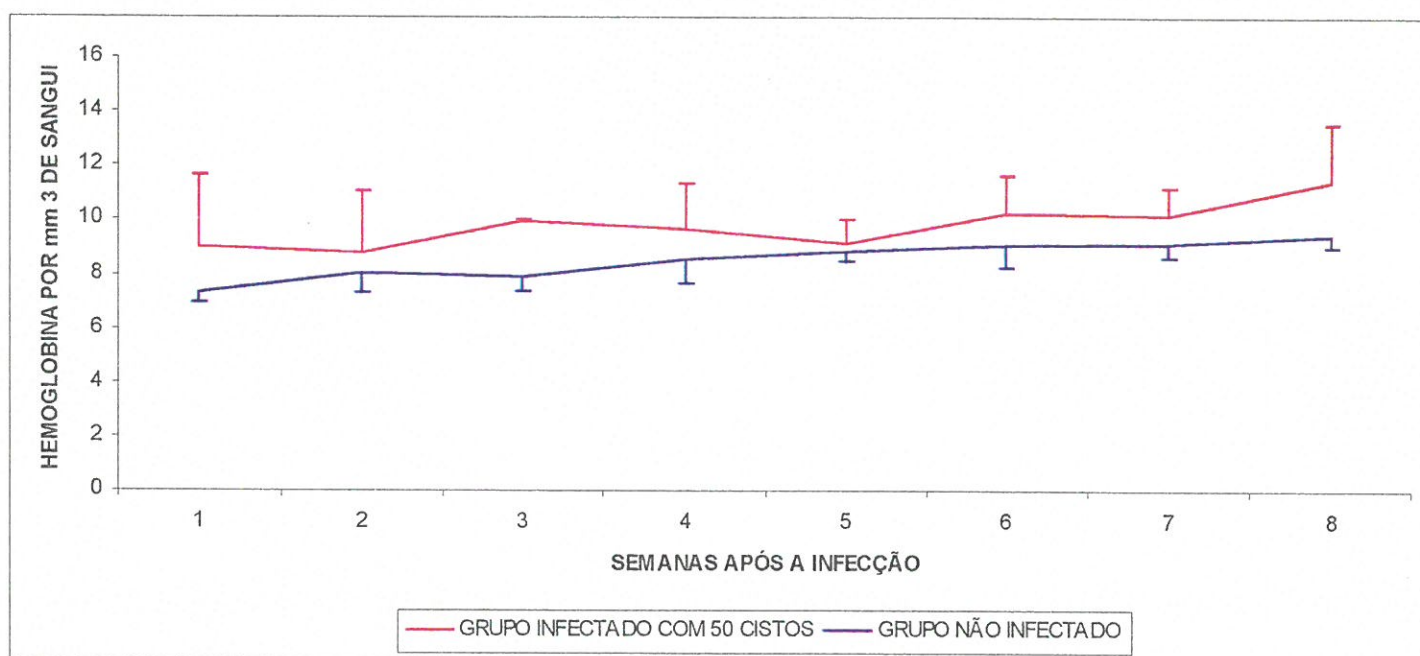


Figura 32 - Hemoglobina por mm³ de sangue periférico de felinos infectados com *L. major* e grupo controle não infectado.

4.8.7.4 Leucócitos Totais

Não houve efeito do tempo, do tratamento ou da interação dos dois fatores nas contagens de leucócitos totais por mm³, $p < 0,05$ (Figura 33), no sangue dos felinos infectados com cistos de *L. major*.

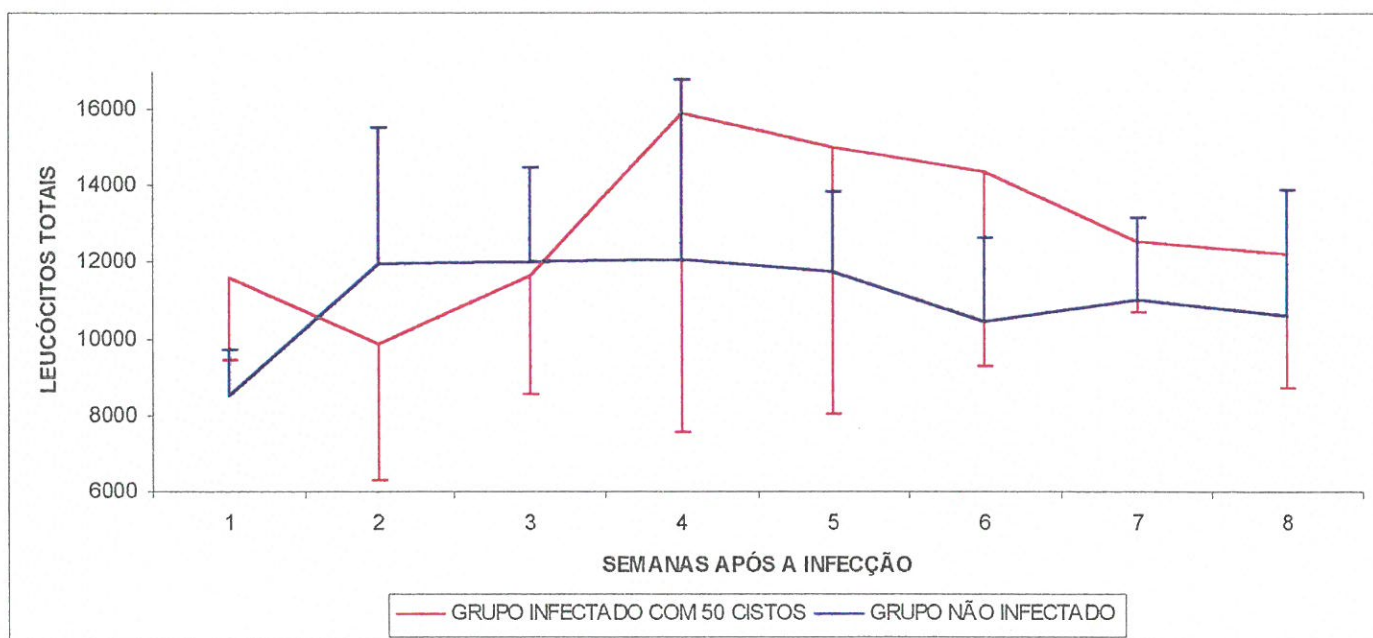


Figura 33 - Leucócitos por mm^3 de sangue periférico de felinos infectados com *L. major* e grupo controle não infectado

4.8.7.5 Neutrófilos

Não variaram, $p > 0,05$, no decorrer do tempo e não sofreram efeitos da infecção com *L. major* (Figura 34).

A infecção por *L. major* não produziu alterações nos valores médios de neutrófilos, sendo que os mesmos não variaram durante o período experimental em relação a quaisquer doses infectantes de cistos de *L. major*.

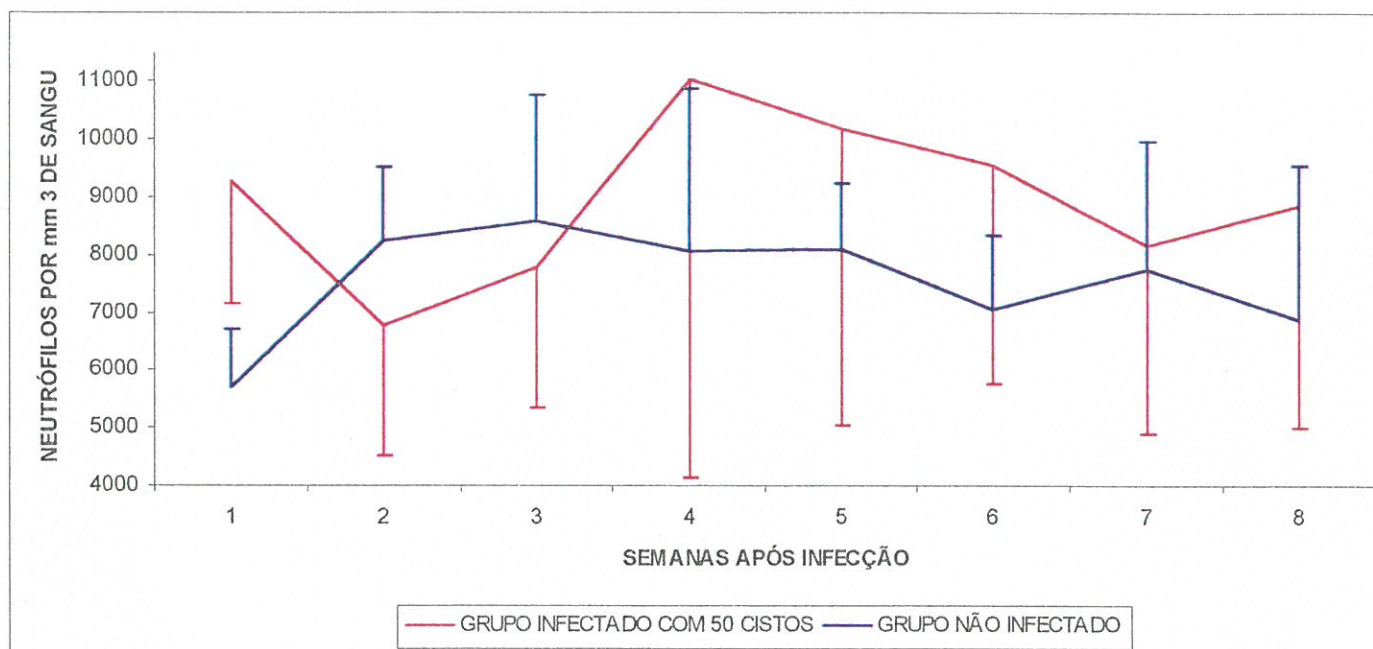


Figura 34 - Neutrófilos por mm^3 de sangue periférico de felinos infectados com *L. major* e grupo controle não infectado

4.8.7.6 Linfócitos

Não variaram, $p > 0,05$, no decorrer do tempo e não sofreram efeitos da infecção com *Lagochilascaris major* (Figura 35).

A infecção por *L. major* não produziu alterações nos valores médios de linfócitos, sendo que os mesmos não variaram durante o período experimental em relação a quaisquer doses infectantes de cistos de *L. major*.

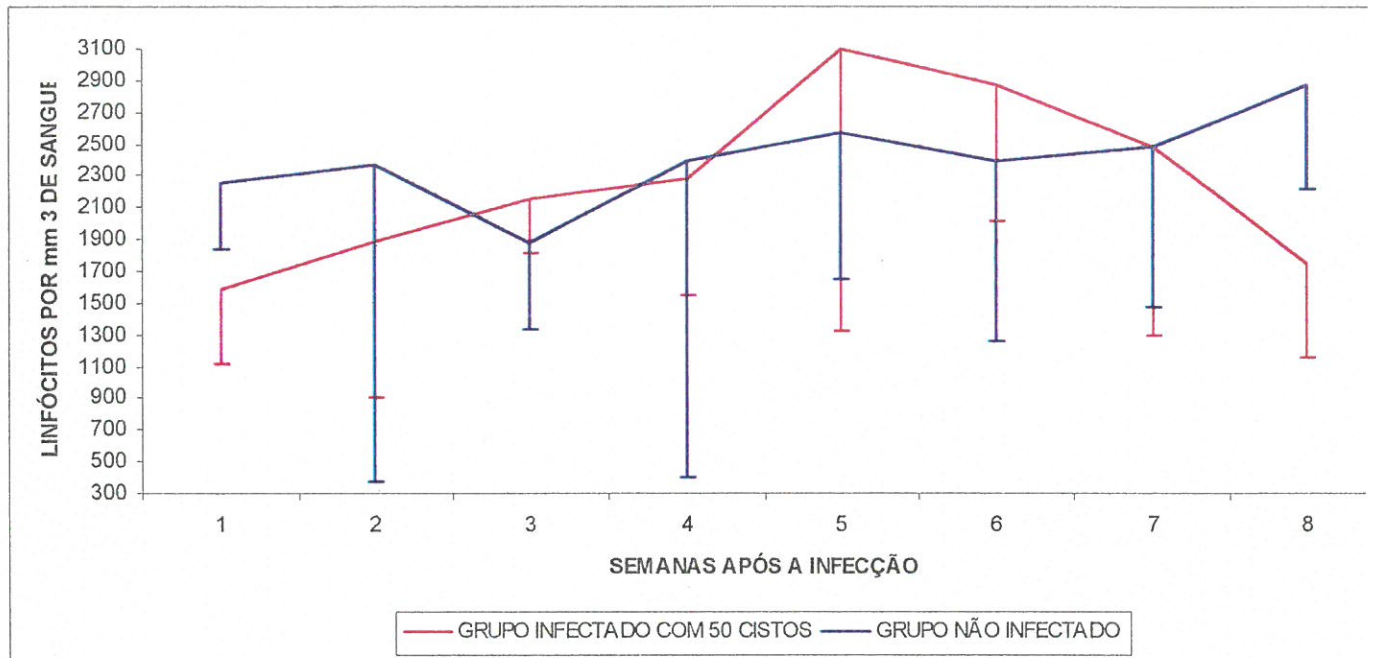


Figura 35 - Linfócitos por mm^3 de sangue periférico de felinos infectados com *L. major* e grupo controle não infectado

4.8.7.7 Monócitos

As contagens dos monócitos sofreram efeito do tempo apresentando diferenças estatísticas entre as semanas 1^a e 3^a e também entre as semanas 1^a e a 6^a, independentemente dos tratamentos recebidos, infectados ou controles não infectados (Figura 36).

Não houve efeito da infecção por *L. major* nas contagens de monócitos no sangue periférico dos felinos do experimento 5.

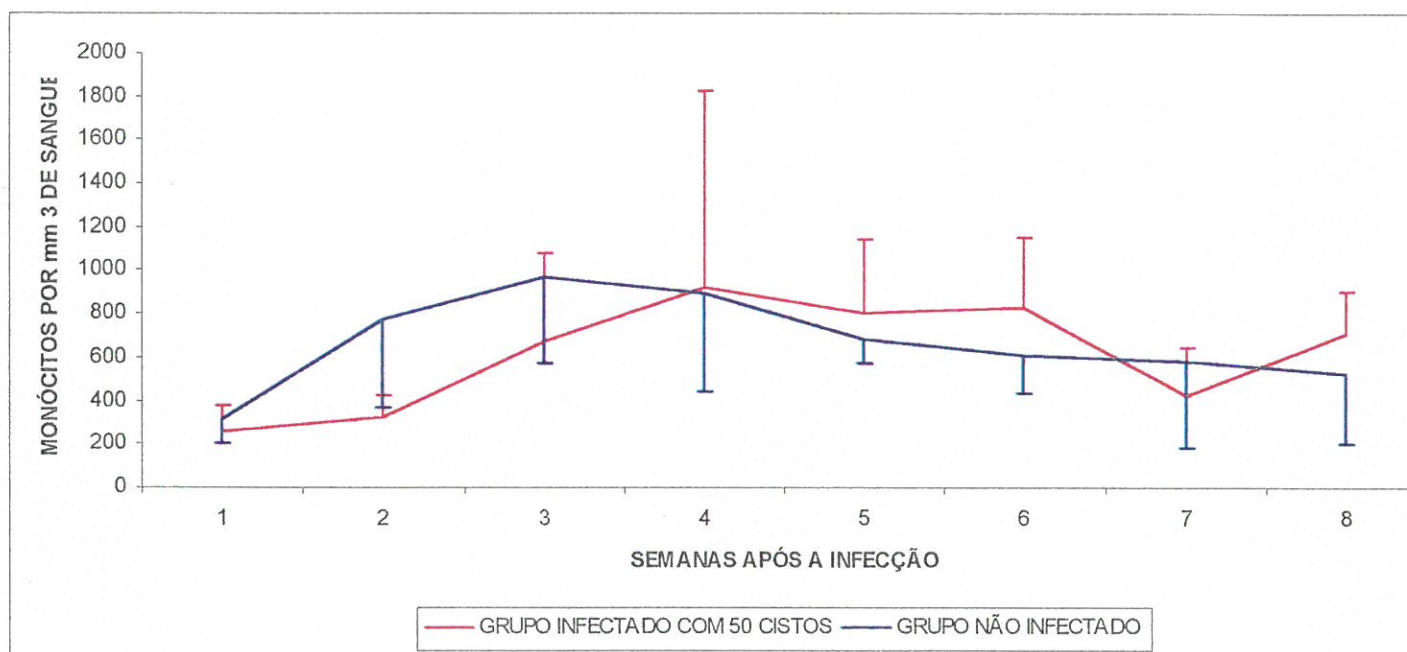


Figura36 - Monócitos por mm^3 de sangue periférico de felinos infectados com *L. major* e grupo controle não infectado

4.8.7.8 Eosinófilos

Houveram diferenças estatísticas entre o número médio de eosinófilos dos animais dos grupos infectado e controle negativo, na 7ª semana do experimento (Figura 37).

Houve efeito do tempo nas contagens de eosinófilos entre as semanas 1ª e 4ª no grupo infectado com 50 cistos de *L. major*. No decorrer do tempo não houve alteração no grupo controle.

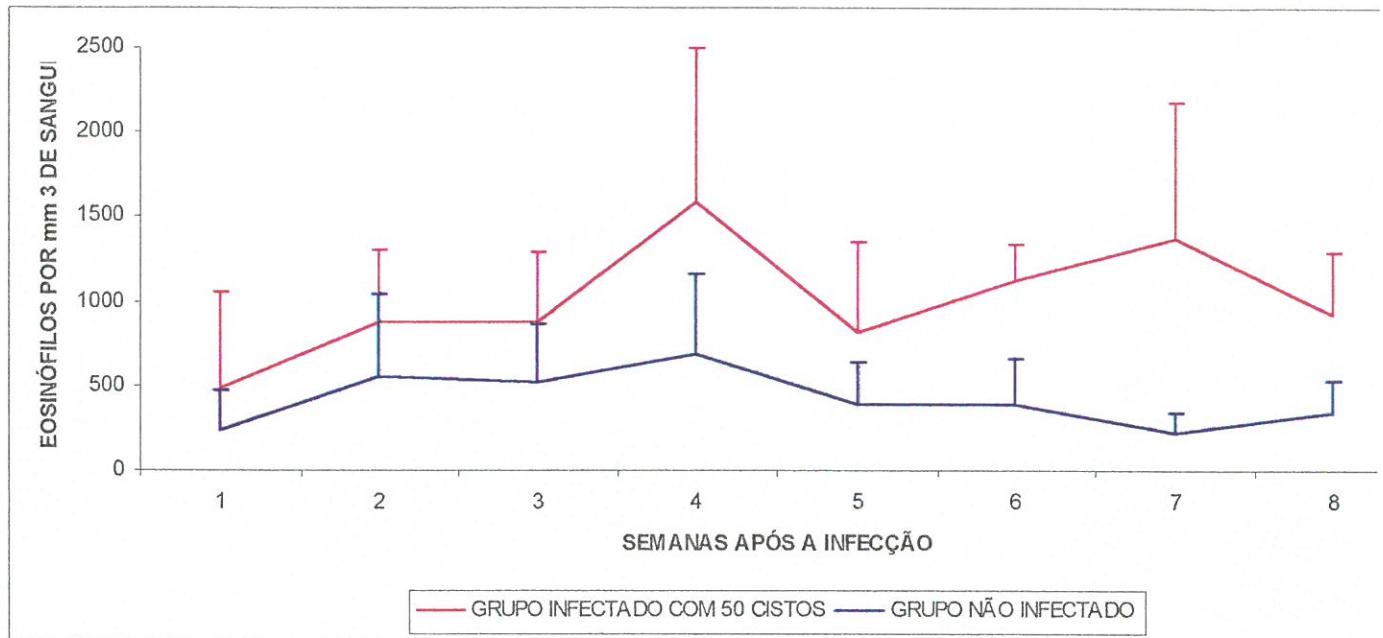


Figura 37 - Eosinófilos por mm^3 de sangue periférico de felinos infectados com *L. major* e grupo controle não infectado

4.9 Experimento 6: Ocorrência de *Lagochilascaris major* em felídeos selvagens mantidos em cativeiro em Parques e/ou Zoológicos de algumas cidades do Estado de São Paulo

Todos os felídeos, ou grupos de felídeos, mantidos num mesmo recinto, submetidos a exames parasitológicos de fezes, não apresentaram parasitismo por *L. major* (Tabela 9). No entanto, foi detectado infecção parasitária por vários outros parasitos em infecções simples ou mistas, onde participavam *Toxocara sp.*, *Toxascaris leonina* e *Ancylostoma sp.*

Tabela 9 - Resultados de exames parasitológicos de fezes dos felídeos selvagens mantidos em Parques e Zoológicos de algumas cidades do estado São Paulo.

Nº	Localidade	Identificação	Resultado
1	Araçatuba	Onças 129 e 130	(-)
2	Araçatuba	Onça Preta (Neguinho)	(-)
3	Araçatuba	Puma (Matosão)	(-)
4	Araçatuba	Onça 132	(-)
5	Araçatuba	Jaguatirica 012	(-)
6	Bauru	Jaguatiricas	<i>Toxocara</i> e <i>Toxascaris</i>
7	Bauru	Onça Preta (Preta)	(-)
8	Bauru	Mourisco	Ancylostomídeos
9	Bauru	Tigrinas	(-)
10	Bauru	Onça Pintada (Bete)	(-)
11	Bauru	Puma (Dudu)	<i>Toxascaris</i> e Ancylostomídeos
12	Catanduva	Onça fêmea 142	(-)
13	Catanduva	Onças 141 e 142	(-)
14	Ilha Solteira	LP 283	(-)
15	Ilha Solteira	Jaguatirica Campos 230	(-)
16	Ilha Solteira	Puma Exp. Grupo	(-)
17	Ilha Solteira	Onça macho crt	(-)
18	Ilha Solteira	Puma macho e fêmea crt	(-)
19	Ilha Solteira	Onça fêmea exposição	(-)
20	Ilha Solteira	Puma 01	(-)
21	Mata Ciliar	Gato Mourisco novo mód. I	Ancylostomídeos
22	Mata Ciliar	<i>P. concolor</i> (Onça parda) Bem-te-vi	(-)
23	Mata Ciliar	Gambá (*pouca e seca)	(-)
24	Mata Ciliar	<i>F. concolor</i> (Bem-te-vi e sabiá)	(-)
25	Mata Ciliar	<i>L. pardalis</i> mód.III (Tiago)	(-)
26	Mata Ciliar	Gato maracajá novo mód. I	Ovos de ácaros (Sarna?)
27	Mata Ciliar	<i>L. tigrinus</i> (Duda, Tiririca e Patinador)mód.I	(-)
28	Mata Ciliar	<i>L. pardalis</i> mód I (Jussara)	(-)
29	Mata Ciliar	<i>L. tigrina</i> (Ceguinho e Pérola)	(-)
30	Mata Ciliar	<i>L. tigrinus</i> , Gato Mato Pequeno mód III (Fafá)	(-)
31	Mata Ciliar	<i>L. pardalis</i> , mód I (Oscar)	(-)
32	Mata Ciliar	<i>L. pardalis</i> , mód I (Orelhinha)	(-)
33	Mata Ciliar	<i>L. wiide</i> , Gato Maracajá novo mód I	(-)
34	Mata Ciliar	<i>Leo tigrinus</i> , mód I (Aurus /Ofélia)	(-)
35	Mata Ciliar	<i>L. tigrinus</i> nº4 mód II (Bruno, Guria e Tiba)	(-)
36	Mata Ciliar	<i>L. wiide</i> , mód I (Rock e Bia)	(-)
37	Mata Ciliar	Gato do Mato Grande, mód III, David	(-)
38	Ribeirão Preto	PC 149 e 151	Ancylostomídeos
39	Ribeirão Preto	PO 208 209	<i>Toxocara</i>
40	São José do Rio Preto	Tigrina macho 018	(-)
41	São José do Rio Preto	Tigrina fêmea	(-)
42	São José do Rio Preto	Jaguatirica 081	(-)
43	São José do Rio Preto	Pumas 132 e 133	(-)
44	Zoo Catanduva	Tigrina macho 099	(-)
46	Zoo Taboão	Onça Pintada (Marcela)	(-)
47	Zoo Taboão	Jaguatirica fêmea (Nega)	(-)
48	Zoo Taboão	Jaguatirica macho (Dourado)	(-)
49	Zoo Taboão	Suçuarana fêmea (Nina)	(-)
50	Zoo Taboão	Suçuarana macho (Jovi)	(-)
51	Zoo Taboão	Suçuarana macho (Conde)	Ancylostomídeo
52	Zoo Taboão	Leão macho	(-)
53	Parque Estoril (SBC)	Jaguatirica (quarentena) mãe e filhotes	(-)
54	Parque Estoril (SBC)	Gato do Mato (Exposição)	(-)
55	Zoológico de São Paulo	Leopardo tigrinus - 19156 e 22347	(-)
56	Zoológico de São Paulo	Onça pintada - 15631 e 16109	(-)
57	Zoológico de São Paulo	Leopardo tigrinus - 18781	(-)
58	Zoológico de São Paulo	Leopardus wiide - 20767	(-)
58	Zoológico de São Paulo	Leopardus tigrinus - 23608 e 22641	(-)

Tabela 9 - Resultados de exames parasitológicos de fezes dos felídeos selvagens mantidos em Parques e Zoológicos de algumas cidades do estado São Paulo (continuação).

59	Zoológico de São Paulo	Leopardus Wiide - 17336	(-)
60	Zoológico de São Paulo	Leopardo das Neves - 23072 e 23071	(-)
61	Zoológico de São Paulo	Suçuarana - 18687 e 20421	(-)
62	Zoológico de São Paulo	Leopardus tigrinus - 19235 e 24069	(-)
63	Zoológico de São Paulo	Leopardus tigrinus - 20251	(-)
64	Zoológico de São Paulo	Gato maracatá - 20767	(-)
65	Zoológico de São Paulo	Lince caracal - 23749 , 25103 e 23750	Ancylostomídeo
66	Zoológico de São Paulo	Tigre siberiano - 21651	(-)
67	Zoológico de São Paulo	Jaguaritica - 22732 e 22635	(-)
68	Zoológico de São Paulo	Leopardo - 18603, 18609, 14753 e 11729	(-)
70	Zoológico de São Paulo	Serval - 21832, 24848, 24847 e 25603	(-)
71	Zoológico de São Paulo	Gato do mato pequeno - 20251	(-)
71	Zoológico de São Paulo	Gato do mato pequeno - 18781	(-)
72	Zoológico de São Paulo	Gato maracajá - 17336	(-)
73	Zoológico de São Paulo	Gato do mato pequeno - 19235 e 24069	Ancylostomídeo
74	Zoológico de São Paulo	Gato do mato pequeno - 22347 e 19156	(-)
75	Zoológico de São Paulo	Gato do mato pequeno - 22641 e 23608	(-)

5 DISCUSSÃO

Dentre os ascarídeos, o gênero *Lagochilascaris* foi encontrado em diversos hospedeiros (gatos, cães, homem, felídeos selvagens, gambás e mão pelada). As últimas ocorrências de *Lagochilascaris major*, no Brasil, foram em gato doméstico (*Catus catus domesticus*), razão pela qual foi este o hospedeiro escolhido como modelo experimental do presente estudo. (ARANTES et al. 1996; AMATO et al. 1990 e DELL'PORTO et al. 1988).

O Brasil detém o maior número de casos de lagochilascariase, por *Lagochilascaris major*, em felinos domésticos, mesmo assim, faltam informações básicas sobre essa parasitose, apesar do encontro e reconhecimento desse parasito estar completando 92 anos (LEIPER, 1910).

Não há diagnóstico de lagochilascariase, por *L. major*, em humanos, porém, potencialmente, a idéia da infecção humana por esse parasito é aceita por alguns autores (CRAIG et al., 1982); Ao contrário, a ocorrência da lagochilascariase, por *L. minor*, nos homens é muito elevada, de difícil tratamento, e com frequentes casos de recidivas, (LEÃO et al., 1978; GREGÓRIO et al., 1982; BOTERO et al., 1984; VELOSO et al., 1992; OLLÉ-GOIG et al., 1996). Já, os tratamentos de lagochilascariase, por *L. major*, em felinos domésticos foram muito eficientes na eliminação de parasitos adultos (PENA e KASAI, 1997).

O não estabelecimento da infecção por *L. major* em felinos com ovos larvados do parasito mostrou a necessidade do estudo de um ciclo de vida heteroxeno.

Assim, a tentativa de infectar pintinhos constatou que os mesmos não se comportaram como hospedeiros intermediários, tendo sido encontrada apenas uma larva de terceiro estágio de *L. major* no pulmão de uma ave (Observação pessoal). Esta observação tem a corroboração dos estudos realizados com outras espécies de *Lagochilascaris*, que também demonstraram ciclos heteroxenos, para *L. sprengi* (SMITH et al. 1983) e para *L. minor* (CAMPOS et al. 1992).

Portanto, os hospedeiros intermediários escolhidos para o estudo do ciclo de vida e desenvolvimento do *L. major*, foram os camundongos, por apresentarem melhores condições para o desenvolvimento do parasito e para a manutenção do ciclo.

A constatação da segunda muda dentro do ovo, feita durante o estudo do desenvolvimento embrionário do ovo de *L. major*, reafirma a forma infectante para ascarídeos como sendo ovos larvados com larva de terceiro estágio, como já demonstrado para *L. minor* (CAMPOS et al. 1985), assim como para outros gêneros de ascarídeos, *Ascaris lumbricoides*, *Ascaris suum* e *Toxocara canis* (ARAUJO, 1972) e *Parascaris equorum*, *Toxacara cati* e *Toxacaris leonina* (BRESSAN e EVANGELISTA, 1983).

Os ovos de *L. major* ao serem ingeridos pelos camundongos liberam as larvas no estômago e estas migram pelo organismo e originam cistos com longa viabilidade. Em todos os cistos estudados sempre encontrou-se apenas 1 larva, de 3º estágio, viva, com boa motilidade e potencialmente capaz de infectar um novo felino. Pode-se averiguar que após 6 meses decorridos da infecção os

cistos estavam todos viáveis. Esta observação reforça a viabilidade detectada nos cistos do presente estudo e também nos estudados realizados por PENA et al. (1997), respectivamente, em cistos com 45 e 96 a 246 dias após a infecção dos camundongo com ovos larvados.

A migração das larvas de terceiro estágio de *L. major* nos camundongos sugere um trajeto hepato-pulmonar e que, em seguida, as larvas dirigem-se para a musculatura estriada esquelética e tecidos sub-cutâneos, onde se encistam, na forma de larva de terceiro estágio final, sem sofrerem mudas para o 4º estágio larvar. Essa migração aconteceu de forma bastante rápida, duas horas após a ingestão dos ovos, as larvas foram detectadas no estômago e fígado; com 12 horas no intestino, fígado e pulmões, para depois atingirem os músculos estriados e tecidos subcutâneos formando os cistos em um tempo mínimo de 21 a 30 dias.

O aumento de comprimento da larva de 3º estágio final, 20,5 vezes maior que o inicial, observado durante o processo de migração e formação dos cistos, permitiu detectar um desenvolvimento da larva, evidenciando a necessidade da passagem pelo hospedeiro intermediário para a complementação da evolução do parasito. Esta informação é reforçada com o fato de que não se obteve o estabelecimento da infecção dos felinos com ovos larvados de *L. major*.

A formação de cistos e o tempo que eles permanecem viáveis favorecem a possibilidade do encontro do hospedeiro definitivo adequado onde possa se tornar adulto e reproduzir.

O número de cistos que se instalaram nos camundongos não apresentaram

uma relação direta com o nível de infecção inicial com ovos larvados, mostrando, assim, que existe um nível a partir do qual a infecção que se estabelece não aumenta mais. No entanto, a distribuição das formas parasitárias podem atingir diferentes áreas dependendo do nível inicial de infecção.

As alterações histológicas verificadas nos tecidos onde os cistos se instalaram nos camundongos, deste trabalho, são bastante semelhantes às observadas por SMITH et al. (1983) para a espécie *Lagochilascaris sprengi* e VOLCAN et al. (1992) para a espécie *Lagochilascaris minor*.

Os ascarídeos não são hematófagos e o *Lagochilascaris major* também demonstrou não realizar hematofagia ou pelo menos não a ponto de alterar as contagens de hemácias e as dosagens de hemoglobina dos camundongos e felinos. A variação nos valores de hemácias no decorrer do tempo, estão associadas a idade dos animais e são bem conhecidas. Pode-se notar que há um aumento nas contagens a partir do 1º mês de vida, um período de estabilidade de 2 meses até 6 meses de idade e depois um declínio na produção dessas células (SCHALM, 1986).

Os leucócitos totais variaram de acordo com a dose infectante que cada grupo de camundongos recebeu em ovos de *L. major*. Para melhor avaliação dessas variações cada tipo celular de série branca foi considerado individualmente.

Os polimorfonucleares neutrófilos considerados células de defesa que primeiro aumentam numa infecção bacteriana ou inflamação não apresentaram diferenças estatísticas em suas contagens. Logo, não se pode responsabilizá-

las pelas variações ocorridas nas contagens totais das células brancas.

Os linfócitos variaram sugerindo que a infecção por *L. major* estimula o sistema imunológico a produzir essas células de defesa numa fase intermediária entre a inicial ou aguda e a crônica. Todos os grupos de camundongos infectados apresentaram suas contagens aumentadas do dia 22 para o dia 70 após a infecção. Todos os camundongos que receberam ovos larvados desenvolveram cistos parasitários de *L. major* o que indica que numa primeira infecção as respostas do hospedeiro camundongo não são suficientes para evitar que a infecção se instale.

A contagem mais alta de monócitos por mm^3 de sangue periférico aconteceu exatamente no grupo que recebeu maior número de ovos infectantes e no dia 70 após a infecção. Esse tipo celular aumenta quando existe a necessidade de fagocitose no organismo.

Se os neutrófilos são células que são estimuladas precocemente num processo infeccioso, em contrapartida, os monócitos são as células que aumentam num segundo momento, quando o processo está passando de agudo a crônico.

Os eosinófilos são as células que mais se alteram em casos de parasitoses. Os antígenos de excreções e secreções e antígenos somáticos dos vermes são os estímulos capazes de fazer com que as contagens de eosinófilos dos hospedeiros sejam mais altas do que o normal para a espécie e idade.

A expoliação causada pelos parasitos nos camundongos não foi suficiente para alterar as proteínas totais plasmáticas.

A duração da infecção nos felinos domésticos variou bastante, como ocorre

para a maioria das infecções por nematóides, devido a reações individuais. O fenômeno da auto-cura se manifestou em dois felinos e em outros dois houve uma resposta individual diferente, o que fez com que a evolução da doença também se apresentasse de forma diferente.

Nos felinos pôde-se verificar exclusivamente vermes adultos e ovos, sugerindo que não ocorre o fenômeno da auto-infecção, como registrado nas infecções humanas com *Lagochilascaris minor*, onde encontram-se todas as fases de vida do parasito, ocorrendo a auto-infecção ou reinfecção a partir dos ovos colocados pelos parasitos no seu habitat (ROCHA et al., 1984 e MORAES et al., 1985).

As medidas dos helmintos adultos deste trabalho são coincidentes com as de *Lagochilascaris major* de diversos autores (SPRENT, 1971 ; DELL PORTO et al., 1988 e PENA et al., 1997).

O local de parasitismo dos *L. major* nos 2 felinos necropsiados, que mantiveram a infecção até 60 dias depois de infectados, foi exclusivamente a fossa da tonsila palatina na orofaringe, concordando, em parte, com os trabalhos de DELL PORTO et al. (1988) e PENA et al. (1997), sendo que DELL PORTO (1988) detectou a parasitose em fístula cervical e PENA et al.(1997) na fossa tonsilar da tonsila palatina e também no ouvido médio dos felinos, discordando do que foi verificado por LED, no ano de 1968, que encontrou parasitos adultos do gênero *Lagochilascaris* no estômago, esôfago e traquéia de felino doméstico. Ocorre que os *Lagochilascaris* começam a sair da fossa da tonsila palatina quando a necrópsia é realizada após algum tempo da morte do animal

(Observações pessoais). Os *Lagochilascaris* são vermes bem ativos e durante a necrópsia do animal sacrificado a poucas horas pode-se ver os vermes aumentarem seus movimentos, como se estivessem incomodados e uns e outros, então, saem e se locomovem de forma bastante ativa para a traquéia e esôfago, que são regiões próximas do habitat natural.

As alterações histopatológicas verificadas nos tecidos ao redor do nicho dos *Lagochilascaris* nos felinos domésticos foram do tipo inflamatórias com infiltrado de células mononucleares, comuns de serem encontradas em infecções por helmintos. Essas alterações não podem ser consideradas específicas da infecção com *L. major*.

Os cortes histológicos dos locais de parasitismo dos felinos domésticos infectados com *L. major*, revelaram processo inflamatório com deposição de colágeno na lâmina própria, vasos neoformados e infiltrado com predomínio de células mononucleares, verificados de forma mais intensa no animal com carga parasitária maior. Essas informações das alterações teciduais do local de parasitismo relacionadas à carga parasitária não constam de publicações a respeito do estudo do ciclo de vida do *Lagochilascaris* estudados em infecções experimentais, como os de VOLCAN et al. (1992) e CAMPOS et al. (1992).

As infecções com os helmintos e as inflamações teciduais locais da parasitose não resultaram em sintomas gerais como a febre, anorexia, caquexia, emaciação etc.

O local de parasitismo preferencial do *Lagochilascaris major* nos felinos dificulta o exame clínico e o conseqüente diagnóstico, especialmente em felinos menos

mansos. O único sintoma apresentado pelos felinos infectados foi um desconforto mandibular intermitente, sintoma esse bastante inespecífico. A visualização dos vermes fica mais fácil quando a parasitose resulta na perfuração dos tecidos adjacentes com formação de fístula, tornando os helmintos mais evidenciáveis na região do pescoço, como no caso observado por DELL PORTO, em 1988. Com a dose de 50 cistos ingeridos por gato não se observaram formações fistulares. Esta dose foi adotada por acreditar-se possível de acontecer naturalmente e é concordante com o estudo do ciclo de vida do *Lagochilascaris minor* realizado por CAMPOS e colaboradores, em 1992, que utilizaram de 50 a 85 cistos para infecção dos gatos.

As contagens celulares da série vermelha dos hemogramas dos felinos não apresentaram diferenças significantes ($p > 0,05$) relacionadas à infecção por *L. major*, confirmando não serem estes parasitos expoliadores sanguíneos.

Da série branca, apenas os eosinófilos apresentaram diferenças estatísticas significantes ($p > 0,05$) na 7ª semana, comparando-se o grupo controle com o infectado. Como os eosinófilos são as principais células sanguíneas que aumentam numa infecção parasitária, estas mantiveram-se mais altas nos animais infectados durante todo o experimento.

O fato dos primeiros casos de lagochilascariase, por *L. major*, terem sido descritos em leão (DURETTE, 1963 E LEIPER, 1910), induziu a pesquisa da ocorrência do parasito em felídeos selvagens mantidos em cativeiro.

Além da realização dos exames parasitológicos de fezes dos felídeos selvagens, aplicou-se um questionário com perguntas referentes a possíveis

infecções passadas. Pôde-se perceber que a maioria dos responsáveis pelos felídeos selvagens dos Parques e/ou Zoológicos não conheciam a lagochilascaríase, que tem sido considerada uma parasitose rara. No entanto, a baixa casuística registrada de *Lagochilascaris sp*, pode estar associada a diagnósticos errados ou falso negativos, já que os ovos de outros ascarídeos são parecidos com os de *L. major*. Deve-se considerar também que camundongos podem fazer parte da alimentação dos felídeos selvagens mantidos em Parques e/ou Zoológicos, mas que os criados em biotério dificilmente estarão infectados por *L. major*, mas que os pequenos roedores de vida livre que frequentam os recintos onde são mantidos os felídeos selvagens aumentam as chances de contaminações dos mesmos.

6 CONCLUSÕES

- O desenvolvimento embrionário do ovo de *L. major* apresenta duas mudas dentro do ovo, sendo o ovo larvado, com larva de 3º estágio, a forma infectante.
- O ciclo de vida do *L. major* é heteroxeno, tendo o camundongo como hospedeiro intermediário e os felinos domésticos como hospedeiro definitivo.
- A migração da larva de 3º estágio de *L. major* no camundongo segue primeiro a rota hepato-pulmonar, seguindo para a musculatura esquelética e tecido subcutâneo, onde se encista.
- A larva de 3º estágio inicial de *L. major* se desenvolve no camundongo aumentando o seu comprimento de 20,5 vezes, tornando-se larva de 3º estágio final encistada.
- O tempo mínimo para formação dos cistos de larvas de *L. major*, nos camundongos, é de 30 dias.
- O estabelecimento do número de cistos de *L. major*, nos camundongos, não é diretamente proporcional ao nível da infecção, porém, este influencia a distribuição dos cistos de *L. major*.
- A forma infectante de *L. major* para felinos domésticos é a larva de 3º estágio final encistada.
- O período pré-patente da infecção dos felinos domésticos, com *L. major*, é de 14 a 16 dias, sendo o local de parasitismo, nos felinos domésticos, a fossa da tonsila palatina, na orofaringe.

- Os felídeos selvagens mantidos em Parques e/ou Zoológicos de algumas cidades do estado de São Paulo, que foram examinados, não apresentaram infecção por *L. major*.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMATO, J.F.R.. Two cases of fistulated abscesses caused by *Lagochilascaris major* in the domestic cat. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 85, n.4, p.471-473, 1990.
- ARANTES, L.H.M.B.; LUCAS, S.R.R.; KASAI, N.; DIAS, J.L.C., Infecção por *Lagochilascaris sp* em um gato: Relato de Caso. **51º Conferência Anual de S.P.M.V.**, São Paulo, 1996.
- ARAUJO, P. Observações pertinentes as primeiras ecdises de larvas de *Ascaris lumbricoides*, *A. suum* e *Toxocara canis*. **Revista do Instituto Medicina Tropical de São Paulo**, n. 14, p. 83 - 90, 1972.
- BENTO, R. F.; MAZZA, C. C.; MOTTI, E. F.; CHAN, Y.T.; GUIMARÃES, J.R.R.; MINITI, A. Human *Lagochilascariasis* treated successfully with Ivermectin: A Case Report. **Revista do Instituto Medicina Tropical de São Paulo**, v. 35, n.4, p. 373-375, jul.-ago., 1993.
- BORGO, A. V.; ANDRADE, A. L. S.; PEDROSA, R. B.; BARBOSA, W.; KEMMA, M. D. Infecção por *Lagochilascaris minor* : Apresentação de Caso. **Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 14., e Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, 3.**, João Pessoa, Paraíba, 1978, p. 391.
- BOTERO, D.; LITTLE, M. D. Two Cases of Human *Lagochilascaris* Infection in Colombia. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, v.33, n. 3, p. 381-386, 1984.
- BOWMAN, D.D.; SMITH, J. L.; LITTLE, M.D. *Logochilascaris sprengi* sp. N. (NEMATODA : ASCARIDIDAE) from Opossum, *Didelphis virginiana* (MARSUPIALIA : DIDELPHIDAE), **Journal Parasitology**, v. 69, n. 4, p. 754 - 760, 1983.
- BOWMAN, D.D., Diagnostic morphology of four larval ascaridoid nematodes that may cause visceral larva migrans: *Toxascaris leonina*, *Baylisascaris procyonis*, *Lagochilascaris sprengi*, and *Hexametra leidy*, **Journal Parasitology**, v. 73, n.6, p.1198-1215, 1987.
- BRAVO, T. C. Avances recientes en el conocimiento de las enfermedades transmisibles en México. **Gaceta Médica de México**, v. 116, n. 1, p. 47-49, 1980.

- BRENES, M.R.R. e BRENES, A.F. Lagochilascariase humana em Costa Rica. Programa Gen y Resumo Trabalho. **Congresso Latinoamericano e Nacional de microbiologia**, Cidade Universitária, Costa Rica, Dec. 10-17, 1961, p.35.
- BRENES-MADRIGAL, R.R.; RUIZ A. Discovery of *Lagochilascaris* sp in the laynsx of a Costa Rica Ocelot (*Felis pardalis mearnsi*), **The Journal of Parasitology**, v. 58, n.5, October, 1972.
- BRUIJNING, C.F.A. Notes on *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, **Documenta de Medicina Geographica et Trópica**, n. 9, p. 173-175, 1957.
- CAMPOS, D. M. B.; HOMMA, M. D.; SANTOS, A.M. Q.; PITALURA, W. N. N. V. *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909 : Casos Diagnosticados no Departamento de Parasitologia. In: **Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia. Congressos Integrados de Parasitologia, 8.**, São Paulo, 1983, p. 100.
- CAMPOS, D.M.B.; FREIRE FILHA, L.G.; VIEIRA, M.A.; PAÇO J.M.; MAIA, M.A. Experimental life cycle of *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 34, n.4, p.277-287, 1992.
- CAMPOS, R.; VIEIRA BRESSAN, M. C. R.; LITTLE, M. D.; ROSEMBERG, S.; PEREIRA, V.C.; LOPES, M. B. S.; MASUDA, S. Encefalopatia Aguda por *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. Aspectos parasitológicos. In : **Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 21**, São Paulo, Fev. 1985.
- CHIEFFI, P.P.; FRUCCHI, H.; PROENÇA, N. G.; PEREIRA, W. A; PASCHOALOTTI, M. A. Infecção cutânea por *Lagochilascaris minor* Tratamento e Cura Rápida pelo Levamisol. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.56, n. 2 ,p. 141-144, abr/mai/jun. 1981.
- CORREA, M. O. A.; HYAKUTAKE, S.; BRANDI, A. J.; MONTEIRO, C. G. Novo Caso de Parasitismo Humano por *Lagochilascaris Minor* Leiper, 1909. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.68, n. 1,p. 59-65, 1978.
- COSTA, H. M. A.; SILVA, A.V. M.; COSTA, P. R.; ASSIS, S. B. *Lagochilascaris Minor* Leiper, 1909, (NEMATODA-ASCARIDAE) de Origem Humana. **Revista Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 28, n.2, p.126-130, mar/abr.1986.
- CRAIG, T.M.; ROBINSON, R.M.; MCARTHUR, N.H.; WARD, R.D. *Lagochilascaris major* in a raccoon. **Journal of Wildlife Diseases**, v.16, n. 1, Jan., 1980.

- CRAIG, T.M.; ROBINSON, R.M; MCARTHUR, N.H.. Parasitic Nematode (*Lagochilascaris major*) Associated with a Purulent Draining Tract in a Dog. **Journal American Veterinary Medicine Association**.v. 181, n.1, p. 69- 70, julho. 1972.
- DELL'PORTO, A.; SCHUMAKER, T.T.S.; OBA, M.S.P. Ocorrência de *Lagochilascaris major* Leiper, 1910 em Gato (*Felis catus domesticus*) no Estado de São Paulo, Brasil, **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 25, n.2, p.173-180, 1988.
- DRAPER, J.W. Infection with *Lagochilascaris minor*, **British Medical Journal**. **April**, n. 6, p.931-932, 1963.
- DURETTE, M.C. Remarques sur les anomalies du genre *Lagochilascaris*, **Bulletin de la Société de Pathologie exotique**, v. 56 ,n.2, p.129- 133, 1963.
- FRAIHA, H.; ROCHA, M.P.C.; ARAÚJO, O.J.; BARROS, V.L.R.S. Patologia amazônica exótica. II: Infecção humana por *Lagochilascaris minor* Leiper, 1906 (Nematoda, Ascarididae). Registro de Três Novos Casos, e Formulação de Nova Hipótese para o Mecanismo de Infecção in: **Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia**, 8., 1983, São Paulo. Resumo. p. 146.
- FRAIHA, H.; BARROS, V.L.R.S.; ROCHA, M.P.C.; CARVALHO, R.A. *Lagochilascaris minor* em gato doméstico; primeiro registro de infecção natural, associada a um caso humano in : **Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 30, Salvador, 1984, Tema Livre 266.
- GEORGI, J.R. Nematodes in General in : **Parasitology for Veterinarians**. 3 ed. W. B. Saunders Company, 1980 . p. 97-101.
- GORDON, H.M.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal Council Science Ind Research**, Melbourne, v. 12, n. 1, p. 50-52, 1939.
- JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 4 th. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221 p.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v.227, p. 680-685, 1970.

- LEÃO, R. N. Q.; LEÃO FILHO, J.; BRAGA DIAS, L.; CALHEIROS, L. B. Infecção Humana pelo *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. Registro de um caso observado no Estado do Pará- Brasil. **Revista Instituto Medicina Tropical de São Paulo**, v. 20, n. 5, p. 300-306, set.-out. 1978.
- LED, J.E.; COLOMBO,E.G.; BARABOGLIA E. Primeira Comprobacion en Argentina de Parasitismo En Gato (*Felis catus domesticus*) por Nematode Del Genero *Lagochilascaris*, Leiper 1909, **Gaceta veterinária**, n.30, p. 407-410, 1968.
- LEIPER,R.T. A new nematode worm from Trinidad . **Proceedings of the Zoological Society of London**, 1909, n.4, p. 742-743, 1909.
- NASCIMENTO, J. E. A.; SILVA, G. M.; TADANO, T.; VALADARES FILHO, M.; AKIYAMA, A. M. P.; CASTELO, A. Infection of the soft tissue of the neck due to *Lagochilascaris minor*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, São Paulo, Brasil, n.87, p.198, 1993.
- MARQUARDT,W.C. Separation of Nematode eggs from fecal debris by gradient centrifugation. **The Journal of Parasitology**, v..47, n.2, p. 248-250, 1961.
- MEYER, D. J. **Medicina de Laboratório Veterinário**, 1. Ed. São Paulo: Rocca Ltda, 1995.
- MORAES, M. A. P.; ARNAUD, M. V. C.; LIMA, P. E. Novos casos de infecção humana por *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, encontrados no Estado do Pará, Brasil. **Revista Instituto Medicina Tropical São Paulo**, v. 25, n. 3, p. 139-146, maio- jun. 1983.
- MORAES, M.A.P.; ARNAUD, M.V.C.; MACEDO,R.C.; ANGLADA, A.E. Infecção pulmonar fatal por *Lagochilascaris sp.* , provavelmente *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, n.27 p. 46-52, 1985.
- OLLE- GOIG, J.; RECACOECHEA, M.; FEELEY, T. First case of *lagochilascaris minor* infection in Bolívia, **Tropical Medicine and Internacional Health**, v. I, n. 6, p. 851-853, december. 1996.
- OOSTBURG, B. F. J.; VARMA, A.A O. *Lagochilascaris minor* infection in Surinam. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**,v:17, n. 4, p. 548-550, 1968.
- OOSTBURG, B. F. J. Thiabendazole therapy of *lagochilascaris minor* infection in Surinam. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 20, n. 4, p. 580-583, jan.1971.

- OOSTBURG, B. F. G. The sixth case of lagochilascariasis minor in Surinam. **Tropical and Geographical Medicine**, v. 44, p. 154-159, 1992.
- PAWAN, J.L. A case of infection with *Lagochilascaris minor* (Leiper). **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Great Britain v.20 n. 2, 201-202, 1926.
- PAWAN, J.L. Another case of infection with *Lagochilascaris minor* (Leiper). **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Great Britain v.21 n.1 p.45, 1927.
- PENA, H.F.J.; KASAI N. *Lagochilascaris major* (Leiper 1910) Tratamento com fenbendazol. In: **Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária e I Seminário de Parasitologia Veterinária dos Países do Mercosul**, 10., Itapema, 1997. p.274.
- PENA H.F.J.; KASAI N. *Lagochilascaris major* (Leiper 1910) Estudos morfológicos preliminares. In: **Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária e I Seminário de Parasitologia Veterinária dos Países do Mercosul**, 10., Itapema, 1997. p 273.
- REY, L. **Bases da Parasitologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 349 p.
- ROCHA, A.; SATO, M.O.; VEIRA-BRESSAN, M.C.R. *Clinical and Hematological Alterations in cats Infected with Lagochilascaris major*. In: **17 th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology**, August 1999. p. 15-19.
- ROCHA, M. P. da C.; FRAIHA NETO, H.; BARRETO NETO, A. C. P. Infecção de Ouvido Médio e Mastóide por *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909 (Nematoda, Ascarididae). Relato de um caso do Sul do Estado do Pará, Amazônia, Brasil, **Hiléia Médica**, v. 6 , n. 1/2, p.3-14, nov.1984.
- ROMERO J. R.; LED, J. E. Nuevo Caso de *Lagochilascaris major* (LEIPER 1910) En la República Argentina, parasitando al gato (*Felis catus domesticus*) **Zbl. Vet. Med. B**, v. 32 , p.575- 582 ,1985.
- ROSEMBERG, S.; LOPES M.B.S.; MASUDA Z.; CAMPOS,R.; VIEIRA BRESSAN, M.C.R. Fatal Encephalopathy Due to *Lagochilascaris minor* Infection, **American Journal Tropical Medicine Hygiene**, v.35 n.3, p. 575-578, 1986.

- SANTOS, V. M.; TORRES, C.C.S.; SILVA, R.M.; CARVALHO, M. V. Relato de caso de infecção humana por *Lagochilascaris minor*. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 65, p. 189-192, 1990.
- SCHALM, O. W. **Veterinary Hematology**. 3 ed. Philadelphia, U.S.A: Lea & Febiger, 1986.
- SMITH, J.L.; BOWMAN D.D.; LITTLE M.D. Life cycle and development of *Lagochilascaris sprenti* (NEMATODA: ASCARIDIDAE) from opossums (MARSUPIALIA: DIDELPHIDAE), **Journal Parasitology**, v. 69, n.4, 1983.
- SOULSBY, E.J.L. **Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals**. 7. ed, Philadelphia: Baillière Tindall. 1982, p 136 a 346.
- SPRENT, J.F.A. Speciation and development in the Genus *Lagochilascaris*, **Parasitology Queensland, Australia**, v.62, p. 71-112, 1971.
- SPRENT, J.F.A. A Note on *Lagochilascaris* from the cat in Argentina. **Parasitology**, n.63,p. 45-48, 1971.
- TOWBIN, H.; STAEHELIN, T. ; GORDON, J. Eletroforetic transfer of proteins from polyacrilamide gels to nitrocelulose sheets. **Procedings Natl Academic Science USA**, v.76, p. 4350-4354, 1979.
- TRAVASSOS, L. Pesquisas científicas realizadas em Angra dos Reis. **Folha Med.** 5: 152-153, 1924.
- VOLCAN, G. S.; OCHOA, F. R.; MEDRANO, C. E.; VALERA, Y. *Lagochilascaris minor* infection in Venezuela. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, v. 31, n. 6, p. 1111-1113, abr. 1982.
- VELOSO, M.G.P.; FARIA, M.C.A.R.; FREITAS, J.D.; MORAES, M.A.P.; GORINI,D.F.; MENDONÇA, J.L.F.L. Lagoquilaríase humana: Sobre três casos encontrados no Distrito Federal, Brasil **Revista do Instituto de Medicina tropical de São Paulo**, v. 34, n.6, p. 587-591, nov./ dez.1992.
- VIDOTTO, O.; ARAÚJO, P.; ARTIGAS, P.T.; REIS, A .C.F.; VIOTTI, N.M.A .; PEREIRA, E.C.P.; YAMAMURA, M.H. Caso de *Lagochilascaris minor* em cão in: **Congresso Brasileiro de Parasitologia**, 7., Porto Alegre, 1982.
- VIEIRA-BRESSAN, M.C.R.; EVANGELISTA, M.G.B.F. Observações sobre a segunda muda de larvas de *Parascaris equorum*, *Toxacara cati* e *Toxacaris leonina*. In: **Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia**, 8., **Congresso da Federacion Latinoamericana de Parasitologia**, 5.,1983, São Paulo, Resumo. São Paulo, 1983. p. 97.

- VOLCAN, G. S.; MEDRANO, C. E. Infeccion natural de *Speothos venaticus* (CARNIVORA: CANIDAE) por Estadios Adultos de *Lagochilascaris* sp, **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.33, n.6, p.45-458, nov./dez. 1991.
- VOLCAN, G. S., MEDRANO, C. E., & PAYARES, G. Experimental Heteroxenous Cycle Of *Lagochilascaris minor* LEIPER,1909 (Nematoda:Ascaridedae) in White Mice and en Cats. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.87,n.4, p.525-532, out/nov. 1992.
- WILLARD, M. D. **Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods**. 2. Ed. Philadelphia, Pensylvania: Saunders Company, 1994.
- WINCKEL, W.E.P. e TREURNIET,A.E. Infestation with *Lagochilascaris minor* (Leiper) in man. **Documenta de medicina geographica et tropica**. v.8, p. 23-8, 1956.

ANEXOS

Anexo 1 - Questionário para caracterização dos felídeos participantes do estudo epidemiológico da lagochilascaríase no estado de São Paulo

1 – Instituição a que pertence o animal no momento:

2 – Data de chegada do animal na Instituição em que se encontra:

3 – Local de origem ou de aquisição do felídeo:

4 - Identificação individual do felídeo:

5 - Nome científico:

6 – Idade ou data de nascimento:

7 – Sexo:

macho

fêmea

8 - Fez exame de fezes ?

sim

não

resultado:.....Feito por:.....

9 – Nome do declarante e telefone para contato:

10 - Marque com um "x" as alternativas que o animal possui ou possuiu no passado:

Abscesso na região do pescoço

Abscesso em outras regiões do corpo que não sejam o pescoço

Fístula

Massa tumoral ou aumento de volume localizado

Secreção nasal purulenta

Secreção ótica purulenta

Teve uma ou mais das alternativas anteriores no passado

Anexo 2 - Medidas de larvas extraídas de ovos com 20, 120 e 424 dias de incubação, em mm

20 Dias após a infecção	120 dias após a infecção	424 dias após a infecção
0,391577	0,32037	0,270702
0,397767	0,32656	0,281733
0,399407	0,3282	0,290452
0399637	0,32843	0,297117
0,406567	033536	0,311028
0,406567	033562	0,311056
0,406869	0,33829	0,321528
0,409539	0,33851	0,327389
0,409759	0,34102	0,327712
0409979	0,34359	0,328612
0,412489	0,34934	0,338047
0,412729	0,35478	0,343395
0,412961	0,35788	0,345571
0,413082	0,3581	0,346938
0,416051	0,35834	0,347643
0,419411	0,36421	0,350739
0,419561	0,37326	0,352793
0,424448	0,37558	0,35683
0,424881	0,37867	0,36329
0,43372	0,38203	0,367517
0,43372	0,38218	0,368967
0,434222	0,38695	0,369378
0,442752	0,3875	0,370724
0,443831	0,39402	0,39864
0,452653	0,39486	0,399268
0,454031	039752	0,402813
0,457857	0,39789	0,40734
0,464901	0,40078	0,410772
0,465021	0,40674	0,429776
0,467392	0,4102	0,470174
	0,41262	
	0,41649	
	0,42354	
	0,42458	
	0,44301	
	0,443533	
	0,46618	

Anexo 3 - Medidas de larvas extraídas de cistos parasitários após 6 meses da infecção, em mm :

	Medida em mm
1	6,66
2	6,66
3	7
4	7
5	7,33
6	7,33
7	7,33
8	7,33
9	7,33
10	7,33
11	7,33
12	7,66
13	7,66
14	7,66
15	8
16	8
17	8
18	8
19	8,33
20	8,33
21	8,33
22	8,33
23	8,33
24	8,33
25	8,66
26	8,66
27	8,66
28	8,66

Anexo 4 - Medidas, em mm, de
Lagochilascaris major adultos do experimento 4.

	Machos	Fêmeas
Comprimento do corpo	18,5 a 15,5	23,2 a 21,6
Largura do corpo na região final do esôfago	0,37 a 0,5	0,5 a ,035
Comprimento dos lábios	0,107 a 0,076	0,06 a 0,08
Largura dos Lábios	0,17 a 0,1	0,15 a 0,12
Espaço interlabial	0,05 a 0,053	0,10 a 0,05
Distância do anel nervoso à extremidade anterior	0,45 a 0,49	0,384 a 0,55
Comprimento do esôfago	1,84 a 1,87	1,92 a 2,08
Comprimento da cuada	0,13 a 0,15	0,215 a 0,32
Distância da vulva à extremidade anterior	-----	11,83 (51%) a 11,48(53%)
Comprimento do ductos ejaculatório	1,1 a 0,9	-----
Comprimento dos espículos	0,886 a 0,8	-----