



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

**PREVALÊNCIA, GRAU DE CONTAMINAÇÃO E VIABILIDADE DE OVOS DE  
*Toxocara* spp. EM PARQUES PÚBLICOS DA ÁREA DA GRANDE LISBOA**

DAVID DO ESPÍRITO SANTO OTERO PUREZA

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI**

Doutor Fernando Jorge Silvano Boinas  
Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho  
Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

**ORIENTADOR**

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2015

LISBOA

---



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

**PREVALÊNCIA, GRAU DE CONTAMINAÇÃO E VIABILIDADE DE OVOS DE  
*Toxocara* spp. EM PARQUES PÚBLICOS DA ÁREA DA GRANDE LISBOA**

DAVID DO ESPÍRITO SANTO OTERO PUREZA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI**

Doutor Fernando Jorge Silvano Boinas  
Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho  
Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

**ORIENTADOR**

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2015

LISBOA

---

***“Não existe ensino que se compare ao exemplo.”***

– Robert Baden-Powell

## AGRADECIMENTOS

Uma dissertação de Mestrado é uma cooperação de esforços e enteadas, ao invés de um trabalho solitário e unipessoal. É por isso importante agradecer e reconhecer todos aqueles que ajudaram e tornaram possível este trabalho.

Em primeiro lugar ao grande responsável de todo o projeto, o Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho. Muito mais que orientador, um educador e um amigo que tornou possível esta grande aventura, incluindo o inestimável estágio na Universidade de Utrecht na Holanda, evento que acabou por marcar a diferença no desenrolar de todo o projeto. Um muito obrigado pelo constante bom humor, dedicação, pelas noites de trabalho, pela orientação, pelo apoio (nos bons e maus momentos), pelas revisões, pelas críticas, pelas intervenções e pelos puxões de orelhas, sempre nos momentos mais determinantes. Obrigado pelos projetos diferentes em que me permitiu participar, como o projeto “Cãotentor”, que serviram para me mostrar as possibilidades existentes. Toda esta ajuda nunca será esquecida.

Ao Professor Doutor Paul Overgaauw, Professor Doutor Franz van Knapen e Professor Rolf Nijse pela receção calorosa na Universidade de Utrecht na Holanda que me permitiu sentir em casa desde o primeiro dia. Muito obrigado a todos por irem muito além das suas próprias responsabilidades e gastarem do tempo pessoal a garantirem que a minha experiencia era a mais completa e informativa possível. Muito obrigado ao Professor Paul Overgaauw por me fazer a visita guiada ao RIMV onde pude observar as boas práticas utilizadas num dos melhores laboratórios mundiais de cultura de *Toxocara* spp. e que permitiram trazer para Portugal uma nova maneira de pensar. E um muito obrigado ao Professor Rolf Nijse pelas horas de laboratório e de recolhas que me permitiram trazer para Portugal uma nova maneira de trabalhar.

À Mestre Ana Margarida Alho, um obrigado muito especial, pelo incansável apoio e ajuda constantes, quer para os trabalhos desta dissertação, quer no apoio e correção dos artigos publicados. Por estar sempre lá quando é preciso e ir sempre mais além das suas obrigações, por insistir, puxar e motivar constantemente. Por, em conjunto com o Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho, me permitir participar em projetos diferentes e desafiantes.

À Doutora Lúcia Gomes o meu obrigado por liderar o laboratório de análises clínicas como um verdadeiro general, permitindo que a minha passagem por lá tenha sido muito mais proveitosa

do que inicialmente antecipei. Pelas explicações, pelo apoio e pelo ensino que permitiram que os trabalhos laboratoriais realizados tenham sido de excelência.

À Doutora Elena Pinelli e Doutora Denise Hoek, investigadoras do RIMV-Holanda, o meu muito obrigado pela visita às fantásticas instalações que lideram, pela discussão do meu plano de ação que foi preponderante para o sucesso dos resultados e pela ajuda constante durante a fase laboratorial. A visão holística e crítica perspicaz permitiram-me entender desde cedo a globalidade do trabalho que desenvolvi.

Aos meus colegas de curso, que fizeram destes anos uma verdadeira aventura, razão preponderante para os sucessos que acabei de atingir. Pela amizade, cumplicidade, tolerância, por saberem lidar com a minha falta de tempo e por a compreenderem, pelas incontáveis horas e noites de trabalho, e de uma maneira geral apenas por serem, um agradecimento muito especial à Daniela Ferreira, Joana Cardoso, André Beselga e Sofia Palacim.

À minha equipa de chefia dos Escoteiros de Queluz, Liliana Magalhães, Diogo Vila Viçosa, Sofia Carvalho, Sara da Costa e Filipa Trindade, e em geral a todos os jovens deste grupo, que sempre me apoiaram e incentivaram no que toca ao curso de Medicina Veterinária, por estarem “Sempre Prontos” a ajudar sempre que necessário, incluindo no projeto “Cãotentor”, o meu muito obrigado, pois sem vocês garantidamente que não teria sido possível.

Aos meus pais, Fátima e Carlos Otero, pelo carinho e pela amizade, por me terem ensinado a gostar “dos bichos e da ciência” desde pequeno, por me apoiarem incondicionalmente em todas as etapas, mesmo quando as mesmas não faziam sentido, e por terem acreditado sempre, um obrigado muito maior do que aquele que as palavras podem exprimir. Ao mano Filipe e ao sobrinho Gonçalo pelas aventuras, pela boa disposição, ajuda incansável e por acreditarem sempre. A toda a família, a mais unida que conheço, que me apoiou desde o primeiro dia e nunca me deixou cair.

Por último, à minha esposa, Liliana Magalhães, com quem partilho o caminho há 10 anos e foi a responsável pela minha vinda para este curso e a força motriz por trás de tudo o que consegui. Por não desistires, por acreditares (mais do que eu!), por me orientares ao longo destes difíceis anos de faculdade, por me ajudares em tudo o que foi preciso, principalmente ao longo dos trabalhos desta dissertação, um obrigado muito especial.

## RESUMO

A Toxocarose é a zoonose parasitária mais comum dos países desenvolvidos, estimando-se que os casos de infecção deste parasita no ser humano estejam subvalorizados. É causada por nemátodes do género *Toxocara*, sendo os mais importantes no contexto urbano as espécies *Toxocara canis* e *T. cati*. De todas as possíveis vias de infecção destes parasitas para o ser humano, a ingestão de ovos presentes no solo é de longe a mais significativa. Assim, o presente estudo teve como objetivos: 1) avaliar a prevalência de ovos de *Toxocara* spp. no solo dos parques públicos da Grande Lisboa; 2) comparar, para cada parque, a prevalência de ovos das amostras fecais com as amostras de solo; 3) investigar a viabilidade de infecção dos ovos recolhidos; 4) estudar a sazonalidade da prevalência de ovos no solo e; 5) identificar a espécie de ovos de *Toxocara* presente em cada amostra.

Ao todo foram recolhidas 151 amostras de solo e 135 amostras fecais provenientes de 19 parques públicos da área da Grande Lisboa. As amostras de solo foram analisadas segundo um método de centrifugação e sedimentação-flutuação, enquanto as amostras fecais foram analisadas pelo método adaptado de Cornell-Wisconsin. A incubação dos ovos recolhidos foi realizada em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,05M durante um período de 60 dias. Para a análise de sazonalidade foi recolhida uma amostra por mês durante um ano, no parque urbano Felício Loureiro em Queluz. A identificação morfológica da espécie dos ovos recolhidos foi realizada com base numa técnica modificada de medição do eixo maior e menor de cada ovo.

A prevalência de ovos de *Toxocara* spp. no solo de parques públicos da área da Grande Lisboa foi de 63,2%, com 53,0% das amostras recolhidas a serem positivas para este parasita. A prevalência foi especialmente elevada nas caixas de areia dos parques infantis. A taxa de viabilidade dos ovos recolhidos foi de 56,0%. Relativamente às amostras fecais, 15,8% de todos os locais estudados e 5,9% das amostras foram positivas a *Toxocara* spp. Dos ovos de *Toxocara* spp. recolhidos, 50,8% não foi possível distinguir se eram *T. cati* ou *T. canis*, enquanto 41,7% foram identificados como *T. cati* e 7,5% como *T. canis*.

Estes resultados apontam para uma elevada contaminação dos solos dos parques públicos da Grande Lisboa por este parasita, principalmente nas caixas de areia dos parques infantis. Os resultados levantam ainda questões sobre a importância relativa dos cães e gatos na disseminação urbana da doença. No global, os resultados indicam um elevado risco de infecção para animais e humanos, tendo desta forma os parques públicos um papel preponderante na perpetuação desta infecção.

**Palavras-chave:** *Toxocara* spp., zoonose, saúde pública, parques públicos, estudo de prevalência, viabilidade de infecção, Lisboa.

## ABSTRACT

Toxocarosis is the most common parasitic zoonosis in developing countries. The number of infection cases caused by this parasite is quite underestimated. Toxocarosis is caused by nematodes of genus *Toxocara* and the most important urban species are the *Toxocara canis* and *T. cati*. Among all the possible sources of infection to human beings, the ingestion of eggs from the soil is by far the most significant one. Therefore, this study had five objectives, namely: 1) to assess the prevalence of *Toxocara* spp. eggs in the soil of public parks in Greater Lisbon; 2) for each park, compare the prevalence of eggs from faeces with soil samples; 3) assess the viability of infection of the collected eggs; 4) study the egg prevalence seasonality in the soil, and; 5) identify the species of *Toxocara* eggs in each sample.

A total of 151 soil and 135 faecal samples were collected in 19 public parks in Greater Lisbon. The soil samples were analysed using a centrifugation and sedimentation-flotation method whereas the faecal samples were analysed using an adaptation of the Cornell-Wisconsin method. The incubation of the collected eggs was performed by using H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,05M during a 60 days period. The morphological species identification of *Toxocara* eggs, was achieved by using a modified version of a technique that measures the major and minor axis of each egg.

The prevalence of *Toxocara* spp. eggs in the soil of public parks was estimated in 63,2%, with 53,0% of positive results for this parasite in the collected samples, being the prevalence especially high in playground sand boxes. The viability rate of the collected eggs was 56,0%. Regarding the faecal samples, 15,8% of all studied parks and 5,9% of samples were positive for *Toxocara* spp. About the species identification, 50,8% of the *Toxocara* spp. eggs recovered was not possible to distinguish whether *T. cati* or *T. canis*, 41,7% were identified as *T. cati* and 7,5% as *T. canis*.

The obtained results suggest a high contamination of the soil of the public parks in Greater Lisbon with this parasite, especially in sand boxes of playgrounds. Additionally, the results raise several questions concerning the relative importance of dogs and cats for the overall urban dissemination of the disease. The results indicate that there is a high risk of infection for animals and humans. Public parks seem to play an important role to perpetuate this infection.

**Keywords:** *Toxocara* spp., zoonosis, public health, public parks, prevalence study, infection viability, Lisbon.

## ÍNDICE

ÍNDICE .....	vi
LISTA DE FIGURAS .....	ix
LISTA DE TABELAS .....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS .....	xii
1. Atividades desenvolvidas durante o estágio .....	1
1.1. Estágio Laboratorial no Departamento de Doenças Infeciosas e Imunologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Utrecht, Holanda .....	1
1.2. Estágio Curricular no Laboratório de Parasitologia da FMV-UL .....	3
1.3. Outros projetos durante o estágio .....	4
2. Introdução .....	5
2.1. Motivação .....	5
2.2. Objetivos .....	6
2.3. Metodologia e estrutura da tese .....	6
3. Revisão bibliográfica .....	8
3.1. <i>Toxocara</i> spp. ....	8
3.1.1. Taxonomia .....	8
3.1.2. Morfologia .....	9
3.1.3. Ciclo de Vida e Patologia da Infecção .....	13
3.1.3.1. Ciclo de Vida Geral .....	13
3.1.3.2. Ciclo de Vida no Cão .....	13
3.1.3.3. Ciclo de Vida no Gato .....	16
3.1.3.4. Patologia nos Hospedeiros Definitivos .....	17
3.1.3.5. Ciclo de Vida Hospedeiros Paraténicos .....	18
3.1.3.6. Migração e Patologia em Humanos .....	19
3.1.3.7. Patologia nos Hospedeiros Paraténicos .....	20
3.1.4. Epidemiologia .....	21
3.1.4.1. Contaminação ambiental .....	21
3.1.4.2. Epidemiologia nos hospedeiros definitivos .....	24

3.1.4.3.	Toxocarose em humanos .....	28
3.1.5.	Diagnóstico .....	31
3.1.5.1.	Diagnóstico em cão e gato .....	31
3.1.5.2.	Diagnóstico em humanos .....	32
3.1.6.	Terapêutica, profilaxia e controlo.....	32
3.1.6.1.	Tratamento do cão e gato .....	32
3.1.6.2.	Tratamento em humanos .....	36
3.1.6.3.	Controlo ambiental e da contaminação do solo .....	37
4.	Material e métodos .....	39
4.1.	Área de Estudo e Colheita de Material .....	39
4.2.	Análise de Amostras Fecais .....	41
4.3.	Análise de Amostras de Solo e Matéria Vegetal .....	41
4.4.	Incubação e Avaliação da Viabilidade de Infeção de ovos de <i>Toxocara</i> spp.....	42
4.5.	Sazonalidade da contaminação do solo por ovos de <i>Toxocara</i> spp. ....	43
4.6.	Identificação da espécie dos ovos de <i>Toxocara</i> .....	44
4.7.	Análise estatística .....	45
5.	Resultados .....	46
5.1.	Prevalência de ovos de <i>Toxocara</i> spp. em parques públicos da grande Lisboa .....	46
5.1.1.	Resultados por parque público .....	46
5.1.2.	Resultados por tipo de amostra.....	50
5.2.	Viabilidade dos ovos recuperados em amostras de solo de parques públicos .....	53
5.3.	Sazonalidade da infeção do solo por ovos de <i>Toxocara</i> spp. ....	57
5.4.	Identificação da espécie dos ovos recuperados.....	59
6.	Discussão .....	63
6.1.	Prevalência de ovos de <i>Toxocara</i> spp. no solo de parques públicos da área da Grande Lisboa .....	63
6.2.	Comparação da prevalência de ovos de <i>Toxocara</i> spp. das amostras fecais com as amostras de solo .....	64
6.3.	Viabilidade de infeção dos ovos recolhidos.....	66

6.4.	Sazonalidade da prevalência de ovos de <i>Toxocara</i> spp. no solo.....	67
6.5.	Identificação da espécie de ovos de <i>Toxocara</i> presente em cada amostra.....	67
7.	Conclusões.....	69
8.	Considerações Finais e Perspetivas Futuras .....	70
9.	Bibliografia.....	71
10.	Anexos.....	81
10.1.	Anexo 1 - Artigo científico Acta Parasitológica Portuguesa.....	81
10.2.	Anexo 2 - Artigo técnico Revista Clínica Animal.....	86
10.3.	Anexo 3 - Comunicação oral no XVII Congresso Português de Parasitologia .....	93
10.4.	Anexo 4 – Poster no XVIII Congresso da Sociedade Espanhola de Parasitologia	94
10.5.	Anexo 5 - Comunicação oral no XVIII Congresso da Sociedade Espanhola de Parasitologia.....	95
10.6.	Anexo 6 – Prémio Academia Lx 2013 .....	96
10.7.	Anexo 7 – Resultados completos da análise das amostras de solo e viabilidade dos ovos de <i>Toxocara</i> spp. recuperados .....	97
10.8.	Anexo 8 – Resultados completos da análise das amostras fecais para <i>Toxocara</i> spp.	101
10.9.	Anexo 9 – Resultados completos das medições aos ovos de <i>Toxocara</i> spp.....	105
10.10.	Anexo 10 – Resultados dos testes estatísticos realizados com o <i>software</i> SPSS Statistics 20 .....	108

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Número de amostras de solo analisadas e procedimentos realizados durante o Estágio no DII-FD-UU Holanda.....2
- Figura 2 - Trabalhos realizados durante o Estágio na Holanda e respectivas cargas horárias. ....3
- Figura 3 - Trabalhos realizados durante o Estágio Curricular e respectivas cargas horárias. ....4
- Figura 4 - Sumário da estrutura da dissertação e da execução dos trabalhos. ....7
- Figura 5 - Comparação da extremidade anterior de adultos de *Toxocara canis* (a) e *Toxocara cati* (b) no que concerne ao comprimento (verde) e largura (vermelho) da asa cervical (original).....9
- Figura 6 - Montagem fotográfica de três imagens do mesmo ovo de *Toxocara* spp., obtidas a profundidades diferentes (ajuste micrométrico) de forma a obter imagem nítida das três estruturas mais relevantes: parede externa, parede interna e embrião unicelular. Notar a estrutura tipo “bola de golfe” típica da parede dupla do ovo (original). ....10
- Figura 7 - Exemplos de ovos de *Toxocara* spp. recuperados de amostras fecais (a, b, c, d) e de solo (e, f, g, h). Nos primeiros todos os embriões são unicelulares. Em (e) embrião bicelular; (f) pluricelular; (g) larva L2/L3; (h) dois estádios diferentes na mesma amostra (original). ....11
- Figura 8 - Comparação de ovo de *Toxocara* spp. (esquerda) e de *Baylisascaris procyonis* (direita). Original. ....11
- Figura 9 - Comparação entre ovo de *Toxascaris leonina* (esquerda) e de *Toxocara* sp. (direita). Original. ....12
- Figura 10 - Pormenor da extremidade anterior de *T. canis* (a), *T. leonina* (b) e *T. cati* (c). Original.....12
- Figura 11 - Ciclo de Vida de *Toxocara canis* baseado em Araujo, 1972; Urquhart et al., 1996; Overgaauw, 1997b; Cordero del Campillo & Rojo Vázquez, 2001; Holland & Smith, 2006; Schmidt & Roberts, 2008; Strube et al., 2013; Bowman, 2014. Original. ....16
- Figura 12 - Esquema de desparasitação de juvenis e adultos, baseado em ESCCAP (2010) e Bowman (2014). Original. ....33
- Figura 13 - Localização dos parques públicos utilizados no estudo. Os números são referentes à Tabela 7.....40
- Figura 14 - Distribuição das amostras recolhidas.....40
- Figura 15 – Ilustração dos passos para análise de amostras de solo (original).....42
- Figura 16 - Frasco de cultura de 100cm<sup>3</sup>, contendo suspensão de ovos de *Toxocara* spp. em 50mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (original).....42
- Figura 17 - Fotografias do Parque Urbano Felício Loureiro em Queluz, em especial da área adjacente às cavalariças e jardins do Palácio Nacional de Queluz (original). ....43
- Figura 18 - Ovo de *Toxocara* spp. visto ao microscópio ótico (10x40x). A amarelo o eixo menor e a laranja o eixo maior (original). ....44
- Figura 19 – Comparação entre PI e PU positivos e negativos a ovos de *Toxocara* spp. para amostras de solo.....46

- Figura 20 - Parques públicos (PP) positivos e negativos a ovos de *Toxocara* spp. para amostras de solo (esquerda). Parques Infantis positivos (PI) e Parques Urbanos e Jardins Públicos positivos (PU) a ovos de *Toxocara* spp. para amostras de solo (direita). ..... 46
- Figura 21 - Comparação entre PI e PU positivos e negativos a ovos de *Toxocara* spp. para amostras fecais. .... 47
- Figura 22 - Parques públicos positivos e negativos a ovos de *Toxocara* spp. para amostras fecais (esquerda). Parques Infantis positivos (PI) e Parques Urbanos e Jardins Públicos positivos (PU) a ovos de *Toxocara* spp. para amostras fecais (direita). ..... 47
- Figura 23 - Mapa de distribuição dos resultados das análises ao solo (numeração relativa à Tabela 10). ..... 49
- Figura 24 - Mapa de distribuição dos resultados das análises às fezes (numeração relativa à Tabela 10). ..... 49
- Figura 25 - Amostras de solo positivas e negativas para ovos de *Toxocara* spp. (esquerda). Divisão das amostras positivas por Parques Infantis (PI) e Parques Urbanos e Jardins Públicos (PU) (direita). ..... 50
- Figura 26 - Amostras de solo recolhidas em Parques Infantis (PI) (esquerda) e amostras de solo recolhidas em parques urbanos e jardins públicos (PU) (direita), positivas e negativas a ovos de *Toxocara* spp. .... 50
- Figura 27 - Amostras fecais positivas e negativas (esquerda). Divisão das amostras positivas por Parques Infantis (PI) e Parques Urbanos e Jardins Públicos (PU) (direita). ..... 51
- Figura 28 - Amostras fecais recolhidas em Parques Infantis (PI) (esquerda) e amostras fecais recolhidas em parques urbanos e jardins públicos (PU) (direita), positivas e negativas a ovos de *Toxocara* spp. .... 51
- Figura 29 - Ovos de *Toxocara* spp. encontrados em amostras de solo dos locais de estudo (original). ..... 53
- Figura 30 - Distribuição dos ovos de *Toxocara* spp. recuperados. pelos tipos de parque público. .... 53
- Figura 31 - Médias de ovos por 100g de solo, para cada tipo de parque e média global, referente às amostras de solo contaminado. .... 54
- Figura 32 - Médias de ovos por 100g de solo, para cada tipo de local e média global, referente a todas as amostras de solo do estudo. .... 54
- Figura 33 - Ovos de *Toxocara* spp. completamente desenvolvidos com larva L3 viva no seu interior, após 60 dias de maturação (original). ..... 55
- Figura 34 - Comparação entre o número de ovos recuperados e a respetiva percentagem de ovos viáveis após 60 dias de incubação, para cada amostra mensal. .... 58
- Figura 35 - Classificação dos ovos analisados, com base na medida do seu eixo maior e menor. .... 59
- Figura 36 - Exemplos de ovos de *Toxocara* spp. medidos para classificação da espécie (eixo maior a laranja e eixo menor a amarelo). Imagens a), b) e f) classificadas como *T. canis*; d), e) e g) como *T. cati*; c) e h) como Indefinido (original). ..... 61

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Espécies mais relevantes de *Toxocara* e respetiva distribuição geográfica e hospedeiros definitivos. .... 8
- Tabela 2 – Resumo da Epidemiologia no mundo, e comparação da prevalência entre amostras de solo e fecais..... 23
- Tabela 3 - Resumo da Epidemiologia em Portugal. .... 25
- Tabela 4 - Resumo da Epidemiologia no Mundo. .... 27
- Tabela 5 - Seroprevalências para *Toxocara* spp. em humanos..... 30
- Tabela 6 - Princípios ativos para tratamento de Toxocarose em animais domésticos (Dryden & Ridley, 1999; McTier et al., 2000; Foreyt, 2001; Bowman, 2014)..... 35
- Tabela 7 - Listagem dos Parques Públicos utilizados no estudo, localização e categoria (PU – Parques urbanos e jardins públicos; PI – Parques infantis com caixa de areia). 39
- Tabela 8 - Classificação de ovos de *Toxocara* spp. com base em valores adaptados para a dimensão dos eixos menor e maior (Fahrion et al., 2011)..... 44
- Tabela 9 - Síntese da prevalência de *Toxocara* spp. nos parques públicos, para amostras de solo e fezes..... 47
- Tabela 10 - Síntese dos resultados positivos e negativos para ovos de *Toxocara* spp. em solo e em fezes, por parque público. A negrito os parques públicos positivos em pelo menos uma amostra de solo ou fecal. .... 48
- Tabela 11 - Síntese de resultados das amostras de solo e fecais, por parque público. . 51
- Tabela 12 - Resumo dos *p-value* e resultado para cada Teste Exato de Fisher realizado para as análises indicadas (intervalo de confiança 95%)..... 52
- Tabela 13 - Síntese de resultados dos ovos recuperados e viáveis, por parque público. .... 56
- Tabela 14 - Quadro de valores do coeficiente de correlação de Pearson ( $\rho$ ) para todas as variáveis testadas relativas à viabilidade e recuperação de ovos de *Toxocara* spp. em amostras de solo..... 57
- Tabela 15 - Síntese de resultados referentes ao estudo de sazonalidade. Dados de TM e PA divulgados pelo Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA, 2015)..... 58
- Tabela 16 - Quadro de valores do coeficiente de correlação de Pearson ( $\rho$ ) para todas as variáveis testadas relativas à sazonalidade da infeção de ovos de *Toxocara* spp. em amostras de solo..... 59
- Tabela 17 - Síntese de resultados referentes à classificação dos ovos de *Toxocara* spp. com base nas medidas do seu eixo maior e menor. .... 60
- Tabela 18 - Valores máximos, mínimos e médios para os eixos maior e menor dos ovos de *Toxocara* spp. em cada uma das 3 classificações. .... 60
- Tabela 19 - Estudos de prevalência de ovos de *Toxocara* spp. em caixas de areia de parques infantis, em comparação com o estudo atual, e ordenados pelo valor da prevalência..... 64
- Tabela 20 - Comparação entre amostras de solo e fecais positivas a *Toxocara* spp. para os mesmos locais de estudo. .... 65
- Tabela 21 - Comparação da taxa de viabilidade do estudo atual com outros estudos internacionais..... 66

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- $\text{cm}^3$  – Centímetro cúbico
- CSF – Centrifugação-Sedimentação-Flutuação
- DII-FD-UU – Departamento de Doenças Infecciosas e Imunologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Utrecht – Holanda
- FMV-UL - Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa
- $g$  - Aceleração gravítica
- $g$  – Grama
- HP – Hospedeiro paraténico
- $\text{kg}$  - Quilograma
- L1/L2/L3/L4/L5 - Larva de nemátode de 1º, 2º, 3º, 4º e 5º estágio
- LDP - Laboratório de Doenças Parasitárias
- LMN - Larva Migrante Neurológica
- LMO - Larva Migrante Ocular
- LMV - Larva Migrante Visceral
- PCR - *Polymerase Chain Reaction* (reação em cadeia da polimerase)
- ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
- EIA – *Enzyme immunoassay*
- $\text{mg}$  - Miligrama
- $\text{ml}$  - Mililitro
- PI - Parques Infantis
- PMA - Precipitação média acumulada
- PO - *Per os* (administração oral)
- PP - Parques Públicos
- PU - Parques urbanos e jardins públicos
- RIMV - Instituto Nacional Holandês para a Saúde Pública e Ambiente
- TES – *Toxocara Excretory-Secretory* (proteínas excretadas-secretadas por *Toxocara*)
- TMA - Temperatura média ambiente





## **1. Atividades desenvolvidas durante o estágio**

O estágio curricular foi delineado conjuntamente com o orientador, Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho, e realizado no Laboratório de Doenças Parasitárias (LDP) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-UL). Teve como principais objetivos:

- i) Aprendizagem de novas técnicas laboratoriais de análise parasitológica;
- ii) Participação no quotidiano e dinâmica de funcionamento do laboratório;
- iii) Realização de um projeto de investigação ligado à parasitologia.

Após definição do projeto de investigação a desenvolver, e uma vez que o protocolo necessário para recuperação de ovos de *Toxocara* spp. no solo precisava de uma atualização ao nível do LDP, foi realizado um estágio laboratorial de verão no Departamento de Doenças Infeciosas e Imunologia, da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Utrecht - Holanda (DII-FD-UU).

Durante o estágio curricular houve ainda participação e acompanhamento de diversos projetos que decorreram no Sector de Parasitologia do Departamento de Sanidade Animal da FMV-UL.

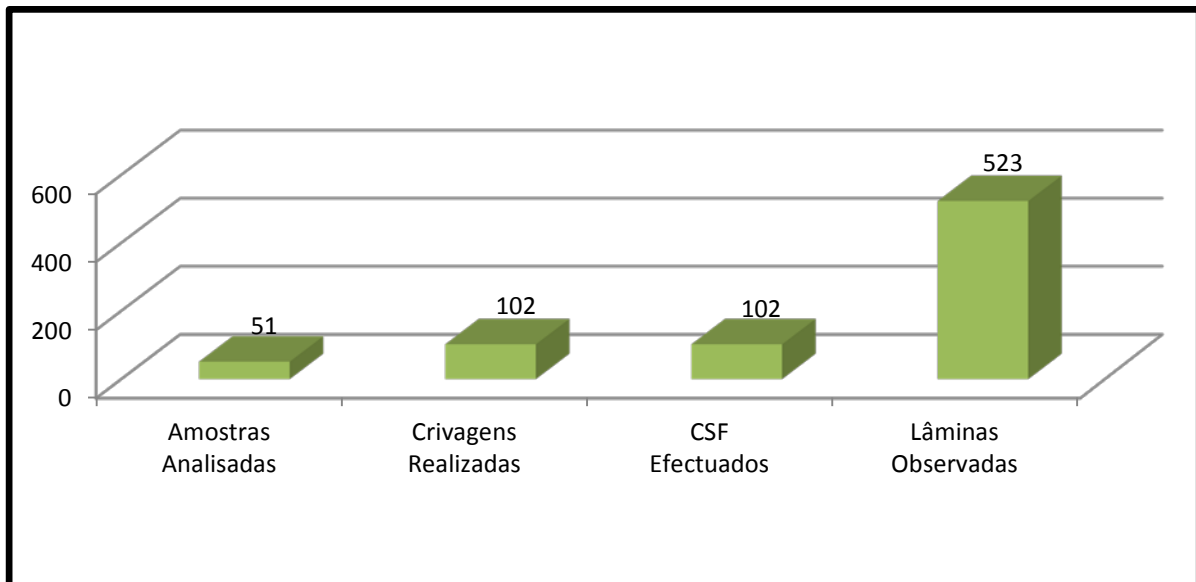
### **1.1. Estágio Laboratorial no Departamento de Doenças Infeciosas e Imunologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Utrecht, Holanda**

O estágio decorreu de 13 de Agosto a 2 de Setembro de 2012 no Departamento de Doenças Infeciosas e Imunologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Utrecht na Holanda. O aluno foi orientado pelo Professor Doutor Paul Overgaauw e acompanhado nos seus trabalhos pelo Professor Doutor Franz van Knapen e pelo Professor Rolf Nijse. Os objetivos deste estágio compreendiam:

- i) Aprendizagem da técnica de recuperação de ovos de *Toxocara* spp. em amostras de solo utilizada pelo Professor Paul Overgaauw;
- ii) Aprendizagem de novas técnicas laboratoriais e dinâmicas de trabalho;
- iii) Auxílio no trabalho diário realizado no laboratório do DII-FD-UU;
- iv) Visita ao RIMV – Instituto Nacional Holandês para a Saúde Pública e Ambiente, e reunião de trabalho com a Doutora Elena Pinelli e Doutora Denise Hoek.

Durante o estágio no DII-FD-UU foram realizadas colheitas de amostras de solo nas cidades de Utrecht e De Bilt, segundo a metodologia por eles utilizada. Foram ainda analisadas 51 amostras de solo, previamente recolhidas durante o ano de 2012 por toda a Holanda, através da técnica

de crivagem e centrifugação-sedimentação-flutuação (CSF) utilizada no laboratório, com o âmbito de as caracterizar a nível parasitológico, especialmente no que respeita à presença de ovos de *Toxocara* spp. O número de amostras analisadas e os procedimentos realizados estão esquematizados na Figura 1.



**Figura 1 - Número de amostras de solo analisadas e procedimentos realizados durante o Estágio no DII-FD-UU Holanda.**

Foram também realizados pelo aluno vários protocolos de análise parasitológica, inseridos no trabalho Doutoral do Professor Rolf Nijse e nas aulas práticas que decorreram durante as semanas de estágio. Foram analisadas amostras fecais pelas técnicas de sedimentação de Ritchie e de Hoffmann; pela técnica de flutuação de Willis; pelas técnicas mistas de sedimentação-flutuação de Cornell-Wiconsin e Faust; pelo método de concentração de Baermann; e ainda pelo método quantitativo de McMaster. Foram ainda analisadas amostras sanguíneas pela técnica de Jancsó-Rosenberger, técnica de Donovan, técnica da gota espessa e técnica de Knott.

Por último, foi realizada uma visita ao RIMV - Instituto Nacional Holandês para a Saúde Pública e Ambiente, não só para compreender de forma integrada o modo como a Holanda atua na prevenção da Saúde Pública, especialmente no que ao sector da parasitologia diz respeito, mas principalmente para reunir com a Doutora Elena Pinelli e a Doutora Denise Hoek, investigadoras responsáveis pela Secção de *Toxocara* do RIMV. Na reunião foram apresentadas ideias para os objetivos e linhas condutoras para o trabalho que o aluno iria realizar em Portugal, problemas da técnica e formas de os solucionar e foi ainda ensinado ao aluno a técnica de conservação e cultura de ovos de *Toxocara* spp.

O tipo de trabalhos realizados e as horas de trabalho estão esquematizados na Figura 2.

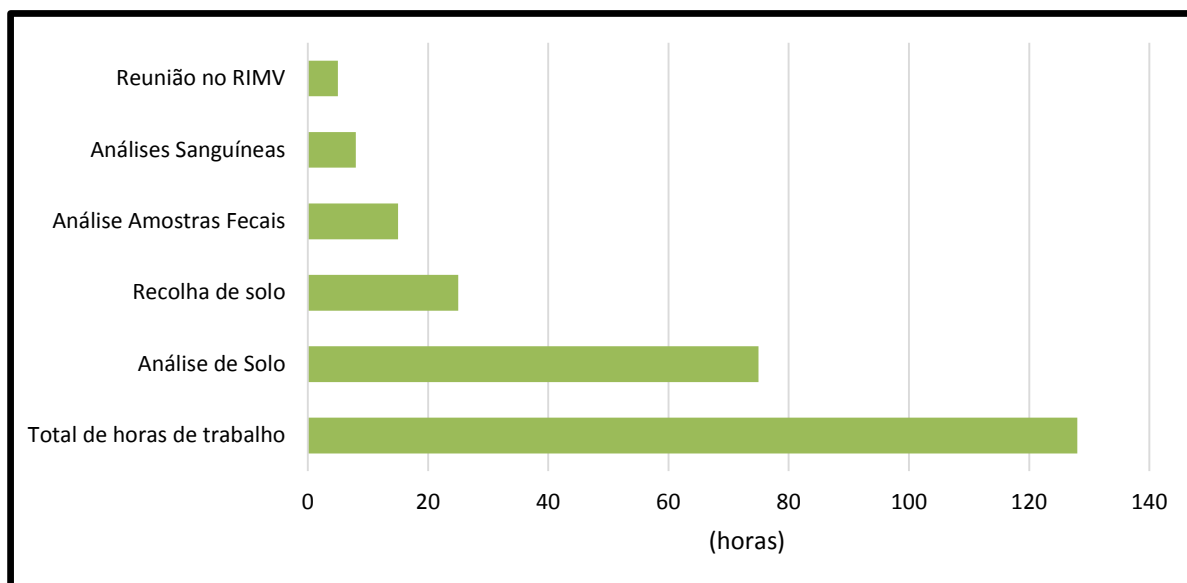


Figura 2 - Trabalhos realizados durante o Estágio na Holanda e respetivas cargas horárias.

## 1.2. Estágio Curricular no Laboratório de Parasitologia da FMV-UL

De 1 de Setembro de 2013 a 31 de Julho 2014 foi realizado o estágio curricular no Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV-UL. Durante este período foram acompanhadas as atividades de rotina do Laboratório, para ganhar experiência e conhecimento no processamento de amostras, técnicas de análise e diagnóstico, principalmente no que diz respeito a hemoparasitas e parasitas gastrointestinais de carnívoros.

O aluno teve oportunidade de auxiliar a Dra. Lídia Gomes e ainda outros alunos de Mestrado e Doutoramento de forma a aprofundar conhecimentos e realizar em autonomia várias técnicas, entre as quais se destacam pela elevada recorrência, o processamento de amostras fecais e posterior análise pela técnica de flutuação de Willis, técnica de concentração de Baermann e muitas vezes quantificação de ovos com câmara de McMaster. Relativamente a amostras de sangue, foram aprendidas e aprofundadas várias técnicas de coloração e fixação, e ainda esfregaços pela técnica de Jancsó-Rosemberger, técnica da gota espessa e técnica de Donovan. Paralelamente foram desenvolvidos os trabalhos relacionados com a presente dissertação de mestrado, que incluíram a colheita de 151 amostras de solo e 135 amostras de fezes em 19 parques públicos e parques infantis da área da Grande Lisboa, e posterior processamento e análise parasitológica. O resumo dos trabalhos realizados e respetiva carga horária encontram-se esquematizados na Figura 3.

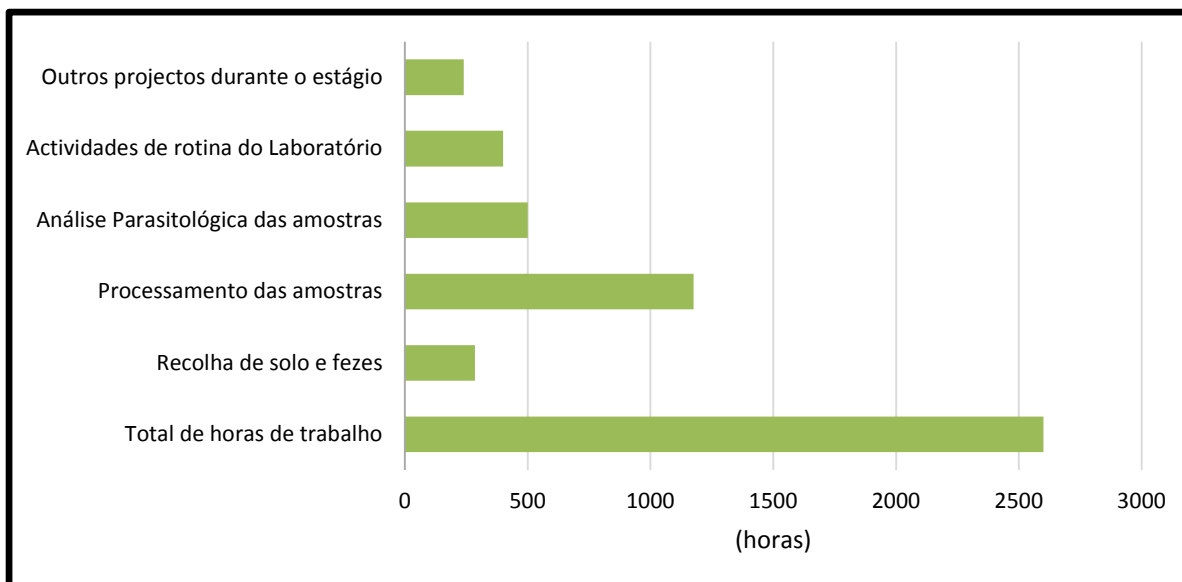


Figura 3 - Trabalhos realizados durante o Estágio Curricular e respetivas cargas horárias.

### 1.3. Outros projetos durante o estágio

Ainda durante o estágio curricular e escrita da dissertação de mestrado, o aluno teve oportunidade de realizar outros projetos complementares e participar em projetos do sector de Parasitologia do Departamento de Sanidade Animal da FMV-UL que a seguir se listam:

- Publicação de dois artigos, um científico e outro técnico, como primeiro autor, o primeiro na Acta Parasitológica Portuguesa, 20:47-50 (Anexo 1), e o segundo na revista Clínica Animal, nº 3 de 2015 (Anexo 2).
- Apresentação dos resultados provisórios desta dissertação em comunicação oral no XVII Congresso Português de Parasitologia (Anexo 3);
- Apresentação dos resultados provisórios desta dissertação em poster no XVIII Congresso da Sociedade Espanhola de Parasitologia (Anexo 4);
- Participação na comunicação oral apresentada no XVIII Congresso da Sociedade Espanhola de Parasitologia subordinada ao tema “*Some emerging canine vector borne diseases and antiparasitic control measures in companion animals in Portugal – recent updates*” (Anexo 5);
- Co-autoria do projeto apresentado a concurso na Câmara Municipal de Lisboa, para o Prémio Academia Lx, intitulado “*Velhos Problemas, Novas Soluções: Lisboa Modelo de Cidadania e Inovação na Valorização dos Espaços Públicos*” (Anexo 6);

## 2. Introdução

### 2.1. Motivação

A Toxocarose é a zoonose parasitária mais comum nos países desenvolvidos (Madeira de Carvalho, Carreira, et al., 2005). Vários estudos ao longo das últimas décadas apontam para a elevada prevalência desta infeção nas populações de gatos e cães em Portugal (Arandas Rego, 1980; Vieira, 1981; Carvalho-Varela, 1991; Carvalho-Varela, Meireles, Pereira da Fonseca, & Madeira de Carvalho, 1996; Madeira de Carvalho, Pereira da Fonseca, et al., 2005; Martins, Sousa, & Portugal, 2005; Madeira de Carvalho, 2009; Duarte et al., 2010) e ainda para a possibilidade de ser uma helmintose humana endémica e bastante subvalorizada no nosso país (Rombert, 1976, 1984; David de Morais, Rombert, & Trinca, 1990; Grácio & Pereira, 2001; Pereira, 2001).

Mais ainda, estudos em países desenvolvidos e em desenvolvimento corroboram a importância deste parasita. Nos E.U.A. calcula-se que seja responsável pela infeção de 1 a 3 milhões de pessoas por ano (Schantz, 2002); no Brasil estudos reportam seroprevalências em crianças de 8,7% a 48,4% (Mendonça et al., 2013; Negri, Santarém, Rubinsky-Elefant, & Giuffrida, 2013); e na Holanda, em média 19% da população é exposta a *Toxocara* spp. (Melker et al., 1995).

De todas as possíveis vias de infeção de *Toxocara* spp. no ser humano, a ingestão de ovos presentes no solo e em vegetais é de longe a mais significativa e importante (Overgaauw, 1997a). Nas últimas décadas têm-se encontrado elevadas prevalências de ovos de *Toxocara* spp. no solo de áreas públicas em vários países do mundo, tais como Inglaterra (Gillespie, Pereira, & Ramsay, 1991), República Checa (Dubná, Langrová, Jankovská, et al., 2007), Irão (Khademvatan, Abdizadeh, & Tavalla, 2014) ou Bolívia (Chammartin et al., 2013). Em Portugal existe apenas um estudo, realizado nos últimos 30 anos, de caracterização parasitológica ambiental (Fernandes, 2006).

Tendo em conta o referido, surgiu além da necessidade, um interesse e motivação no autor em iniciar uma caracterização parasitológica de *Toxocara* spp. no solo dos parques públicos da zona da Grande Lisboa, de forma a melhor compreender a realidade da cidade e do nosso país. Entende-se que dada a relativa ausência de estudos no nosso país sobre esta temática, este estudo é uma mais-valia para o conhecimento sobre este parasita.

## **2.2. Objetivos**

Após estudo do estado da arte em Portugal e no resto do mundo, ficou patente a necessidade de, mais do que compreender a prevalência de ovos de *Toxocara* spp. no solo, comparar a mesma com a prevalência em amostras fecais, de forma a inferir a correlação dos dois fatores e estimar o grau de certeza dos anteriores trabalhos que apenas se focam em prevalências de amostras fecais. Mais ainda, e numa perspetiva de Saúde Pública, foi considerado de elevada importância inferir a viabilidade e capacidade de infeção dos ovos de *Toxocara* spp. recolhidos do solo, e ainda estudar a sazonalidade de prevalência desses mesmos ovos. Desta forma, foram formulados os seguintes objetivos operacionais:

1. Avaliar a prevalência de ovos de *Toxocara* spp. no solo dos parques urbanos, jardins públicos e parques infantis com caixa de areia da área da Grande Lisboa;
2. Comparar, para cada parque, a prevalência de ovos de *Toxocara* spp. das amostras fecais com as amostras de solo;
3. Investigar a viabilidade de infeção dos ovos recolhidos;
4. Estudar a sazonalidade da prevalência de ovos de *Toxocara* spp. no solo;
5. Identificar a espécie de ovos de *Toxocara* presente em cada amostra.

Pretende-se com esta dissertação contribuir para o estudo parasitológico destes importantes nemátodes em Portugal e para a compreensão do *Toxocara* spp. em termos de revisão bibliográfica e caracterização da distribuição urbana deste parasita, principalmente no que concerne à infeção do solo de parques públicos e capacidade infetante desses mesmos solos para animais e humanos.

## **2.3. Metodologia e estrutura da tese**

A presente dissertação foi desenvolvida de forma a responder aos objetivos enumerados no ponto anterior. De forma a seguir uma estrutura lógica e permitir uma maior facilidade de leitura, o documento foi dividido em oito capítulos que em seguida se apresentam.

Após a introdução nos capítulos 1 e 2, o capítulo 3 apresenta uma revisão bibliográfica centrada no parasita *Toxocara* spp., na qual são abordados os temas taxonomia, morfologia, ciclo de vida, patologia da infeção, epidemiologia, diagnóstico, terapêutica, profilaxia e controlo. No capítulo 4 são listados e explicados os materiais e métodos utilizados na execução dos trabalhos de campo e de laboratório relativos à colheita e análise de material e posterior incubação e conservação dos ovos recolhidos. No capítulo 5 são apresentados os resultados das prevalências

encontradas, assim como a comparação entre as mesmas e vários resultados estatísticos acerca dos dados obtidos. No capítulo 6 é realizada a discussão desses mesmos resultados. Os dois últimos capítulos, 7 e 8, apresentam as conclusões e perspectivas futuras relativas à presente dissertação e respetivo tema. A Figura 4 sumariza a estrutura da dissertação e a execução dos trabalhos.

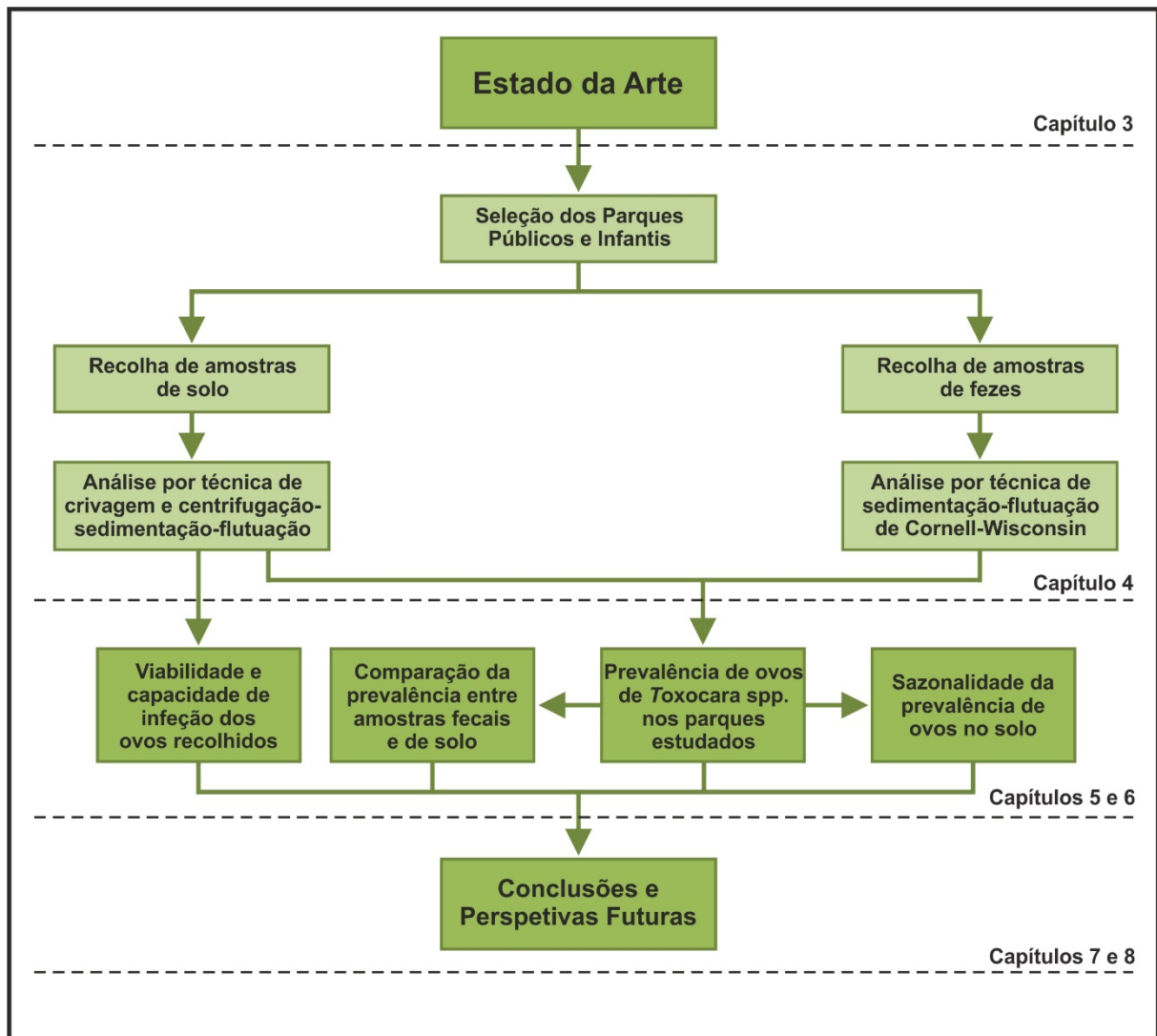


Figura 4 - Sumário da estrutura da dissertação e da execução dos trabalhos.

### 3. Revisão bibliográfica

#### 3.1. *Toxocara* spp.

Os nemátodes do género *Toxocara* são parasitas monoxenos cuja forma adulta vive dentro do intestino delgado de mamíferos domésticos e selvagens. No entanto, são vários os hospedeiros paraténicos, incluindo o Homem, em que as formas larvares podem levar à ocorrência de doença. Apresenta-se de seguida a revisão bibliográfica sobre o tema.

##### 3.1.1. Taxonomia

O género *Toxocara* é classificado no reino Animalia, filo Nematelminthes, classe Nematoda, ordem Ascaridida, superfamília Ascaridiodea, família Toxocaridae (Foreyt, 2001; Despommier, 2003). Existem inúmeras espécies citadas na bibliografia, no entanto à grande maioria faltam evidências científicas, especialmente no que concerne à caracterização genética e morfológica, que assegure a fiabilidade da informação (Holland & Smith, 2006). Por outro lado, foi recentemente caracterizada a nova espécie *Toxocara malaysiensis*, erradamente identificada como *Toxocara cati* ou *Toxocara canis* até ao ano de 2001 (Gibbons, Jacobs, & Sani, 2001). Embora este género seja amplamente conhecido e estudado, as novas técnicas de caracterização molecular e genética poderão providenciar novos dados no que toca à classificação taxonómica das várias espécies nos próximos anos (Gasser, 2013). A Tabela 1 contém o resumo das espécies de *Toxocara* mais relevantes:

Tabela 1 - Espécies mais relevantes de *Toxocara* e respetiva distribuição geográfica e hospedeiros definitivos.

Espécie	Distribuição Geográfica	Hospedeiro Definitivo
<i>T. canis</i> (Werner, 1782) <sup>PZ</sup>	Cosmopolita	Cão, raposa, lobo e outros canídeos selvagens
<i>T. cati</i> (Schrank, 1788) <sup>PZ</sup>	Cosmopolita	Gato, gato-montês, lince, gineta e outros felídeos selvagens
<i>T. malaysiensis</i> (Gibbons 2001) <sup>PZ?</sup>	Malásia	Felídeos domésticos (e selvagens?)
<i>T. vitulorum</i> (Goeze, 1782) <sup>PZ?</sup>	Regiões tropicais e subtropicais	Bovinos domésticos e selvagens
<i>T. tanuki</i> (Yamaguti, 1940)	Japão	Canídeos domésticos e selvagens
<i>T. apodemi</i> (Olsen, 1957)	Leste da Ásia	Roedores
<i>T. mackerrasae</i> (Sprent, 1957)	Austrália e Papua Nova Guiné	Roedores
<i>T. sprenti</i> (Warren, 1972)	Tailândia	Viverrídeos
<i>T. vajrasthira</i> (Sprent, 1972)	Tailândia	Mustelídeos
<i>T. pteropodis</i> (Baylis, 1936)	Austrália e EUA	Morcegos

PZ – Potencial Zoonótico  
PZ? – PZ não confirmado

Dados recolhidos de (Holland & Smith, 2006; Gasser, 2013)

Para este estudo apenas as espécies *Toxocara canis* e *Toxocara cati* são relevantes pelo que toda a dissertação será referente a estas duas espécies.

### 3.1.2. Morfologia

Os nemátodes adultos da espécie *Toxocara canis* possuem na extremidade anterior uma boca rodeada por três lábios, sendo um dorsal e dois subventrais, uma característica não só do género *Toxocara* mas de toda a ordem Ascaridida. Em ambos os sexos existe uma proeminente asa cervical em formato de lança e um bulbo glandular esofágico, denominado ventrículo, localizado na junção do esófago com o intestino (Bowman, 2014). Os machos medem 4 a 6 centímetros de comprimento, enquanto as fêmeas medem de 6,5 a mais de 15 centímetros (Foreyt, 2001).

Os exemplares adultos de *Toxocara cati* são em tudo semelhantes a *T. canis*, mas possuem a asa cervical em forma de seta, sendo esta menos comprida e mais larga (Figura 5) (Schmidt & Roberts, 2008). Também o comprimento do parasita é menor em relação a *T. canis*, possuindo entre 4 a 12 centímetros (Foreyt, 2001; Bowman, 2014).

Ambas as espécies têm uma coloração creme, aparecendo os órgãos reprodutores internos a branco nos parasitas frescos (Bowman, 2014).

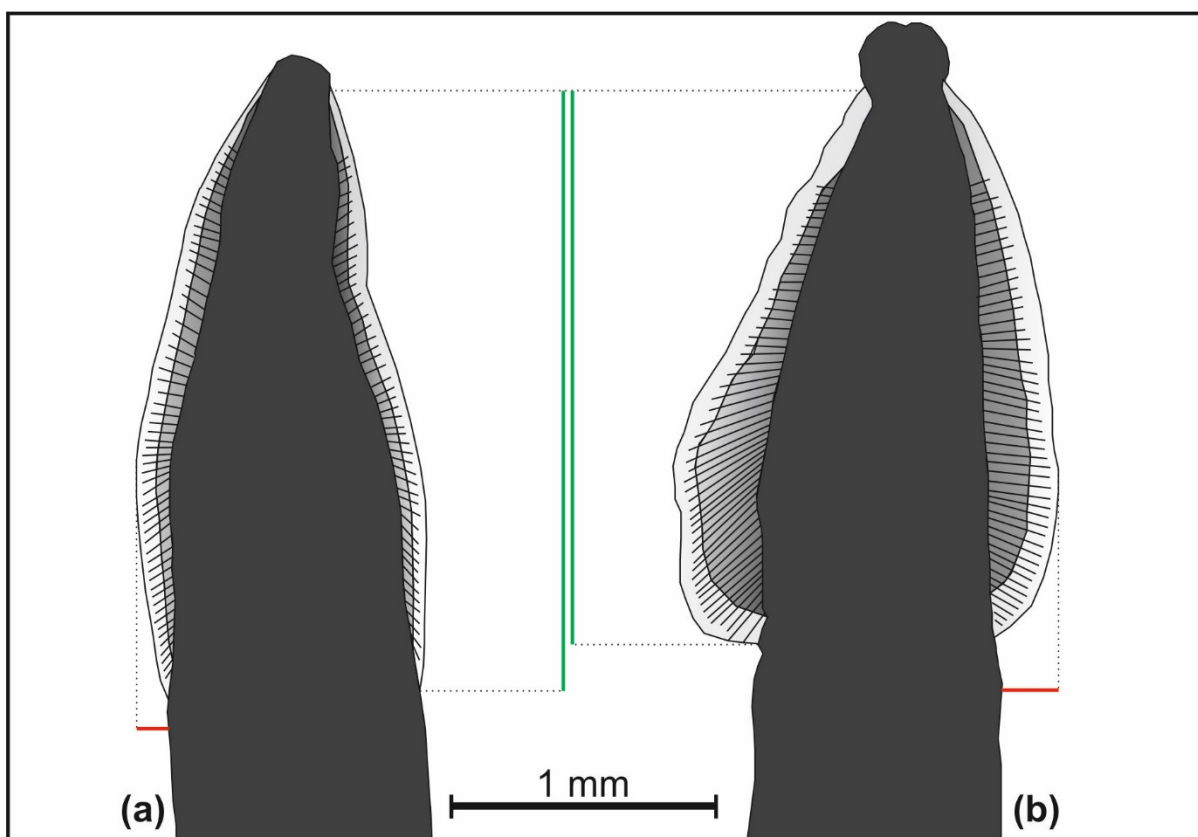


Figura 5 - Comparação da extremidade anterior de adultos de *Toxocara canis* (a) e *Toxocara cati* (b) no que concerne ao comprimento (verde) e largura (vermelho) da asa cervical (original).

Os ovos do género *Toxocara* possuem uma camada externa, característica evolutiva que confere grande resistência, mesmo em ambientes extremos ou a agentes químicos e físicos, possibilitando que sobrevivam no solo e permaneçam com capacidade infetante durante vários meses ou anos (Bowman, 2014). Microscopicamente os ovos de *T. canis* e *T. cati* são praticamente idênticos, revelando-se muito difícil e pouco precisa a distinção entre ambas as espécies. No entanto os ovos têm dimensões ligeiramente diferentes, sendo o tamanho médio dos ovos de *T. canis*  $74,8 \times 86,0 \mu\text{m}$ , com diâmetro mínimo de  $74,0 \mu\text{m}$  e máximo de  $86,8 \mu\text{m}$ ; e dos ovos de *T. cati*  $62,3 \times 72,7 \mu\text{m}$ , com diâmetro mínimo de  $61,8 \mu\text{m}$  e máximo de  $73,3 \mu\text{m}$ . Este conhecimento permite assim que, com o auxílio de um micrómetro, se possa realizar uma identificação um pouco mais precisa (Fahrion, Schnyder, Wichert, & Deplazes, 2011). Segundo alguns autores também a forma dos ovos de ambas as espécies difere, sendo os de *T. canis* mais subsféricos enquanto os de *T. cati* mais elípticos (Araujo, 1972). A densidade específica é praticamente idêntica, sendo  $1,09 \text{ g/cm}^3$  para ovos de *Toxocara canis* e de  $1,10 \text{ g/cm}^3$  para ovos de *Toxocara cati* (David & Lindquist, 1982).

Os ovos recuperados de amostras fecais são uniformemente arredondados ou ovais, contendo no centro um embrião unicelular, redondo e de coloração escura. Este está contido pela parede dupla do ovo, bastante espessa, rugosa e ondulada, tal e qual o exterior de uma bola de golfe, característica marcante dos ovos deste género (Figura 6).

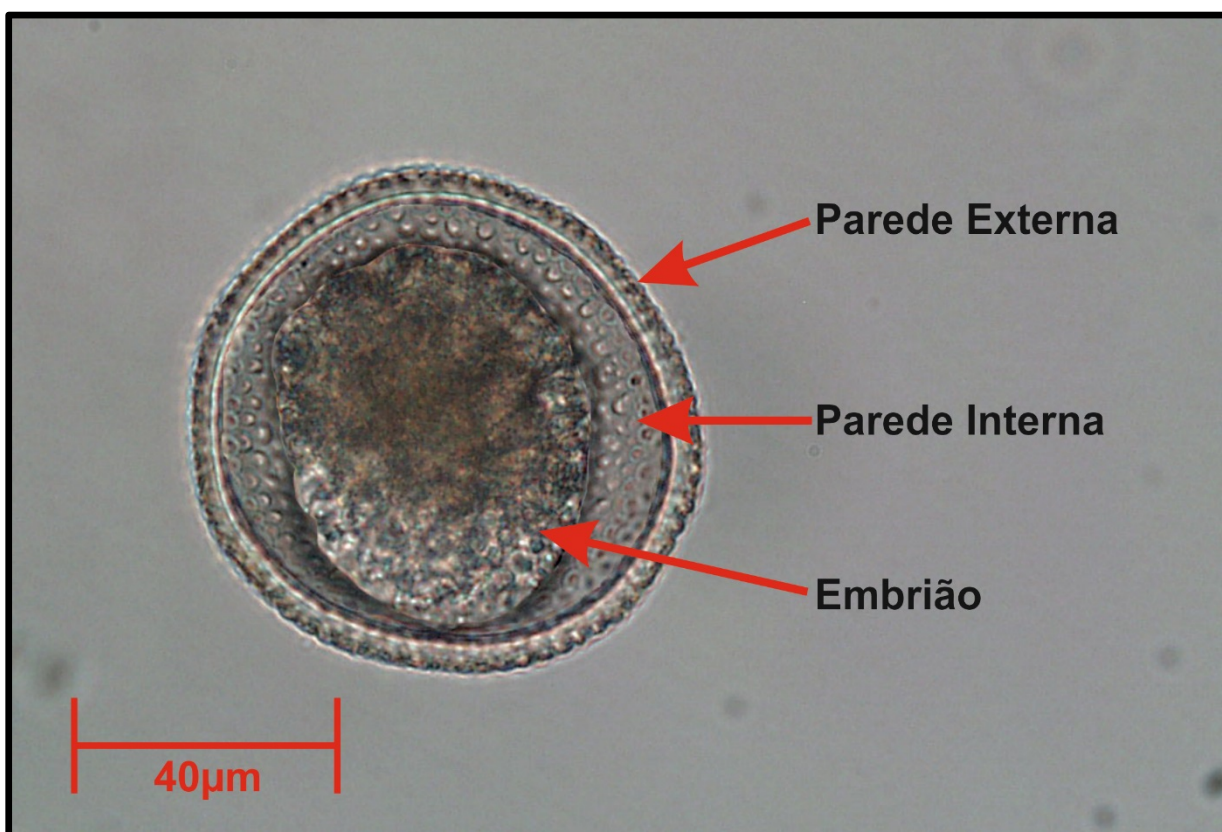


Figura 6 - Montagem fotográfica de três imagens do mesmo ovo de *Toxocara* spp., obtidas a profundidades diferentes (ajuste micrométrico) de forma a obter imagem nítida das três estruturas mais relevantes: parede externa, parede interna e embrião unicelular. Notar a estrutura tipo “bola de golfe” típica da parede dupla do ovo (original).

Em ovos recuperados do solo está sempre presente a parede externa clara e ondulada, mas devido ao desenvolvimento do embrião podemos encontrar no centro diferentes estádios de maturação, desde embriões unicelulares até larvas L3 perfeitamente desenvolvidas, transparentes e em constante movimento dentro do ovo. A parede interna nestes casos perde grande parte da sua estrutura (Figura 7) (Araujo, 1972).

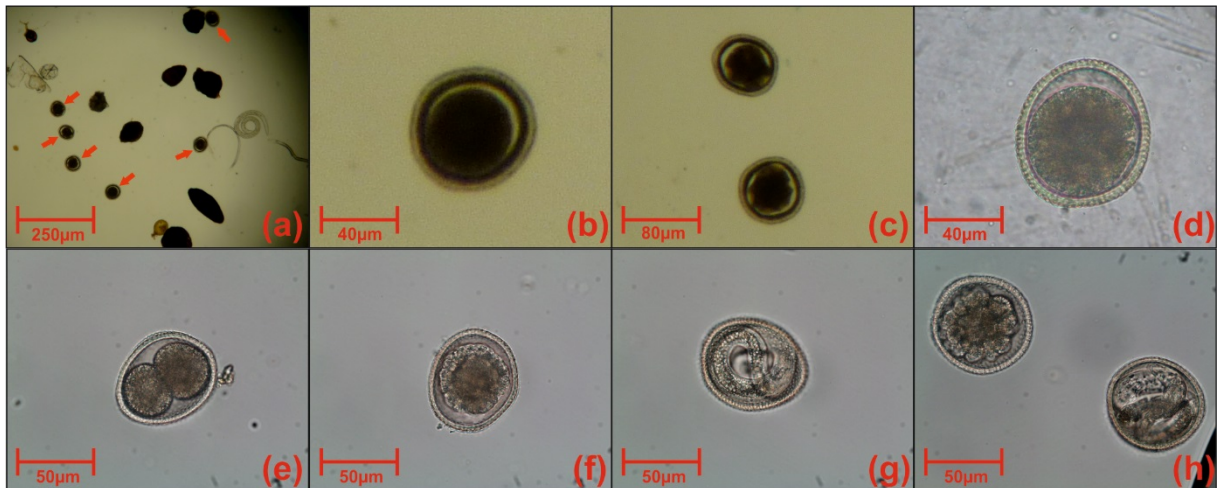


Figura 7 - Exemplos de ovos de *Toxocara* spp. recuperados de amostras fecais (a, b, c, d) e de de solo (e, f, g, h). Nos primeiros todos os embriões são unicelulares. Em (e) embrião bicelular; (f) pluricelular; (g) larva L2/L3; (h) dois estádios diferentes na mesma amostra (original).

*Baylisascaris procyonis* é um ascarídeo cujo hospedeiro definitivo normal é o guaxinim, e que infeta acidentalmente o cão e o próprio Homem. Os ovos deste parasita podem ser erradamente identificados como *Toxocara canis*, principalmente aqueles que tenham perdido a capa proteica de cor acastanhada que os envolve. O diagnóstico diferencial é facilmente realizado usando um micrómetro, pois os ovos de *B. procyonis* são em média mais pequenos que os de *Toxocara canis*, com ajustes no parafuso micrométrico não se observa a característica parede exterior ondulada de *Toxocara* spp. e por vezes a sua coloração é castanho-escuro na camada mais externa do ovo, o que contrasta com a coloração amarelo-acastanhada dos de *T. canis* (Figura 8) (Zajac & Conboy, 2012).

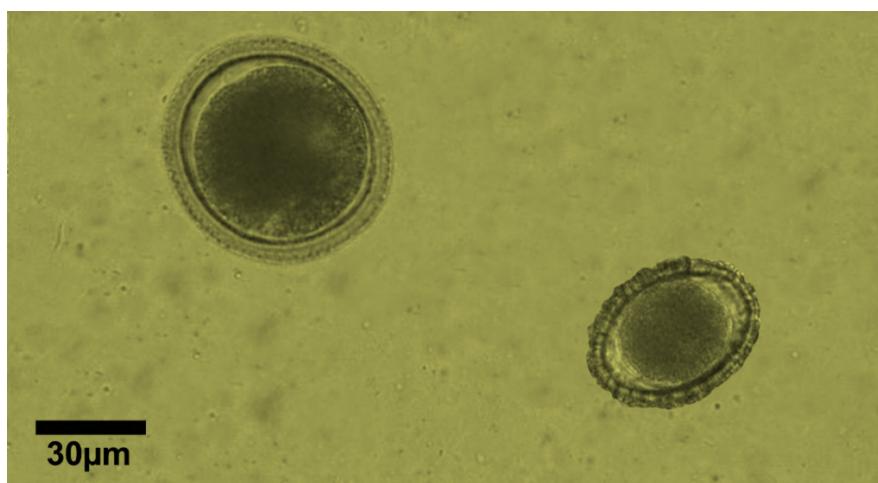


Figura 8 - Comparação de ovo de *Toxocara* spp. (esquerda) e de *Baylisascaris procyonis* (direita). Original.

Também os ovos de *Toxascaris leonina* podem ser mal identificados como *Toxocara* spp. Neste caso, embora o tamanho dos ovos seja semelhante, o embrião unicelular do *Toxascaris leonina* é transparente e a superfície externa da parede do ovo é lisa e estriada, sem o aspeto ondulado dos ovos de *Toxocara* sp. (Figura 9) (Zajac & Conboy, 2012; Bowman, 2014).

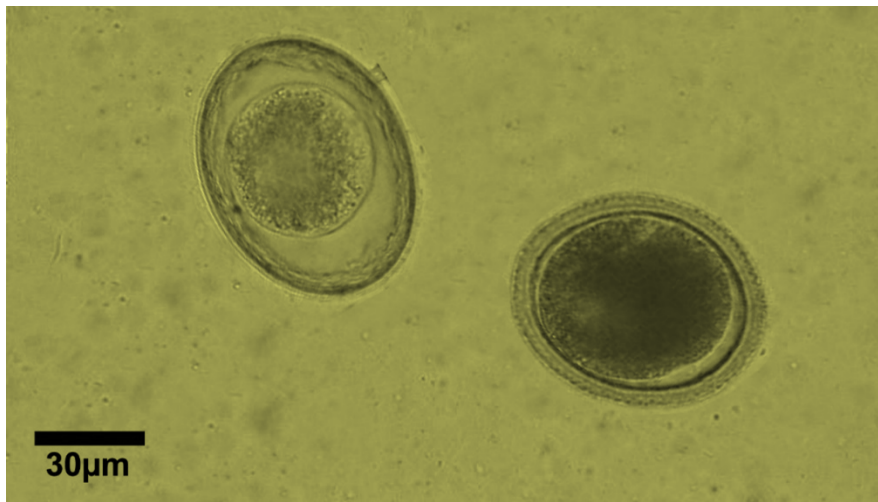


Figura 9 - Comparação entre ovo de *Toxascaris leonina* (esquerda) e de *Toxocara* sp. (direita). Original.

Os adultos de *Toxascaris leonina* também podem ser erradamente identificados como *Toxocara* spp. devido à semelhança no formato e tamanho dos parasitas, possuindo ambos asa cervical. A distinção entre *T. leonina* e *T. cati* é relativamente simples, pois a asa cervical do primeiro é menos pronunciada. A distinção entre *T. leonina* e *T. canis* é mais difícil, sendo a extremidade anterior de ambos os parasitas praticamente idêntico, mesmo no que respeita à asa cervical (Figura 10). O diagnóstico é efetuado tendo em conta que o *Toxocara canis* possui ventrículo e a terminação da cauda dos machos é em forma de dedo, enquanto em *Toxascaris leonina* nenhuma das estruturas existe (Urquhart, Armour, Duncan, Dunn, & Jennings, 1996; Zajac & Conboy, 2012).

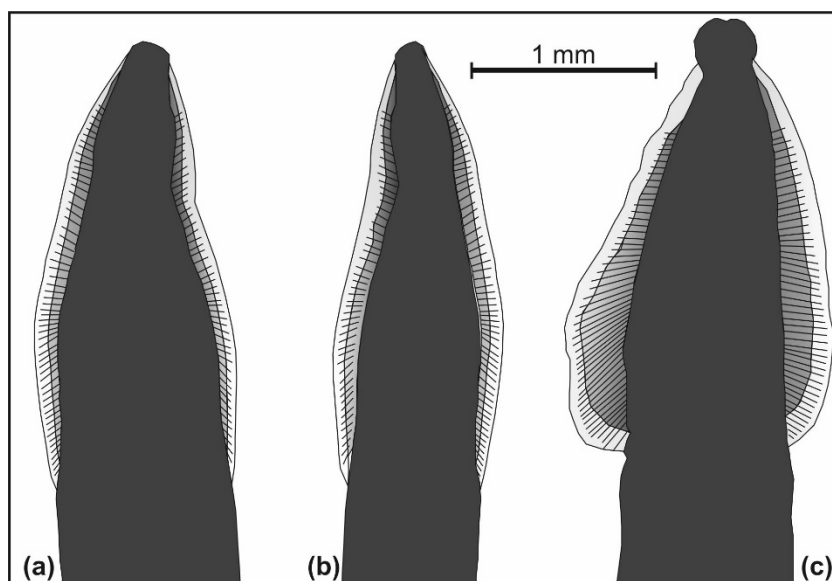


Figura 10 - Pormenor da extremidade anterior de *T. canis* (a), *T. leonina* (b) e *T. cati* (c). Original.

### **3.1.3. Ciclo de Vida e Patologia da Infecção**

#### **3.1.3.1. Ciclo de Vida Geral**

Os parasitas adultos vivem no intestino delgado dos seus hospedeiros definitivos, produzindo uma elevada quantidade de ovos, em média cada fêmea pode eliminar 200.000 ovos por dia, que são expelidos juntamente com as fezes do hospedeiro (Araujo, 1972; Schmidt & Roberts, 2008). Os ovos, com o embrião unicelular, são expelidos nas fezes mas não têm ainda capacidade infetante, demorando 3 a 6 semanas para embrionar e tornar-se infetantes (Overgaauw, 1997b). Os ovos acumulam-se então no ambiente onde, em situações ideais de temperatura, humidade e tensão de oxigénio, iniciam a sua maturação passando a larva L1, depois L2 e por fim L3 (Araujo, 1972; Zajac & Conboy, 2012). Embora haja autores que afirmam que a larva apenas se desenvolve até L2 no ambiente, sendo portanto esta a forma infetante, e que só se transforma em L3 já dentro do hospedeiro quando passa pelos pulmões (Urquhart et al., 1996; Cordero del Campillo & Rojo Vázquez, 2001), vários estudos de microscopia eletrónica demonstraram que as larvas passam por duas mudas antes de se tornarem infetantes, só que a primeira muda rapidamente se degrada, pelo que deixa de ser visível (Araujo, 1972; Uhlikova & Htlbner, 1982; Bruňaská, Dubinský, & Reiterová, 1995).

#### **3.1.3.2. Ciclo de Vida no Cão**

O nemátode *Toxocara canis* é altamente infetante para cachorros e tem altas taxas de infeção pré-natais, sendo comum infeções mesmo em indivíduos provenientes de canis que cumprem todas as regras de higiene e segurança. Os canídeos adultos tendem a desenvolver maiores resistências contra este parasita, sendo a reinfeção rara. Nos juvenis que nunca foram infetados, após ingestão dos ovos, as larvas L3 eclodem no estômago e duodeno do animal 2 a 4 horas após ingestão e invadem a parede intestinal de onde migram, através do sistema porta, para o fígado onde chegam cerca de 24 horas após ingestão. Daí, e através da veia cava caudal, coração e artéria pulmonar chegam aos capilares pulmonares cerca de 12 horas depois. É nos capilares pulmonares que a rota de migração é decidida, sendo influenciada essencialmente por 3 fatores: idade, estado imunológico e número de larvas em migração. As larvas podem então realizar uma de duas rotas: Migração Traqueal, se penetrar os alvéolos pulmonares ou; Migração Somática se permanecer em circulação.

Caso a larva penetre nos alvéolos, realiza uma migração traqueal após aspiração traqueobrônquica, de onde é deglutida passando depois para o esófago e voltando assim ao intestino cerca de 7 a 15 dias depois. Aqui continua o desenvolvimento transformando-se em

larva L4 e L5, sofrendo depois maturação sexual e fixando-se como adulto, macho ou fêmea, que efetuam a cópula, produzindo então as fêmeas novamente ovos que serão expelidos com as fezes e libertados no ambiente, voltando o ciclo a reiniciar-se. Esta migração acontece especialmente em recém-nascidos e juvenis infetados pela primeira vez.

No entanto, aquando da passagem pelos capilares pulmonares, se a larva continuar em circulação, volta ao coração e realiza a partir daí uma migração somática para outros órgãos e tecidos, tais como o fígado, pulmões, cérebro, coração, músculo-esquelético e paredes do sistema digestivo. Nestes locais acaba por enquistar, ainda como larva L3, ficando cativa mas infetante. É o que acontece no caso dos hospedeiros paraténicos ou na grande maioria dos hospedeiros definitivos adultos que já tenham sido previamente infetados. A migração traqueal deixa assim de acontecer com frequência em juvenis a partir dos 3 meses de idade, cessando quase por completo aos 6 meses. A partir de então os canídeos apenas sofrem migração somática, que é a principal razão para a acumulação de larvas infetantes enquistadas em cães adultos e numa enorme variedade de hospedeiros paraténicos, tais como roedores, ovinos, suínos, primatas e Homem.

No entanto, embora na maioria dos animais adultos não se realize migração traqueal, existem indivíduos que o fazem de forma recorrente, mesmo após tratamento com anti-helmínticos específicos, o que justifica a existência de cães adultos infetados por formas adultas do parasita. Estudos demonstram que os cães adultos têm maior probabilidade de ter migração traqueal se ingerirem uma quantidade relativamente pequena de ovos (Araujo, 1972; Urquhart et al., 1996; Overgaauw, 1997b; Holland & Smith, 2006; Strube, Heuer, & Janecek, 2013; Bowman, 2014). Os cães, adultos ou juvenis, podem ainda infetar-se ao consumir hospedeiros paraténicos que possuam larvas L3 de *T. canis* enquistados. Neste caso as larvas não realizam migração somática e na grande maioria das vezes desenvolvem-se no intestino até ao estágio adulto, sem necessidade de realizar migração traqueal (Cordero del Campillo & Rojo Vázquez, 2001; Bowman, 2014).

Do ponto de vista epidemiológico, as larvas infetantes enquistadas mais importantes são as que se encontram nos tecidos das fêmeas de *Canis lupus familiaris*. Caso uma fêmea infetada por larvas encapsuladas fique gestante, as larvas tissulares L3 são ativadas na fase final da gravidez devido às hormonas do hospedeiro, em média no 42º dia de gestação e voltam a entrar na corrente sanguínea por onde são levadas até às placentas e entram na circulação fetal, onde completam a migração traqueal e se alojam no intestino dos fetos. Aqui desenvolvem-se

normalmente em larvas L4, L5 e por último adultos que começam a eliminar ovos poucos dias após o parto (Araujo, 1972). Algumas das larvas mobilizadas na cadela gestante, em vez de migrarem para o útero, completam uma migração traqueal resultando em vermes adultos que eliminam uma grande quantidade de ovos nas semanas seguintes ao parto. Mais ainda, estudos indicam que uma fêmea que seja infetada via migração somática, retém nos seus tecidos larvas suficientes para infetarem todas as ninhadas que tenha ao longo da vida, mesmo que não volte a contactar com o parasita de novo. É por todas estas razões que tantos cachorros nascem já infetados, apesar de a mãe não mostrar sinais de infeção patente (Urquhart et al., 1996).

Outra via possível de infeção para os cachorros, embora de muito menor importância, é a via transmamária ou galactogénica. Após o parto, um pequeno número de larvas enquistadas é reativado, realizando uma migração transmamária (Schmidt & Roberts, 2008; Bowman, 2014). A eliminação de larvas no leite começa imediatamente após o parto e alcança o pico máximo na segunda semana. Neste caso, as larvas L3 não realizam a migração normal, evoluindo até à maturidade sexual diretamente no intestino dos recém-nascidos. O período pré-patente nestes casos é em média de 21 dias (Araujo, 1972).

Podemos assim sintetizar o ciclo de vida do *Toxocara canis* (Figura 11) dizendo que existem 3 formas de infeção possíveis: infeção direta, quer pela ingestão de ovos embrionados do ambiente, quer por consumo de hospedeiros paraténicos infetados com larvas somáticas; infeção pré-natal, através de migração transplacentária e; infeção galactogénica, por consumo de larvas no leite. Independentemente da forma de infeção, esta pode acontecer por duas vias diferentes: migração traqueal, que leva a infeção patente em que o animal possui parasitas adultos no intestino com excreção de ovos; e migração somática, que resulta numa infeção latente, quando o animal possui larvas somáticas enquistadas (Araujo, 1972; Urquhart et al., 1996; Overgaauw, 1997b; Cordero del Campillo & Rojo Vázquez, 2001; Holland & Smith, 2006; Strube et al., 2013; Bowman, 2014).

As infeções pré-natais causam desconforto abdominal severo aos cachorros, fazendo com que estejam constantemente a vocalizar de dor, apresentem o abdómen distendido devido a ascite e adotem uma postura típica nos membros posteriores quando em pé ou andamento, como se coxearassem. É frequente aparecer uma grande quantidade de parasitas adultos e imaturos nas fezes e no vómito. Muitas das vezes esta situação leva à morte dos cachorros por rotura ou obstrução dos intestinos por rolhões de parasitas (Bowman, 2014).

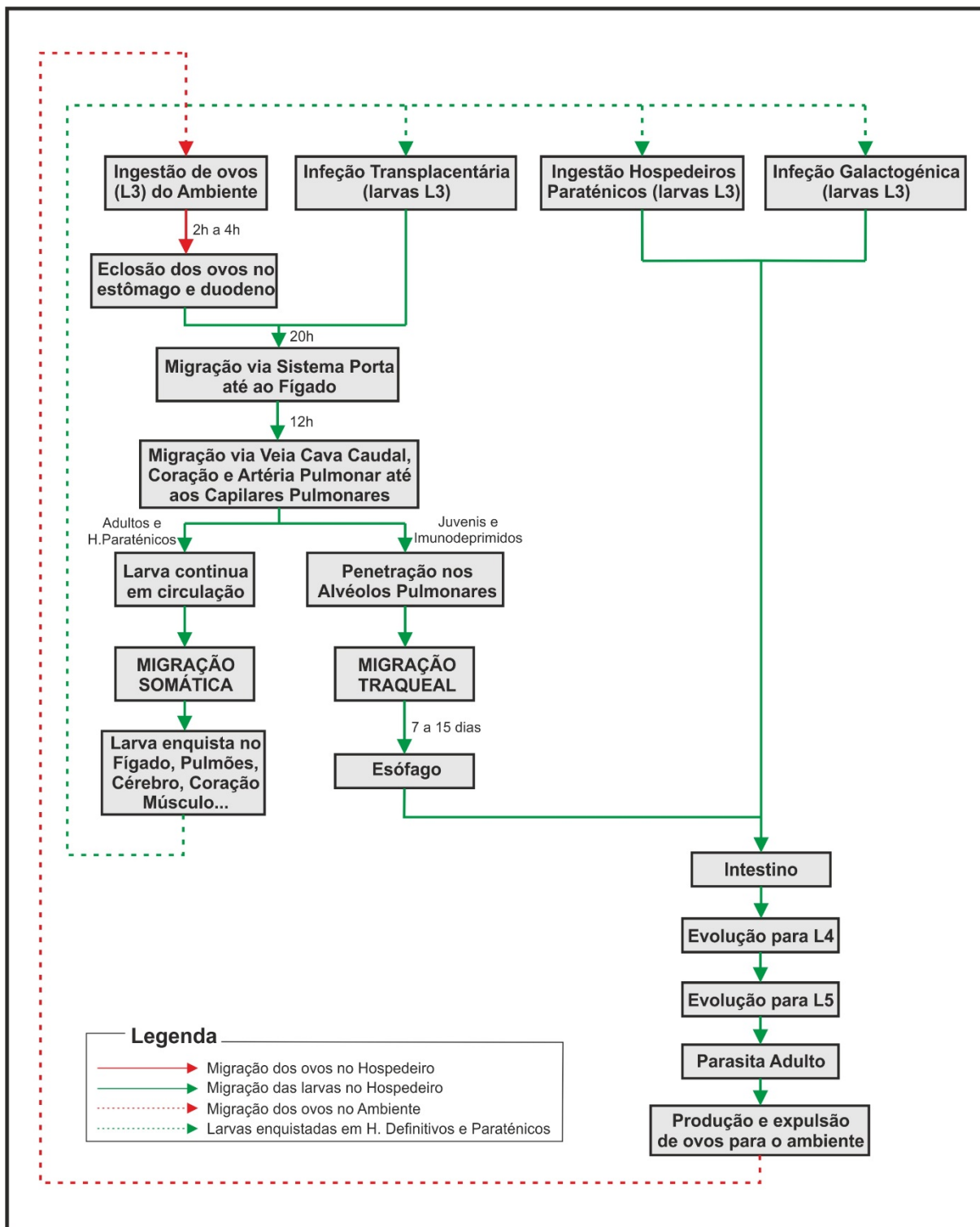


Figura 11 - Ciclo de Vida de *Toxocara canis* baseado em Araujo, 1972; Urquhart et al., 1996; Overgaauw, 1997b; Cordero del Campillo & Rojo Vázquez, 2001; Holland & Smith, 2006; Schmidt & Roberts, 2008; Strube et al., 2013; Bowman, 2014. Original.

### 3.1.3.3. Ciclo de Vida no Gato

Nos gatos a infeção por *Toxocara cati* é em tudo idêntica à infeção por *Toxocara canis* no cão, possuindo no entanto duas grandes diferenças: não existe infeção transplacentária nesta espécie; e a probabilidade de migração traqueal continua muito elevada ao longo da vida do animal, mesmo em gatos que já tenham sido previamente infetados. A transmissão transmamária, que

nos canídeos é de pouca relevância, é considerada a principal forma de infecção dos felinos recém-nascidos (Strube et al., 2013). Sendo os felinos predadores por excelência, infecções por ingestão de roedores e hospedeiros paraténicos são também de extrema importância na perpetuação da doença. Assim como nos cães, nesta situação o parasita nunca realiza migração somática e na maioria das vezes evolui até à maturidade sexual diretamente no intestino, sem necessidade de migração traqueal (Schmidt & Roberts, 2008; Bowman, 2014). Visto não haver infecção transplacentária, os recém-nascidos apenas se infetam via transmamária, na qual o parasita não necessita de efetuar a migração normal, realizando toda a sua evolução diretamente no intestino. Desta forma os recém-nascidos costumam ter apenas as afeções digestivas, mas poucas afeções respiratórias (Urquhart et al., 1996). No entanto, estudos recentes indicam que a curto e médio prazo todos os gatos infetados pós-nascimento por *Toxocara cati*, sejam juvenis ou adultos e independentemente de terem ou não sido posteriormente submetidos a tratamentos antiparasitários, desenvolvem doença pulmonar (Dillon et al., 2013). Quando uma fêmea gestante se infecta com *T. cati*, as larvas apresentam um tropismo bastante elevado para as glândulas mamárias. No entanto, as larvas enquistadas existentes que se reativam durante a gestação raramente realizam migração transmamária (Strube et al., 2013).

O período pré-patente médio em cães aquando ingestão de ovos é de 32 a 39 dias, 21 dias para infeções pré-natais e de 27 a 35 dias para infeções transmamárias. Já em gato é, para todas as situações, cerca de 6 semanas (ESCCAP, 2010). Alguns autores referem tempos ligeiramente diferentes. Em cães desde 6 semanas (Foreyt, 2001) a 2 meses (Bowman, 2014), e para os gatos desde os 50 dias (Foreyt, 2001) a 2 meses (Bowman, 2014). O período patente em cão e gato é de 4 a 6 meses (ESCCAP, 2010).

#### **3.1.3.4. Patologia nos Hospedeiros Definitivos**

Cães recém-nascidos infetados durante a gestação podem morrer dentro de 2 ou 3 dias pós-parto devido a pneumonia associada à migração traqueal das larvas. Juvenis entre as 2 e as 3 semanas podem mostrar sinais de emagrecimento e afeções digestivas causados pelos vermes adultos no intestino. Ao exame clínico pode observar-se diarreia, constipação, vômito, tosse, descargas nasais e distensão abdominal. Pode ainda acontecer morte dos juvenis devido a obstrução ou rotura intestinal devido a rolhões de parasitas, ou por obstrução da vesícula biliar, ducto biliar ou ducto pancreático (Overgaauw, 1997b). Como nos gatos não há infecção transplacentária, os recém-nascidos não têm quaisquer sinais clínicos da doença. Os primeiros vermes adultos aparecem após o 28º dia pós-parto e a produção de ovos após o 49º dia. Como os gatos juvenis são mais velhos do que os cães quando os vermes começam a sua maturação,

embora todos os sinais clínicos listados para os cães possam ocorrer, são em regra mais reduzidos e acontecem em idades superiores (Overgaaauw, 1997b), e em muitos casos não há de todo sinais de doença clínica, mesmo em gatos infetados (Dillon et al., 2013)

Em animais adultos, infeções moderadas não costumam apresentar sinais clínicos, com a fase de migração somática a não produzir qualquer dano aparente nos tecidos, e os vermes adultos a provocar pouca reação no intestino. Em grandes infeções, a fase de migração pulmonar está associada a pneumonia, por vezes acompanhada de edema pulmonar, e os vermes adultos podem causar enterites mucosas, oclusão parcial ou total do intestino e em casos raros perfuração do mesmo e conseqüente peritonite ou então bloqueio dos ductos biliares (Urquhart et al., 1996). Nos gatos adultos pode ainda aparecer distensão abdominal, pelo baço e áspero e casos de desidratação devido à diarreia (Overgaaauw, 1997b), assim como patologia pulmonar, mesmo que sem quadro clínico (Dillon et al., 2013)

### **3.1.3.5. Ciclo de Vida Hospedeiros Paraténicos**

As larvas destes parasitas infetam muitos outros animais além dos hospedeiros definitivos, nos quais embora não consigam terminar o seu ciclo de vida, podem permanecer vivas por muitos meses ou anos, e ser causadoras de doença. Estes hospedeiros paraténicos (HP), embora não contribuam diretamente para o aumento do número de ovos no ambiente, ao serem consumidos por hospedeiros definitivos contribuem para a perpetuação da infeção. Dada a característica acumuladora e amplificadora dos HP, o seu consumo por hospedeiros definitivos é acompanhada de ingestão de uma elevada dose larvar infetante. A infeção dos HP, incluindo o Homem, é idêntica à migração somática já explicada para os hospedeiros definitivos. No entanto, a distribuição das larvas nos órgãos e tecidos depende em muito da espécie do HP, embora estas apareçam em, virtualmente, qualquer órgão e tecido. Nestes as larvas formam uma cápsula onde podem permanecer viáveis até 10 anos. No entanto também há transmissão vertical nos hospedeiros paraténicos. Embora não haja provas de transmissão transplacentária, com exceção de alguns estudos laboratoriais em que ratos fêmea foram infetados durante a gestação, a transmissão transmamária acontece com bastante frequência em HP infetados quer com *T. canis* quer *T. cati*. Virtualmente todos os mamíferos podem ser hospedeiros paraténicos deste parasita, incluindo o Homem e outros primatas, suínos e roedores urbanos tais como o rato-doméstico (*Mus musculus*) e ratazana (*Rattus spp.*). Embora com menos sucesso, também as aves são hospedeiros paraténicos, incluindo Galiformes e Columbiformes (Antolová, Reiterová, Miterpáková, Stanko, & Dubinský, 2004; Strube et al., 2013).

### 3.1.3.6. Migração e Patologia em Humanos

Nos humanos, as infecções por *Toxocara* spp. são genericamente nomeadas de Toxocarose e podem causar um de quatro quadros possíveis: síndrome da Larva Migrante Visceral (LMV), síndrome da Larva Migrante Ocular (LMO), síndrome da Larva Migrante Neurológica (LMN) e Toxocarose Dissimulada (Magnaval, Glickman, Dorchies, & Morassin, 2001). Nos casos de LMV e dependendo do tecido invadido, número de larvas em migração, idade e imunocompetência do indivíduo afetado, uma miríade de sinais clínicos com diversos graus de severidade podem ser induzidos por este parasita, tais como asma brônquica, artrite reumatoide, epilepsia, miocardite, mialgia, nefrite e afeções cutâneas (Hakim, Thadasavanth, Shamilah, & Yogeswari, 1997; Auer & Aspöck, 2004; Holland & Smith, 2006). Alguns casos de doença hepática já foram reportados como sendo consequência direta de LMV (Leone et al., 2006; Chandrashekhara, Sharma, Bagh, & Garg, 2010). Os exames laboratoriais podem revelar leucocitose, eosinofilia persistente, assim como hipergamaglobulinemia e uma titulação elevada de  $\gamma$ GT (Strube et al., 2013). O aumento de casos clínicos que relacionam quadros de epilepsia com LMV é preocupante e deve ser profundamente estudado (Nicoletti et al., 2002; Akyol, Bicerol, Ertug, Ertabaklar, & Kiylioglu, 2007), embora alguns autores descartem esta hipótese (Akyol et al., 2007). A resposta imune aos quadros de LMV apresenta-se como uma inflamação generalizada e evidenciada por forte eosinofilia, ativação das citocinas Th2 e elevada titulação de anticorpos anti-*Toxocara*. No entanto, o quadro inflamatório é pouco efetivo contra as larvas que facilmente conseguem chegar aos tecidos e só aí encapsulam. É também a encapsulação na profundidade dos músculos e órgãos que as faz inacessíveis aos tratamentos anti-helmínticos (Holland & Smith, 2006; Fan, Liao, & Cheng, 2013).

Nos casos de LMO, o sistema imunitário combate a larva ocular criando um abscesso eosinofílico após o qual uma reação inflamatória granulomatosa envolve a larva. Esta resposta origina por vezes estrabismo, descolamento da retina, cataratas, endoftalmite e uveíte, que podem então evoluir para cegueira ou glaucoma secundário (Strube et al., 2013). É bastante raro o diagnóstico de LMN em humanos, pelo que são poucos os casos registados. Na grande maioria, não há qualquer sinal clínico ligado ao sistema nervoso central. No entanto, foram reportados casos raros de pacientes com meningite eosinofílica, encefalite e mielite (Strube et al., 2013). Toxocarose Dissimulada é o termo usado nos casos de síndrome clínico não específico, causado por *Toxocara* spp., e que não entra dentro da definição de LMV, LMO ou LMN. Apresenta muitas vezes sintomas não específicos, tais como febre, anorexia, náuseas, cefaleias, dor abdominal ou dos membros, vômito, desordens comportamentais e do sono, faringite, pneumonia, tosse, sibilos e linfadenite cervical (Magnaval et al., 2001).

O tropismo, de razões desconhecidas até à data, que estas larvas têm para infetar os fetos de canídeos no útero e para migrarem para o olho e sistema neurológico em humanos são os principais fatores que levam este parasita a ser um grave problema de Saúde Pública (Holland & Smith, 2006).

### 3.1.3.7. Patologia nos Hospedeiros Paraténicos

Nos hospedeiros paraténicos a síndrome da LMV provoca sinais clínicos pulmonares, febre, hepatomegalia e eosinofilia, sendo que a extensão dos danos está diretamente relacionada com o número de larvas e sua localização final (Holland & Smith, 2006). Nos animais com elevada quantidade de larvas no cérebro, ocorrem sinais clínicos neurológicos frequentes e morte. No entanto, a esmagadora maioria das infeções são leves com sinais clínicos reduzidos ou ausentes. Embora o órgão mais atacado pelas larvas seja o fígado, é comum afetarem outros órgãos como o pulmão, rins, músculo, sistema nervoso e também o olho, onde causam inflamação crónica da câmara anterior e retina ou granulomas da retina, o que leva à cegueira desse olho. Geralmente, a LMO é resultado da invasão de uma única larva. Aliás, como regra geral, a síndrome da LMV é tão mais grave, quanto menor o número de larvas presentes na infeção. Este facto deve-se provavelmente ao facto de grandes invasões estimularem uma resposta imunitária muito mais forte, enquanto pequenas infeções podem passar quase despercebidas ao sistema imunitário, dando mais tempo às larvas para causarem danos (Schmidt & Roberts, 2008; Dutra et al., 2014). Embora a grande maioria das infeções nos humanos se assuma ser por *T. canis*, não há estudos que o comprovem. *Toxocara canis* e *Toxocara cati* partilham frações antigénicas iguais, que poderão levar os testes a, erradamente, considerarem qualquer infeção como sendo de *T. canis*. Além do mais, infeções realizadas experimentalmente em modelos animais demonstraram que ambas as espécies têm comportamentos semelhantes após eclosão dos ovos. Portanto deve-se considerar idêntico o risco zoonótico para ambas as espécies (Fisher, 2003; Cardillo, Rosa, Ribicich, López, & Sommerfelt, 2009).

Não esquecer que não só o Homem e os pequenos mamíferos urbanos sofrem de LMV. Gatos infetados com *T. canis* desenvolvem eosinofilia elevada, múltiplos granulomas eosinofílicos nos rins e fígado e hipertrofia medial severa dos vasos pulmonares (Parsons, Bowman, Gillette, & Grieve, 1988). Em porcos, infeções com *T. canis* podem levar à Doença dos Pontos Brancos, similar à causada por *Ascaris suum* (Bowman, 2014). Outros animais, como ovelhas e até tartarugas, também podem ser infetados por esta doença (Parsons, Bowman, & Grieve, 1989).

### **3.1.4. Epidemiologia**

O género *Toxocara* possui parasitas bastante antigos, pelo menos em carnívoros. Ovos de *Toxocara canis* datados de há 300.000-500.000 anos foram recolhidos de uma gruta em França (Bouchet et al., 2003). Ovos de *Toxocara cati* foram encontrados em coprólitos com 9.000 anos, originários do nordeste do Brasil (Sianto et al., 2014). Nas últimas décadas, diversos estudos têm documentado elevadas taxas de infeção por *Toxocara* spp. bem como um aumento da sua distribuição a nível mundial. Por existirem inúmeros trabalhos, foi decidido reportar todos os estudos efetuados em Portugal, mas apenas os mais significantes e com uma metodologia semelhante à do atual estudo para os trabalhos internacionais.

#### **3.1.4.1. Contaminação ambiental**

Os cães e gatos infetados por *Toxocara* spp., ao defecarem no solo espalham milhares de ovos que, nas condições certas, irão desenvolver-se e tornar-se infetantes para todos os mamíferos que os ingerirem, incluindo o Homem. As crianças, pelos comportamentos típicos da idade, são especialmente suscetíveis, risco esse que tem vindo a aumentar nas cidades desenvolvidas pois os parques onde os cães são passeados são os mesmos parques onde as crianças brincam (Schmidt & Roberts, 2008). Estudos recentes têm demonstrado que também a população de raposas, não só nas zonas rurais mas também nas urbanas, é responsável a par dos cães e gatos pela contaminação ambiental e perpetuação deste parasita (Antolová et al., 2004; Reperant et al., 2007; Deplazes, van Knapen, Schweiger, & Overgaauw, 2011). Na Holanda foi reportada uma contribuição média das raposas para a contaminação ambiental por *Toxocara* spp. de 15% (Nijse, Mughini-Gras, Wagenaar, Franssen, & Ploeger, 2015), enquanto que na cidade de Bristol, Reino Unido, 30,8% das raposas urbanas deram positivo para *Toxocara* spp. (Morgan, Azam, & Pegler, 2013). Mais ainda, os ovos de *Toxocara* spp. possuem uma grande resistência e longevidade, podendo sobreviver nos solos durante vários anos (Overgaauw, 1997b).

Estudos apontam os gatos como principais responsáveis pela contaminação fecal das caixas de areia de parques infantis, geralmente durante o período noturno, e os cães como principais responsáveis pela contaminação fecal dos parques e jardins públicos (Overgaauw, 1997b). Num estudo de 2014 no Irão, após análise PCR, concluiu-se que as amostras de solo infetadas com *Toxocara cati* eram 6 vezes superiores às amostras infetadas com *Toxocara canis* (Khademvatan et al., 2014). Estudos semelhantes apontam ainda uma distribuição uniforme das fezes pelas caixas de areia, sugerindo que os gatos evitam as zonas já contaminadas, disseminando ainda mais os ovos (Uga, Minami, & Nagata, 1996; Bowman, 2014). Estudos realizados por todo o mundo nas últimas décadas têm reportado contaminação ambiental dos

parques públicos, jardins e especialmente das caixas de areia dos parques infantis, com ovos de *Toxocara* spp. As taxas de contaminação são elevadas, principalmente em ambientes urbanos e suburbanos, sendo os resultados semelhantes, independente do continente ou desenvolvimento do país. (Dunsmore, Thompson, & Bates, 1984; Uga, 1993; Uga et al., 1996; Loh & Israf, 1998; Antolová et al., 2004; Dubná, Langrová, Jankovská, et al., 2007; Dado et al., 2012; Bowman, 2014; Sprenger, Green, & Molento, 2014).

Em 1993, das 13 caixas de areia em parques públicos analisadas numa prefeitura do Japão, 12 continham ovos de *Toxocara* spp. assim como 93% das amostras de solo recolhidas. De ressaltar que 63% de todos os ovos recuperados estavam embrionados (Uga, 1993). Em 2000 na cidade de Santiago, Chile, um estudo analisou amostras fecais de 84 praças e 12 parques. Ovos foram identificados em 13,5% das amostras recolhidas, o que resultou em 33,3% das praças e 66,7% dos parques positivos para *Toxocara canis* (Castillo et al., 2000). Em 2005, 8% das 107 caixas de areia analisadas no Japão continham ovos de *Toxocara* spp. e em todos os casos os ovos encontravam-se uniformemente distribuídos pela área da caixa de areia (Matsuo & Nakashio, 2005). Em 2007, na cidade de Praga, República Checa, um estudo reportou que 45% dos quintais analisados, todos habitados por gatos, deram positivo para ovos de *Toxocara* spp., assim como 20,4% dos parques públicos, 11,9% dos parques infantis com caixa de areia, 10% dos quintais de canis e 5% dos terrenos rurais analisados. Dos ovos recolhidos um total de 46,9% estava embrionado (Dubná, Langrová, Jankovská, et al., 2007). Em 2008 na Polónia, um estudo analisou o solo dos quintais e parques públicos adjacentes às habitações de 194 crianças diagnosticadas com Toxocarose, reportando prevalências nas zonas rurais de 29,3% nos quintais das habitações, e nas zonas urbanas de 26,4% nos quintais das habitações, 25,0% nos jardins familiares e 10,7% nos parques infantis públicos com caixa de areia (Gawor, Borecka, Zarnowska, Marczyńska, & Dobosz, 2008). Um estudo de 2013 na Polónia analisou 22 parques infantis com caixas de areia, dos quais 18 deram positivo para ovos de *Toxocara* spp. 65,2% dos ovos foram encontrados na camada superficial do terreno (0-3 cm de profundidade), enquanto o resto foi encontrado a cerca de 15cm. O estudo fez as mesmas análises aos mesmos locais mas em duas épocas diferentes (Nov-Dez e Abr-Mai) e não descobriu nenhuma diferença significativa entre a quantidade de ovos recuperados nas duas épocas (Blaszkowska, Wojcik, Kurnatowski, & Szwabe, 2013). Um estudo de 2014 na cidade de Curitiba, Brasil, analisou o solo de 69 caixas de areia localizadas em parques públicos e praças, sendo que 35 foi positiva a ovos de *Toxocara* spp. Os autores encontraram ainda uma correlação positiva entre o número de animais avistados no local das recolhas e a contaminação do solo (Sprenger et al., 2014).

Os resultados às análises de solo tornam-se ainda mais importantes quando postos em perspectiva com análises realizadas a amostras fecais recolhidas nos mesmos locais. Em 1988, em Ilinois, EUA, amostras de solo e amostras fecais de 23 parques públicos foram analisados para ovos de *Toxocara* spp., reportando 22% das amostras de solo e 5% das amostras fecais positivos (Paul, Todd, & Dipietro, 1988). Em 2008 um estudo na Venezuela reportou, para os mesmos locais, 55% das amostras de solo e 16,7% das amostras fecais positivas para ovos de *Toxocara* spp. (Devera, Blanco, Hernández, & Simoes, 2008). Em 2012, um estudo analisou 625 amostras de solo e 79 amostras fecais de 67 parques públicos de Madrid, Espanha. No global, 11 parques e 16,4% das amostras de solo deram positivo para ovos de *Toxocara* spp., no entanto nenhuma das amostras fecais evidenciou ovos deste parasita (Dado et al., 2012).

Em Portugal apenas existe registo de um estudo de pesquisa de ovos de *Toxocara* spp. em solo, realizado em 2006 no conselho de Seixal. O estudo reportou um total de 40,4% dos parques estudados, 10,8% das amostras de solo recolhidas e 1,3% das amostras fecais, positivos para ovos deste parasita (Fernandes, 2006). O resumo destes dados encontra-se listado na Tabela 2.

**Tabela 2 – Resumo da Epidemiologia no mundo, e comparação da prevalência entre amostras de solo e fecais.**

<b>Local</b>	<b>Ano</b>	<b>Amostras de Solo Positivas</b>	<b>Amostras Fecais Positivas</b>	<b>Referência</b>
<b>EUA</b>	1988	22%	5%	(Paul et al., 1988)
<b>Japão</b>	1993	93%	n/a	(Uga, 1993)
<b>Chile</b>	1999	13,5%	n/a	(Castillo et al., 2000)
<b>Japão</b>	2005	8%	n/a	(Matsuo & Nakashio, 2005)
<b>Portugal</b>	2006	10,8%	1,3%	(Fernandes, 2006)
<b>R. Checa</b>	2007	5% - 45%	n/a	(Dubná, Langrová, Jankovská, et al., 2007)
<b>Polónia</b>	2008	10,7% - 29,3%	n/a	(Gawor et al., 2008)
<b>Venezuela</b>	2008	55%	16,7%	(Devera et al., 2008)
<b>Espanha</b>	2012	16,4%	0,0%	(Dado et al., 2012)

Não só os solos urbanos são propensos a contaminação por este parasita. Autores reportam que também os solos agrícolas podem ser contaminados, em grande parte devido à contaminação da própria água usada na rega. Em 2010 em Trípoli, Líbia, dos 126 legumes analisados, todos recolhidos nos mercados da cidade, 26% deram positivo a ovos de *Toxocara cati* enquanto 18% deram positivo para *Toxocara canis* (Abougrain, Nahaisi, Madi, Saied, & Ghenghesh, 2010). Um estudo de 2012 em Zária, Nigéria, reportou que 48,3% dos vegetais analisados deram positivo a ovos de *Toxocara* spp., sendo este o parasita com maior prevalência em todo o estudo

(Maikai, Elisha, & Baba-Onoja, 2012). No mesmo ano um estudo em Alexandria, Egípto, reportou uma prevalência de 19% para ovos de *Toxocara* spp. em vegetais e legumes crus adquiridos nos mercados locais (El Said Said, 2012). Também em 2012 no Irão, foi reportada uma prevalência de 3,3% para vegetais não lavados, não sendo encontrados quaisquer ovos nos mesmos vegetais lavados (Fallah, Pirali-Kheirabadi, Shirvani, & Saei-Dehkordi, 2012). Já em 2013, na Turquia, um estudo reportou uma prevalência de ovos de *Toxocara* spp. em 2,7% dos legumes e vegetais analisados (Adanir & Tasci, 2013). No mesmo país em 2005 a prevalência relatada foi de 1,5% (Kozan, Gonenc, Sarimehmetoglu, & Aycicek, 2005). Estes dois trabalhos parecem denotar que na Turquia houve um aumento para quase o dobro de vegetais contaminados, do trabalho mais antigo para o mais recente.

A poluição do solo por ovos de *Toxocara* é considerada por alguns autores como, potencialmente, a maior e mais problemática infecção parasitária do ambiente em países desenvolvidos (Bowman, 2014).

### **3.1.4.2. Epidemiologia nos hospedeiros definitivos**

#### **3.1.4.2.1. Em Portugal**

Entre 1940 e 1980 foram realizados alguns trabalhos na zona de Lisboa, com prevalências entre os 7% e os 93% para *Toxocara canis* (Arandas Rego, 1980; Vieira, 1981; Carvalho-Varela, 1991). De 1994 até 2004 o Serviço de Patologia das Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa reportou um número constante de análises positivas para *Toxocara canis* (cerca de 3%), e um decréscimo de *Toxocara cati* de 7,8% para 3,3% (Carvalho-Varela et al., 1996; Madeira de Carvalho, Pereira da Fonseca, et al., 2005). Em 2000 um estudo efetuado nas cidades de Almeirim e Cartaxo recolheu 576 amostras fecais de parques e jardins públicos. Um total de 3,82% das amostras (n=22) demonstrou ser positivo a *Toxocara* spp. (Crespo & Jorge, 2000). Em 2005 um estudo sobre os canídeos do canil municipal de Coimbra reportou 24% de amostras positivas para *Toxocara* spp. (n=260) e 67% dos animais necropsiados infetados por este parasita (Martins et al., 2005). No mesmo ano, um estudo coprológico em 44 gatos errantes da área da Grande Lisboa, detetou ovos de *Toxocara cati* em 13,6% dos animais (Vaz et al., 2005). Um estudo de 2006 no conselho de Alcobaça analisou 546 amostras fecais de canídeos. Destas, 164 (30,0%) deram positivo para ovos de *Toxocara* spp. (Rosa, Crespo, & Castro, 2006) Em 2009 um relatório de atividades de monitorização das amostras fecais de canídeos em Lisboa reporta uma prevalência de *Toxocara canis* em 50% dos locais em estudo (Madeira de Carvalho, 2009) e em 2010 um estudo realizado à população de gatos errantes da área metropolitana de Lisboa identificou 10,8% das amostras positivas a *Toxocara cati* (Duarte et al., 2010). No mesmo ano, um estudo no norte do país reportou

prevalências de 7,3% em lobo-ibérico (*Canis lupus signatus*), 24,7% em raposa-vermelha (*Vulpes vulpes silacea*) e 10,3% no cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) (Silva, 2010). Num estudo semelhante de 2012 as prevalências reportadas foram de 11,8%, 12,1% e 0,0% em lobo, raposa e cão, respetivamente (Guerra, 2012). Em 2011, um estudo efetuado em cães de canis da cidade de Lisboa reporta uma prevalência de 2,8% dos animais parasitados por *Toxocara canis* (Lebre, 2011). Também em 2011, um estudo com 126 cães e 22 gatos de canis/gatis e clínicas veterinárias do distrito de Évora, reportou uma prevalência de 1,3% em cães e 10,0% em gatos, para ovos de *T. canis* e *T. cati*, respetivamente (Ferreira et al., 2011). Já em 2014, um estudo analisou 175 cães sem sinais clínicos e 193 cães com sinais de doença gastrointestinal, todos admitidos num Hospital Veterinário da zona do Grande Porto. Do primeiro grupo 5,1% deram positivo para ovos de *Toxocara canis* após exame coprológico, enquanto no segundo grupo a prevalência foi de 7,8% (Neves, Lobo, Simões, & Cardoso, 2014). No mesmo ano um estudo a cães do município de Ponte de Lima avaliou amostras fecais de três grupos distintos: cães urbanos, cães de quinta, e cães de caça. Ovos de *Toxocara* spp. foram encontrados em 7,43%, 11,28% e 10,89% das amostras do primeiro, segundo e terceiro grupos, respetivamente (Mateus, Castro, Ribeiro, & Vieira-Pinto, 2014). Estes dados encontram-se resumidos e agrupados na Tabela 3.

**Tabela 3 - Resumo da Epidemiologia em Portugal.**

<b>Local</b>	<b>Ano</b>	<b>Amostras Positivas</b>	<b>Referência</b>
<b>Lisboa</b>	1940-1980	7% - 93%	(Arandas Rego, 1980; Vieira, 1981; Carvalho-Varela, 1991)
<b>Lisboa</b>	1994-2004	3% - 7,8%	(Carvalho-Varela et al., 1996; Madeira de Carvalho, Pereira da Fonseca, et al., 2005)
<b>Almeirim e Cartaxo</b>	2000	3,82%	(Crespo & Jorge, 2000)
<b>Coimbra</b>	2005	24%	(Martins et al., 2005)
<b>Lisboa</b>	2005	13,6% (dos animais)	(Vaz et al., 2005)
<b>Alcobaça</b>	2006	30,0%	(Rosa et al., 2006)
<b>Lisboa</b>	2009	50% (dos locais)	(Madeira de Carvalho, 2009)
<b>Lisboa</b>	2010	10,8%	(Duarte et al., 2010)
<b>Norte</b>	2010	7,3% - 24,7%	(Silva, 2010)
<b>Lisboa</b>	2011	2,8% (dos animais)	(Lebre, 2011)
<b>Évora</b>	2011	1,3% - 10,0%	(Ferreira et al., 2011)
<b>Norte</b>	2012	0,0% - 12,1%	(Guerra, 2012)
<b>Porto</b>	2014	5,1% - 7,8%	(Neves et al., 2014)
<b>P<sup>te</sup> Lima</b>	2014	7,43% - 11,28%	(Mateus et al., 2014)

#### 3.1.4.2.2. No Mundo

Em 1998 um relatório sobre 58 gatos errantes do Vale do Ebro, em Espanha, indicou uma prevalência de 55,2% de *Toxocara cati* (Calvete et al., 1998). Um estudo de 2003 em Buenos Aires, Argentina, analisou vários cães de dois bairros diferentes, um de classe socioeconómica média e outro de classe socioeconómica baixa, para presença de ovos de *Toxocara canis* nas fezes, e ainda para anticorpos anti-*Toxocara canis* em amostras de sangue. Foi reportando, para o bairro de classe média e para o bairro de classe baixa, respetivamente, uma prevalência de ovos de 9% e 19% e uma seroprevalência de 22% e 40% dos animais (Rubel, Zunino, Santillán, & Wisnivesky, 2003; Rubel & Wisnivesky, 2005).

No mesmo ano na Cidade do México, México, um estudo analisou 502 gatos com proprietário e reportou uma prevalência de ovos de *T. cati* nas fezes em 42,5% (Martínez-Barbabosa, Vázquez Tsuji, Romero Cabello, Gutiérrez Cárdenas, & Chasin, 2003). Em 2006 em Buenos Aires, Argentina, um relatório reportou 36% de 465 gatos errantes positivos para ovos de *Toxocara cati* ao exame coprológico (Sommerfelt et al., 2006). Num estudo de 2007 em Córdoba, Espanha, amostras fecais de 1800 cães foram analisadas para a presença de parasitas intestinais, tendo sido reportado 17,72% de casos positivos para ovos de *Toxocara canis* (Martínez-Moreno et al., 2007). Num estudo semelhante em Marche, Itália, foram analisados 295 cães de zonas urbanas e rurais, sendo que 48,4% dos cães de zonas rurais e 26,2% dos cães de zonas urbanas deram positivo para ovos de *Toxocara canis*. A maior prevalência foi em cães de caça rurais e a menor prevalência em cães de companhia urbanos (Habluetzel et al., 2003).

Num estudo de 2007 em Praga, República Checa, foi reportado uma prevalência de 6,2% de cães provenientes de canis e zonas rurais parasitados com *Toxocara canis* (Dubná, Langrová, Nápravník, et al., 2007). Em 2008 no Irão, um estudo em cães errantes reportou que 40,7% dos adultos e 82,6% dos juvenis se encontravam parasitados com *Toxocara canis* (Daryani et al., 2008). Em 2013, um estudo analisou 239 cães e 81 gatos com proprietário na zona central de Itália em que 13,0% dos cães e 22,2% dos gatos encontravam-se parasitados com *Toxocara canis* e *Toxocara cati*, respetivamente (Riggio, Mannella, Ariti, & Perrucci, 2013).

Mas não só os animais domésticos estão parasitados. Um estudo de 2011 analisou amostras fecais de 66 linceas (*Lynx pardinus*) em liberdade na zona de Andaluzia, Espanha. Destes, 19,7% (13) estavam parasitados por *Toxocara* spp. (Acosta, León-Quinto, Bornay-Llinares, Simón, & Esteban, 2011). O resumo destes dados encontra-se agrupado na Tabela 4.

**Tabela 4 - Resumo da Epidemiologia no Mundo.**

<b>País</b>	<b>Ano</b>	<b>Amostras Positivas</b>	<b>Referência</b>
<b>Espanha</b>	1998	55,2%	(Calvete et al., 1998)
<b>México</b>	2003	42,5%	(Martínez-Barbabosa et al., 2003)
<b>Argentina</b>	2003	9% - 19%	(Rubel et al., 2003)
<b>Itália</b>	2003	26,2% - 48,4%	(Habluetzel et al., 2003)
<b>Argentina</b>	2006	36%	(Sommerfelt et al., 2006)
<b>Espanha</b>	2007	17,72%	(Martínez-Moreno et al., 2007)
<b>R. Checa</b>	2007	6,2%	(Dubná, Langrová, Nápravník, et al., 2007)
<b>Irão</b>	2008	40,7% - 82,6%	(Daryani et al., 2008)
<b>Espanha</b>	2011	19,7%	(Acosta et al., 2011)
<b>Itália</b>	2013	13,0% - 22,2%	(Riggio et al., 2013)

#### 3.1.4.2.3. Contaminação do pelo de animais domésticos

Estudos demonstram também que é comum os cães e gatos albergarem ovos de *Toxocara* spp. no pelo. Um estudo de 2007 em Dublin, Irlanda analisou 100 cães errantes para a presença de ovos de *Toxocara* spp. no pelo e fezes. No total, 67% dos animais foi positivo para o pelo e apenas 39% foi positivo nas amostras fecais, com os juvenis a estarem mais parasitados do que os adultos (Roddie, Stafford, Holland, & Wolfe, 2008). Em 2008 na Turquia, um estudo reportou 21,6% dos cães estudados positivos para ovos no pelo. Dos 62 ovos recolhidos apenas 5 se encontravam embrionados (Aydenizöz-Özkayhan, Yağci, & Erat, 2008). Em 2010, no Brasil, 24% dos cães testados deram positivo a ovos no pelo, com uma média de 614,8 ovos por grama de pelo, e 99% dos ovos pertencendo a animais jovens (Amaral et al., 2010). Nesse mesmo ano em Dublin, Irlanda, 184 cães foram analisados para ovos de *Toxocara canis*, dos quais 8,8% deram positivo (Keegan & Holland, 2010). Em 2011 no Egipto foi reportado uma prevalência de ovos no pelo de 26,6% dos cães errantes analisados e em 10,7% dos cães com proprietário (El-Tras, Holt, & Tayel, 2011). Um estudo semelhante de 2014 em Ancara, Turquia, realizado a 100 cães e 100 gatos não errantes, encontrou ovos de *Toxocara* spp. no pelo de 14% dos cães e 22% dos gatos. No entanto desses mesmos cães e gatos, apenas 5% e 13% respetivamente deram positivo a ovos nas amostras fecais (Öge, Öge, Özbakiş, & Gürcan, 2014).

Apesar dos achados significativos, a conclusão de muitos estudos é que o perigo de infeção através desta via é extremamente reduzido pois a quantidade de ovos embrionados encontrados

é inexistente ou muito reduzida (Overgaauw et al., 2009; Öge et al., 2014). Um estudo de 2013 analisou o desenvolvimento de ovos de *Toxocara canis* no pelo de cão e determinou que embora a possibilidade de infecção humana por esta via seja muito reduzida, não deve ser de forma alguma ignorada (Keegan & Holland, 2013).

#### 3.1.4.2.4. Infecções cruzadas

Um estudo com 35 cães e 36 gatos, todos positivos a *Toxocara* spp. após diagnóstico realizado por visualização dos ovos ao microscópio após análise coprológica, analisou esses mesmos ovos através de PCR e reportou que 31,5% dos ovos encontrados nos cães eram de *Toxocara cati* e 68,5% de *Toxocara canis*, enquanto a totalidade dos ovos encontrados nos gatos eram apenas de *Toxocara cati*. Estes resultados, embora surpreendentes, são sugestivos de coprofagia dos cães em relação a fezes de gatos positivos a *T. cati*, estando os ovos encontrados apenas de passagem pelo intestino, levantando assim fortes suspeitas de que os cães podem funcionar como hospedeiro de transporte para os ovos dos ascarídeos do gato (Fahrion et al., 2011).

#### 3.1.4.3. Toxocarose em humanos

Devido à distribuição generalizada e elevada concentração de animais de estimação, principalmente nas cidades, mas também em ambientes não urbanos, o ser humano entra constantemente em contacto com as fezes de canídeos e felídeos. A infecção por este parasita ocorre então por via oral, ao ingerir ovos embrionados quer através de solo contaminado, quer através de vegetais não cozinhados ou ainda de mãos não higienizadas. Pode ainda ocorrer infecção através da ingestão de larvas livres existentes em órgãos e tecido muscular de hospedeiros paraténicos, tais como aves, bovinos e ovinos, consumidos sem serem devidamente cozinhados (Overgaauw, 1997a).

Um estudo de 1988 no Canadá, realizado a 973 crianças e jovens entre 1 e 15 anos de idade e utilizando o método ELISA, reportou uma seroprevalência de 17,0% para anticorpos anti-*Toxocara* (Embil et al., 1988). Nos EUA, a maioria dos estudos dão conta de valores semelhantes. Um estudo de 2007 a 20.395 indivíduos revelou uma seroprevalência de 13,9% utilizando a técnica EIA (K. Won, Kruszon-Moran, & Schantz, 2007). No ano seguinte, após um estudo nacional a 23.527 norte-americanos utilizando a técnica EIA, foi reportada uma seroprevalência a *Toxocara* spp. de 13,9% para os indivíduos do estudo e uma estimativa de 12,5% a 15,3% para todo o país (K. Y. Won, Kruszon-Moran, Schantz, & Jones, 2008).

No Brasil, os valores reportados nos estudos de seroprevalência são em geral bastante superiores. Num estudo de 2005 na zona de São Paulo, 338 crianças foram analisadas para

anticorpos anti-*Toxocara* através de testes ELISA, tendo 26,9% das mesmas dado positivo (Muradian, Gennari, Glickman, & Pinheiro, 2005). Em 2012 na região do Paraná, um estudo a 90 crianças que brincavam regularmente em parques e caixas de areia, encontrou uma seroprevalência de 17,8% utilizando testes ELISA. Mais ainda, foi reportada uma correlação entre as crianças positivas e a contaminação ambiental: todos os parques em que as crianças positivas brincavam possuíam cargas superiores a 1,1 ovos/g de solo (Manini, Marchioro, Colli, Nishi, & Falavigna-Guilherme, 2012). Em 2013 na cidade de São Paulo, um estudo conduzido a 253 indivíduos adultos utilizando o método ELISA, reportou uma prevalência média de 8,7% (Negri et al., 2013). Nesse mesmo ano e com a mesma técnica, um estudo apenas em crianças do nordeste do Brasil reportou uma seroprevalência de 48,4% (Mendonça et al., 2013).

Na Áustria, um estudo de 2004 utilizando ELISA, obteve seroprevalências de 3,7% para população geral (Auer & Aspöck, 2004). No ano seguinte um estudo semelhante mas realizado a várias profissões de risco, num total de 585 indivíduos, e utilizando *Western Blot* além do ELISA, encontrou seroprevalência de 44% em agricultores, 27% em veterinários, 25% em magarefes e 17% em caçadores, em comparação com apenas 2% de seroprevalência num grupo de controlo com profissões de baixo risco de contacto com *Toxocara*. Mais ainda, o estudo identificou como principal fonte de infecção nas zonas rurais, os cães e gatos das quintas que não eram desparasitados (Deutz et al., 2005).

Na década de 1990, alguns estudos realizados em países subdesenvolvidos reportaram seroprevalências bastante altas. Em 1993, 190 crianças e jovens de Bali, Indonésia, foram testadas para a presença de anticorpos contra vários agentes zoonóticos. Na totalidade, e utilizando *Western Blot*, 63,2% dos indivíduos deram positivo a *Toxocara canis*, tendo este agente sido o que obteve maior seroprevalência de todos os analisados (Chomel et al., 1993). No ano seguinte na Ilha da Reunião, um estudo realizado a 387 indivíduos com mais de 15 anos revelou uma seroprevalência de 92,8%, utilizando a mesma técnica (Magnaval, Michault, Calon, & Charlet, 1994). Apesar das elevadas seroprevalências registadas em todo o mundo nas últimas décadas, o número de casos reportados de LMN é, de 1950 até 2007, apenas 50. Prevê-se no entanto que este valor esteja subestimado pois a migração de larvas de *Toxocara* spp. nos órgãos e tecidos humanos raramente está associada a sinais clínicos (Finsterer & Auer, 2007).

Em Portugal são conhecidos quatro estudos de seroprevalência que reportam este parasita. Em 1984, num estudo geral efetuado a adultos foi reportado um valor de 3,07% de seroprevalência utilizando a técnica EIA (Rombert, 1984). Em 1990 foram analisados vários adultos do Alentejo

onde foi encontrada uma prevalência de 11,2% utilizando *Western Blot* (David de Moraes et al., 1990). Em 1998 um estudo realizado a adultos do conselho da Feira reportou uma seroprevalência de 17,7% utilizando a técnica EIA (Tavares, Garrido, Geraldés, Tavares, & Faria, 1998). Em 2001 um estudo efetuado a homens adultos que se apresentaram à inspeção militar e que utilizou a técnica de ELISA, reportou 13,1% de prevalência (Grácio & Pereira, 2001). Todos estes valores encontram-se resumidos na Tabela 5.

**Tabela 5 - Seroprevalências para *Toxocara* spp. em humanos.**

<b>País</b>	<b>Ano</b>	<b>Seroprevalência</b>	<b>Técnica utilizada</b>	<b>Referência</b>
<b>Portugal</b>	1984	3,07%	EIA	(Rombert, 1984)
<b>Canadá</b>	1988	17,0%	ELISA	(Embil et al., 1988)
<b>Portugal</b>	1990	11,2%	<i>Western Blot</i>	(David de Moraes et al., 1990)
<b>Indonésia</b>	1993	63,2%	<i>Western Blot</i>	(Chomel et al., 1993)
<b>Ilha da Reunião</b>	1994	92,8%	<i>Western Blot</i>	(Magnaval et al., 1994)
<b>Portugal</b>	1998	17,7%	EIA	(Tavares et al., 1998)
<b>Portugal</b>	2001	13,1%	ELISA	(Grácio & Pereira, 2001)
<b>Áustria</b>	2004	3,7%	ELISA	(Auer & Aspöck, 2004)
<b>Áustria</b>	2005	2% - 44%	ELISA + <i>Western Blot</i>	(Deutz et al., 2005)
<b>Brasil</b>	2005	26,9%	ELISA	(Muradian et al., 2005)
<b>EUA</b>	2007	13,9%	EIA	(K. Won et al., 2007)
<b>EUA</b>	2008	13,9%	EIA	(K. Y. Won et al., 2008)
<b>Brasil</b>	2012	17,8%	ELISA	(Manini et al., 2012)
<b>Brasil</b>	2013	8,7%	ELISA	(Negri et al., 2013)
<b>Brasil</b>	2013	48,4%	ELISA	(Mendonça et al., 2013)

Embora no geral se dê menor importância a *Toxocara cati* como causa de infecção em humanos, principalmente devido a alguns casos reportados na década de 1990 que foram serologicamente diagnosticados como *Toxocara canis* (Virginia, Nagakura, Ferreira, & Tateno, 1991; Petithory & Beddock, 1997), não há provas concretas que as duas espécies possam ser distinguidas serologicamente em indivíduos infetados e, como tal, alguns autores consideram que os casos

de Toxocarose humana causada por *Toxocara cati* está bastante subestimada (Fan et al., 2013; Bowman, 2014).

Em 1952 foi reconhecida a relação de causalidade entre larvas de *Toxocara* spp. e casos de eosinofilia, pneumonia e hepatomegália em crianças com menos de 3 anos (Beaver, Snyder, & Carreara, 1952). Em crianças a ação das larvas pode levar também a retinite granulomatosa. Este quadro pode ser mal diagnosticado como retinoblastoma e levar à enucleação do olho da criança, existindo pelo menos 36 casos reportados (Bowman, 2014). No entanto, a grande maioria das infecções em humanos por *Toxocara* spp. são não sintomáticas, agindo os humanos como hospedeiros paraténicos onde as larvas enquistadas podem sobreviver por pelo menos 10 anos (Beaver, 1966).

Embora o ser humano esteja classificado apenas como hospedeiro paraténicos na bibliografia, existem pelo menos quatro casos de crianças infetadas com formas adultas ou semi-adultas de *Toxocara cati* reportados, todos nos EUA. No entanto, os autores acreditam que as crianças devem ter ingerido os vermes já adultos e não ovos que entretanto se desenvolveram (Eberhard & Alfano, 1998). O risco de infecção em humanos aumenta com a existência de alguns comportamentos de risco, tais como geofagia, higiene pessoal deficiente e consumo de vegetais e carne crus (Strube et al., 2013).

### **3.1.5. Diagnóstico**

#### **3.1.5.1. Diagnóstico em cão e gato**

O diagnóstico definitivo de infecção patente por *Toxocara* spp. em cães e gatos é sempre realizado em análise coprológica pela identificação de ovos num exame de flutuação efetuado a, pelo menos, 3 a 5 gramas de matéria fecal (Foreyt, 2001; ESCCAP, 2010; Bowman, 2014). Embora na grande maioria dos casos a infecção seja assintomática, os animais juvenis costumam adotar posturas de dor abdominal e vocalização constante. Caquexia, aumento do volume abdominal, bloqueios intestinais e intusceção podem acontecer em grandes infecções. Em gatos é ocasionalmente diagnosticado pneumonia (ESCCAP, 2010).

Relativamente à infecção não patente nos animais domésticos, apenas é útil de averiguar no caso de fêmeas reprodutoras, para determinar se são portadoras de larvas somáticas (Overgaauw, 1997b). Nestes casos o diagnóstico é feito por ELISA, que identifica um conjunto de proteínas excretadas e secretadas pelas larvas e que se denominam TES – *Toxocara Excretory-Secretory*. Uma eosinofilia elevada pode também ser altamente sugestiva de Toxocarose nestes animais,

principalmente se se conseguir eliminar a possibilidade de todos os outros parasitas (Schmidt & Roberts, 2008).

### **3.1.5.2. Diagnóstico em humanos**

O diagnóstico inicial no ser humano é sempre sorológico, realizado inicialmente através de um teste de TES-ELISA e posteriormente um Western blot para as amostras positivas (Magnaval et al., 2001; Fillaux & Magnaval, 2013). As lesões causadas pelas larvas de *Toxocara* spp. podem ser detetadas através de várias técnicas imagiológicas, tais como ecografia, tomografia computadorizada e ressonância magnética (Baldisserotto, Conchin, Da Soares, Araujo, & Kramer, 1999; Strube et al., 2013), sendo o diagnóstico final realizado através de exame histopatológico (Parsons, Bowman, & Grieve, 1986).

### **3.1.6. Terapêutica, profilaxia e controlo**

#### **3.1.6.1. Tratamento do cão e gato**

Devido à importância da transmissão transplacentária nos cães e à dificuldade de se garantir que a fêmea gestante não alberga larvas infetantes enquistadas, deve-se assumir sempre que os canídeos recém-nascidos estão infetados (Bowman, 2014). Embora nos gatos não exista infeção pré-natal, os recém-nascidos são infetados por via galactogénica ou por ingestão de ovos do ambiente. Desta forma, todas as ninhadas de cães e gatos devem cumprir um esquema de desparasitação preventivo. O tratamento deve iniciar-se às 2 semanas de idade no caso dos cachorros, com repetição quinzenal até às duas semanas após o desmame e depois mensalmente até aos 6 meses de idade. No caso dos felinos, por não existir infeção pré-natal, o tratamento pode começar apenas às 3 semanas de idade com iguais repetições quinzenais até às duas semanas pós-desmame, seguido de desparasitação mensal até aos 6 meses de idade. Para precaver as infeções latentes, que muitas vezes se ativam na altura do parto, as cadelas e gatas devem ser tratadas antes da gestação e de novo ao mesmo tempo que a primeira toma da sua ninhada. Desta forma minimizam-se os riscos de grandes infeções nos recém-nascidos (ESCCAP, 2010).

Além do esquema de desparasitação inicial, e de forma geral, todos os canídeos e felídeos devem ser sujeitos durante toda a vida a um calendário de desparasitação mais ou menos frequente conforme a realidade e ambiente do animal. Para animais com acesso contínuo a um jardim ou à rua, animais de quinta, animais com acesso a hospedeiros paraténicos, animais em canil ou gatil, animais que vivam com outros animais e animais de famílias com crianças pequenas, é recomendado tratamento mensal visto o período pré-patente da infeção ser pouco

mais que 4 semanas. Para todos os outros animais recomenda-se uma frequência de tratamento de, pelo menos, 4 vezes por ano pois as informações existentes têm sugerido que desparasitações anuais ou bianuais não são suficientes para prevenir as infecções patententes. Nos casos em que não é possível ou desejável uma terapia anti-helmíntica regular, recomenda-se a realização de análises coprológicas a cada um a três meses, efetuando o tratamento apenas nos casos positivos (ESCCAP, 2010). O esquema de desparasitação sugerido encontra-se esquematizado na Figura 12.

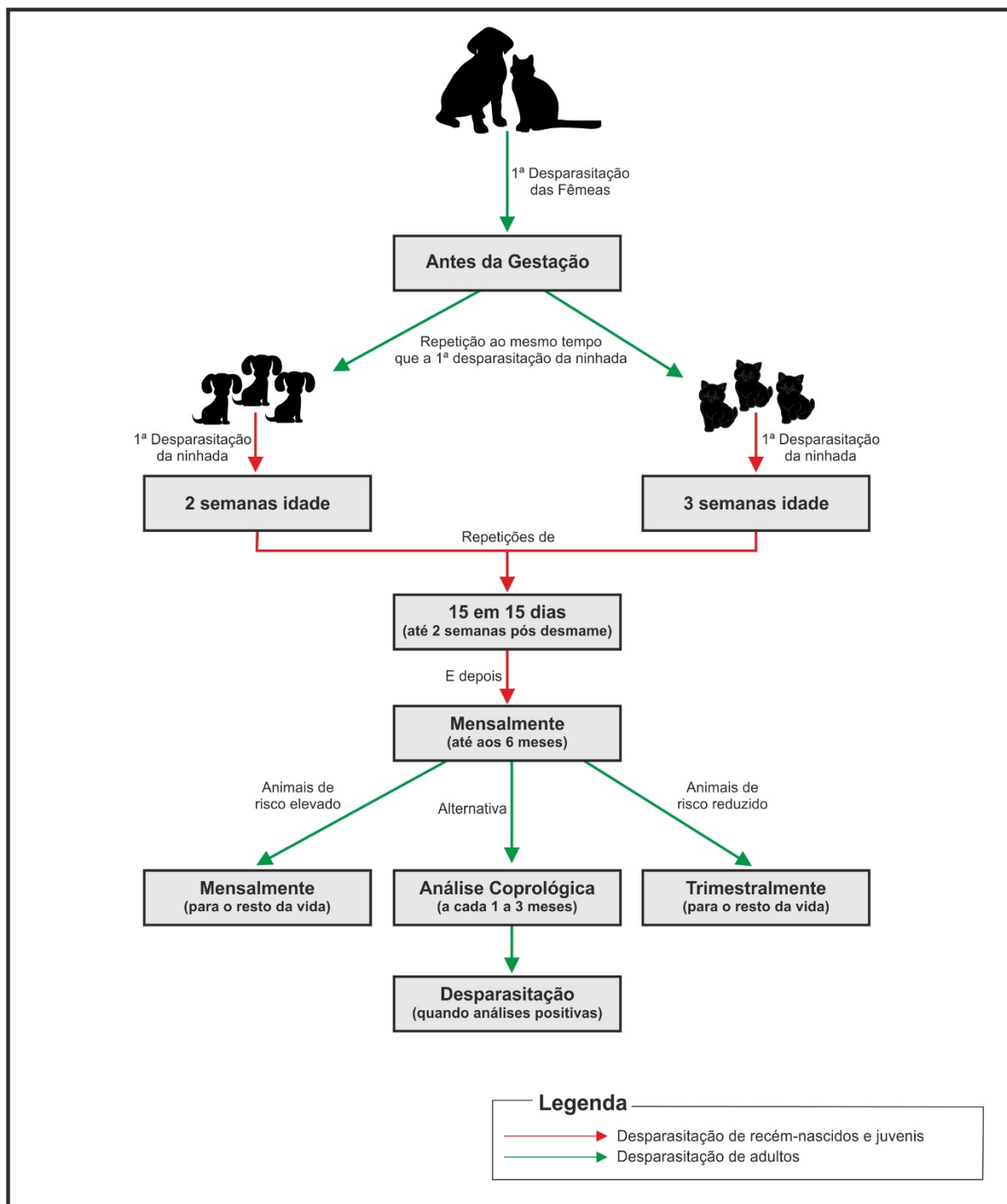


Figura 12 - Esquema de desparasitação de juvenis e adultos, baseado em ESCCAP (2010) e Bowman (2014). Original.

São também vários os princípios ativos que podem ser utilizados, devendo a escolha ter em conta a realidade individual de cada animal. Os únicos fármacos seguros no combate ao *Toxocara* spp. às 2 semanas de idade são os derivados de pirantel e o febantel (Christensson, Raue, & Bernstad, 1991; Bowman, 2014). A partir das 6 semanas de idade a piperazina é bastante segura, mas nunca se deve administrar concomitantemente com derivados de pirantel. Nesta idade os juvenis podem também passar a ser tratados com febendazol ou então ivermectina conjugada com derivados de pirantel. A partir das 7 semanas os juvenis podem ser tratados topicamente com moxidectina e imidacloprida. Após as 8 semanas os juvenis podem ser tratados com formulações de ivermectina conjugadas com derivados de pirantel e praziquantel (Bowman, 2014).

No entanto, como na prática clínica a desparasitação deve ter em conta não só *Toxocara* spp., mas todos os outros parasitas internos e externos de importância para a espécie e zona de habitação, realizam-se programas integrados de desparasitação. Desta forma, a escolha recai quase sempre em formulações comerciais, disponíveis para as várias espécies, idades e pesos, e que englobam vários princípios ativos que abrangem múltiplos parasitas. Dos atualmente existentes em Portugal e que incluem ação contra *Toxocara* spp. temos formulações comerciais de febantel com embonato de pirantel (*p.e.* Drontal Puppy® da Bayer®) seguro a partir das 2 semanas de idade e com eficácia bastante elevada (Schenker, Cody, Strehlau, Alexander, & Junquera, 2006). Para juvenis e adultos existe a gama Drontal Plus® da mesma empresa que acrescenta praziquantel, e ainda a gama Advocate® em spot-on formulado com imidacloprida com moxidectina. Formulações de milbemicina oxima com lufenuron (*p.e.* Interceptor® da Novartis®) são seguras a partir das 4 semanas de idade e 900g de peso. Estudos demonstram a sua elevada eficácia, mesmo em doses mínimas, quer em cães quer em gatos (Schenker et al., 2006, 2007; Bowman, Reinemeyer, Wiseman, & Snyder, 2014). Formulações tópicas para gatos com eprinomectina e praziquantel (*p.e.* Broadline® da Merial®) têm demonstrado eficácia total (Knaus et al., 2014).

Profilaticamente, e além das desparasitações regulares, os proprietários de animais devem observar boas práticas de segurança e higiene. Não devem permitir aos seus animais caçar e comer roedores e outros pequenos mamíferos, assim como ingerir carne crua e vísceras de gado ou de outros animais domésticos, para garantir que não ingerem hospedeiros paraténicos infetados com larvas enquistadas. Devem apanhar sempre as fezes dos seus animais e descartá-las, juntamente com o areão dos gatos, de forma segura nos contentores apropriados. Para minimizar a infeção ambiental não devem usar as fezes dos animais de estimação para compostagem ou fertilização de vegetais em jardins e hortas. Devem ainda manter o pelo dos

seus animais em boas condições, realizando lavagens e cortes regulares para minimizar o risco de contaminação da pelagem por ovos (ESCCAP, 2010)

O tratamento da Toxocarose quer em cães quer em gatos deve ser profilático em todos os juvenis antes das 7 semanas de idade, e em todos os indivíduos quando são detetados ovos nas análises coprológicas. Nestes casos o tratamento pode ser realizado com um dos princípios ativos presentes na Tabela 6.

**Tabela 6 - Princípios ativos para tratamento de Toxocarose em animais domésticos** (Christensson et al., 1991; Dryden & Ridley, 1999; McTier et al., 2000; Foreyt, 2001; Bowman, 2014).

<b>Princípio ativo</b>	<b>Dose</b>	<b>Posologia</b>	<b>Informações</b>
<b>Febendazol</b>	50mg/kg	PO q 24h x 3d	Tratamento de cadelas gestantes: desde o 40º dia de gestação até 3º dia pós-parto
<b>Mebendazol</b>	22mg/kg	PO q 24h x 5d	
<b>Piperazina</b>	100-200mg/kg	PO, repetir após 10d	O mais aconselhado no tratamento das fêmeas antes do parto
<b>Pirantel</b>	Cão: 5-10mg/kg Gato: 10-20mg/kg	PO, toma única	
<b>Selamectina</b>	7-13mg/kg	Tópico, toma única	
<b>Febantel</b>	25mg/kg	PO, toma única	
<b>Ivermectina</b>	0,2-0,4mg/kg	PO q24h x 3d	
<b>Moxidectina</b>	2,5-6,25mg/kg	Tópico, toma única	
<b>Imidacloprida</b>	10-25mg/kg	Tópico, toma única	
<b>Praziquantel</b>	5mg/kg	PO, toma única	
<b>Milbemicina oxima</b>	0,5mg/kg	PO, toma única	

O tratamento da LMV realiza-se apenas em pacientes com quadro clínico grave (Gillespie, 1988), sendo nestes casos o mebendazol o anti-helmíntico mais efetivo (Magnaval, 1995). A verdadeira aposta deve sempre ser no controlo profilático, realizando desparasitações periódicas a todos os animais, especialmente aos juvenis, com correta eliminação das fezes dos animais e evitando que cães e gatos ingiram hospedeiros paraténicos como roedores e outros pequenos mamíferos (Schmidt & Roberts, 2008). Embora seja razoavelmente fácil evitar que gatos e cães de apartamento consumam estes animais, é impossível evitar esta realidade nas zonas rurais e nas comunidades de gatos e cães errantes. Nestas circunstâncias deve-se apostar no controlo de roedores, de forma a minimizar as infeções através destes agentes (Bowman, 2014).

### 3.1.6.2. Tratamento em humanos

O tratamento da toxocarose em humanos apenas é realizado em indivíduos com sinais clínicos da doença. Nos casos de LMV é geralmente realizado com albendazol ou mebendazol, sendo o primeiro o tratamento de eleição (Magnaval, 1995; Strube et al., 2013). Nos casos de doença hepática secundária a toxocarose, foi reportado que o tiabendazol obtém os melhores resultados (Leone et al., 2006; Chandrashekhara et al., 2010). Já nos casos de LMO, como o princípio ativo tem de penetrar no olho, a dietilcarbamazina é em geral a melhor opção. Podem no entanto ser utilizados outros tipos de tratamento, tais como fotocoagulação por laser ou vitrectomia (Strube et al., 2013).

Profilaticamente os humanos devem, além de cumprir todas as boas práticas de higiene e segurança acima listadas para os animais, praticar uma boa higiene pessoal, lavando as mãos após contacto com animais e antes de manusearem alimentos. Devem ainda promover estas boas práticas com as crianças e evitar que as mesmas frequentem espaços com elevado potencial de infeção, tais como parques caninos ou canis com falta de higiene. Os agentes de saúde, tais como veterinários, médicos e enfermeiros, devem de forma proactiva informar as famílias com animais ou que pensam ter animais, dos riscos dos agentes zoonóticos, tais como *Toxocara* spp., assim como das boas práticas a observar, especialmente para indivíduos imunocomprometidos tais como idosos, diabéticos, VIH-positivos, pacientes em quimioterapias imunossupressoras, transplantados ou em tratamento para doenças autoimunes, e ainda grávidas, crianças, indivíduos com deficiências mentais e físicas, ou indivíduos com trabalhos de risco, tais como agricultores e produtores animais, caçadores e trabalhadores de canis (ESCCAP, 2010).

O consumo de vísceras não cozinhadas de suínos e aves infetadas com larvas deste parasita pode também causar infeção no Humano. Estudos demonstram que, embora o consumo de vísceras frescas leve a maiores infeções do que o consumo de vísceras refrigeradas a 4° C durante uma semana, também estas causam infeções substanciais pois a temperatura não é suficiente para eliminar todos os parasitas enquistados. As vísceras de suínos levam a maiores infeções do que as vísceras de aves, mas a diferença não é significativa. Como tal é aconselhável garantir que todas as vísceras destes animais sejam apropriadamente confeccionadas antes do consumo humano, principalmente pelas populações de risco (Taira, Saeed, Permin, & Kapel, 2004).

### **3.1.6.3. Controlo ambiental e da contaminação do solo**

#### **3.1.6.3.1. Meios de Controlo Mecânicos, Físicos e Químicos**

Elevadas taxas de contaminação ambiental podem ser esperadas em locais que os cães e gatos frequentem, tais como quintais e jardins privados, parques públicos e parques infantis com caixas de areia, escolas de treino, canis e abrigos animais, e ainda criadores de cães e gatos. Como tal, as formas de prevenção inicial devem basear-se na educação dos proprietários de cães e gatos, em restringir o acesso de animais desconhecidos e errantes a estes locais, apanhar as fezes dos animais imediatamente após defecação, higienizar frequentemente os canis, evitar o acesso de cães e gatos aos espaços públicos, principalmente parques infantis, e realizar tratamentos anti-helmínticos regulares, com ênfase nos cães e gatos juvenis e gestantes (Overgaauw, 1997b).

Os ovos deste parasita são extremamente resistentes, e podem sobreviver no solo durante anos, principalmente em solos argilosos com má drenagem e em zonas de lodo. A bioacumulação destes ovos, em locais com pouca higiene e solos não higienizados, é bastante grande. Devido à elevada resistência, é extremamente difícil destruir os ovos, quer por ação mecânica quer física. As únicas formas eficazes de destruir os ovos são através da incidência de luz ultravioleta, lavagem com solução aquosa iodada (Overgaauw, 1997b) ou pelo calor: 60°C durante 5 minutos (Bowman, 2014) ou 42°C durante 3 horas (Uga & Kataoka, 1995).

Para higienização de canis, gatis e espaços ocupados por animais deve-se primeiramente limpar toda a matéria orgânica através da remoção de dejetos e comida seguida de limpeza com jato de água a alta pressão. Depois, principalmente em locais com madeira ou metal em que os ovos aderem facilmente, deve ser esfregado ou pulverizado hipoclorito de sódio a 1%. Esta solução não inviabiliza os ovos, mas remove a sua camada exterior proteica, impedindo-os de aderirem às superfícies. Por último, o espaço deve ser de novo enxaguado a alta pressão. Este procedimento apenas remove os ovos, não os destruindo (Overgaauw, 1997b).

Uma das possíveis proteções contra a contaminação das caixas de areia em parques infantis é cobrir com lâminas de vinil quando não estão a ser utilizadas. Além de prevenir a deposição de novas amostras fecais, quando a temperatura ambiente é superior a 30°C durante 5 horas ou mais, a temperatura da areia até uma profundidade de 3 centímetros atinge valores superiores a 42°C durante 3 horas, destruindo assim os ovos pré-existentes na areia. Também em dias chuvosos, esta cobertura evita que a areia se molhe, garantindo assim que os ovos presentes na areia não têm a humidade necessária para evoluírem. A substituição da areia revelou-se

ineficiente, pois devido à elevada carga fecal que é depositada diariamente, ao fim de poucas semanas a areia encontra-se de novo infetada (Uga & Kataoka, 1995).

#### 3.1.6.3.2. Meios de Controlo Biológico

Outra forma promissora de eliminar ovos do solo é a utilização de meios de controlo biológico, nomeadamente fungos nematófagos e extratos vegetais com ação ovicida que atuem sobre os ovos de *Toxocara* spp.

Fungos nematófagos são fungos que influenciam negativamente o desenvolvimento dos nemátodes, nomeadamente dos seus ovos, ao utilizarem-nos de forma saprófita como fonte nutricional. A ação ovicida destes fungos pode desenvolver-se quer pela libertação de metabolitos que atuam apenas sobre o embrião, sem modificar a morfologia do ovo em si, quer pela secreção de um exoenzima que primeiramente destrói as membranas do ovo, e posteriormente ataca o embrião. Em ambos os casos o objetivo do fungo é conseguir que as suas hifas penetrem no interior do ovo para utilizar os nutrientes do mesmo, dando-se o processo final de destruição da forma parasitária quando o fungo extingue os nutrientes lá existentes (Ciarmela, Minvielle, Lori, & Basualdo, 2002; Braga & De Araújo, 2014).

De entre os fungos nematófagos já identificados com ação ovicida sobre ovos de *Toxocara* spp. os que se mostraram mais promissores foram *Fusarium pallidoroseum* (Ciarmela et al., 2002), *Fusarium solani*, *Trichoderma* sp. (De Souza Maia Filho et al., 2013), *Pochonia chlamydosporia* e *Paecilomyces lilacinus* (Carvalho, Araújo, Braga, Araujo, & Alves, 2010).

Relativamente aos extratos vegetais com ação ovicida são, regra geral, componentes presentes em diferentes partes de plantas que possuem ação tóxica sobre os ovos de determinados parasitas. Embora esta área se encontre menos desenvolvida que a dos fungos nematófagos, vários estudos têm demonstrado o seu potencial, incluindo para parasitas do género *Toxocara* (Shalaby, El Namaky, Khalil, & Kandil, 2012; Santos, Souza, Akisue, Coelho, & Coelho, 2013; Lem et al., 2014).

## 4. Material e métodos

### 4.1. Área de Estudo e Colheita de Material

Foi escolhida para área de estudo a zona da Grande Lisboa, com especial incidência na cidade de Lisboa. Para a seleção dos parques públicos (PP) a utilizar no estudo foi realizada uma listagem global dos parques urbanos, jardins públicos e parques infantis existentes nos concelhos de Lisboa, Amadora, Sintra e Oeiras. Após listagem foram selecionados todos os parques infantis (PI) da cidade de Lisboa que possuíam caixa de areia (n=7) e ainda um conjunto representativo de parques urbanos e jardins públicos que foram agrupados numa mesma categoria (PU) (n=12) e que, após visita e avaliação, reuniam cumulativamente as seguintes condições: a) localização na imediação de uma grande via de acesso ou de uma zona densamente habitada; b) solo de fácil escavação constituído por terra, relva, areia e/ou gravilha; c) observação de pelo menos 10 amostras fecais. Estas três condições foram estabelecidas para garantir que os locais escolhidos permitiam quer a colheita de amostras de solo, quer de amostras fecais. No total foram selecionados 19 PP, pertencentes aos concelhos de Lisboa (n=15), Oeiras (n=3) e Sintra (n=1), tal como listado na Tabela 7 e ilustrado graficamente na Figura 13.

Tabela 7 - Listagem dos Parques Públicos utilizados no estudo, localização e categoria (PU – Parques urbanos e jardins públicos; PI – Parques infantis com caixa de areia).

Nº	Denominação	Concelho/Localização	Categoria
1	Jardim da Torre de Belém	Lisboa/Belém	PU
2	Jardim do Campo Grande	Lisboa/Campo Grande	PU
3	Jardim da Gulbenkian	Lisboa/Av. de Berna	PU
4	Jardim do Parque da Bela Vista	Lisboa/Marvila	PU
5	Jardim do Parque Eduardo VII	Lisboa/Avenidas Novas	PU
6	Jardim da Avenida da Liberdade	Lisboa/Avenidas Novas	PU
7	Parque da Quinta das Conchas	Lisboa/Lumiar	PU
8	Parque do Vale do Silêncio	Lisboa/Olivais	PU
9	Parque Urbano da Quinta de Santo António	Oeiras/Algés	PU
10	Parque Urbano de Miraflores	Oeiras/Miraflores	PU
11	Parque Canino de Miraflores	Oeiras/Miraflores	PU
12	Parque Urbano de Queluz	Sintra/Queluz	PU
13	Parque Infantil da Alameda Keil do Amaral	Lisboa/Monsanto	PI
14	Parque Infantil do Jardim Guerra Junqueiro	Lisboa/Estrela	PI
15	Parque Infantil Silva Porto	Lisboa/Benfica	PI
16	Parque Infantil do Jardim Marcelino Mesquita	Lisboa/Amoreiras	PI
17	Parque Infantil da Quinta da Cabrinha	Lisboa/Av. de Ceuta	PI
18	Parque Infantil da Alameda D. Afonso Henriques	Lisboa/Areeiro	PI
19	Parque Infantil do Jardim Constantino	Lisboa/Arroios	PI

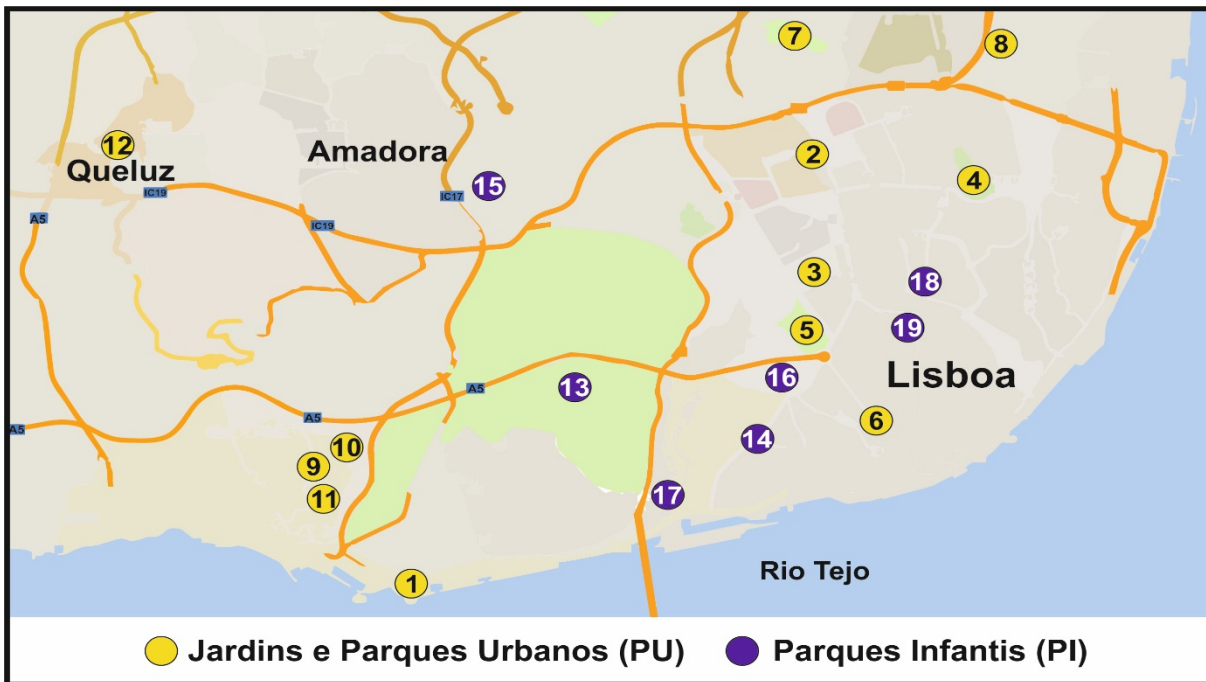


Figura 13 - Localização dos parques públicos utilizados no estudo. Os números são referentes à Tabela 7.

Foram realizadas três visitas a cada local, em cada uma das quais foram efetuadas colheitas de amostras de fezes e de solo. As visitas foram em diferentes períodos do dia (manhã, meio-dia, e noite) de forma a conseguir uma amostra mais representativa e evitar ao máximo animais repetidos. Em cada visita foram recolhidas todas as amostras fecais frescas encontradas. Recolheram-se ainda 8 amostras de solo por local de estudo, a uma profundidade entre os 0-10 centímetros, das áreas mais frequentadas pelos animais (Blaszkowska et al., 2013). No caso de parques pequenos ou de difícil acesso ao solo foram recolhidas um mínimo de 3 amostras e no caso de parques muito grandes foi recolhida uma amostra de solo por cada 3000m<sup>2</sup> de área do parque. Um total de 135 amostras fecais de canídeos e ainda 151 amostras de solo foram recolhidas dos locais de estudo (Figura 14). Todas as amostras foram refrigeradas a 4°C até serem analisadas.

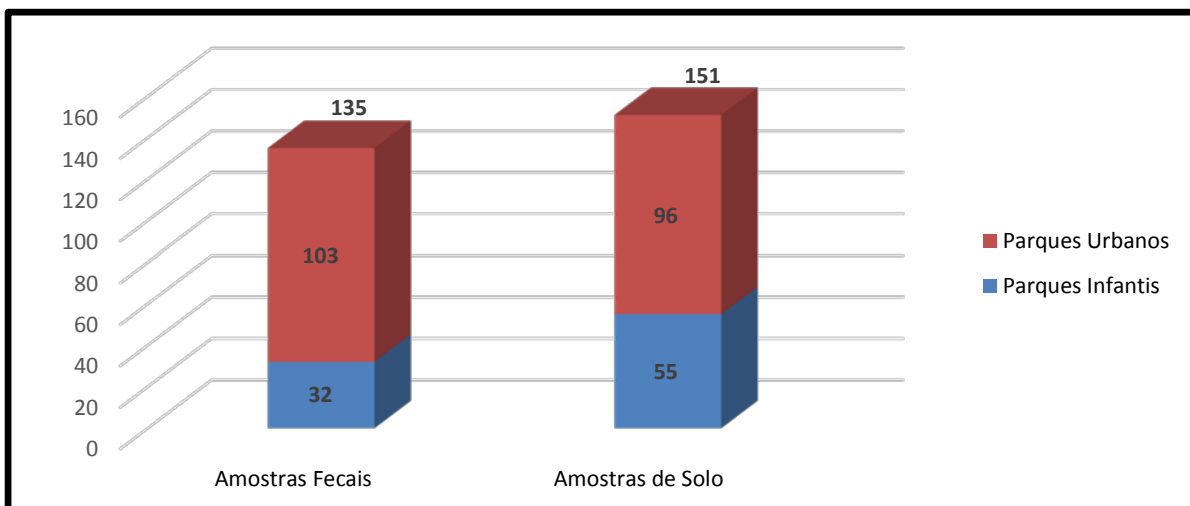


Figura 14 - Distribuição das amostras recolhidas.

## 4.2. Análise de Amostras Fecais

As amostras fecais recolhidas foram analisadas pelo método adaptado de Cornell-Wisconsin (Egwang & Slocombe, 1982; Levecke et al., 2012), no qual dez gramas de fezes de cada amostra foram homogeneizados em 100mL de água destilada. A suspensão foi transferida para 4 tubos de ensaio que foram depois levados ao vórtice. Cada tubo foi centrifugado a 200 g por 10 minutos, após os quais se descartou o sobrenadante. Solução de sacarose de densidade aproximada 1,3 g/cm<sup>3</sup> foi adicionada até meio de cada tubo e de novo misturado no vórtice. Cada tubo foi de novo centrifugado a 200 g por 10 minutos ao fim dos quais se preencheu cada um com a mesma solução saturada até formar um menisco positivo. Uma lamela de vidro foi adicionada ao topo de cada tubo e após 30 minutos aposta numa lâmina que foi observada ao microscópio ótico numa ampliação de 100x.

## 4.3. Análise de Amostras de Solo e Matéria Vegetal

As amostras de solo foram analisadas segundo um método de centrifugação e sedimentação/flutuação adaptado às condições do laboratório (Loh & Israf, 1998; Mizgajska-Wiktor, 2005; Santarém, Magoti, & Sichieri, 2009). Cem gramas de solo de cada amostra foram transferidos para um saco de plástico (Figura 15a) ao qual se acrescentou 100mL de solução Tween20 5%. O conteúdo foi homogeneizado durante 10 minutos e deixado a repousar por 12 horas (Figura 15b). O conteúdo foi então despejado para o primeiro de quatro tamises montados em série, cada um com diferentes diâmetros de poro: 1,000mm; 0,300mm; 0,150mm e 0,063mm respetivamente (Figura 15c). Os primeiros tamises servem para reter os constituintes do solo grosseiros de grandes dimensões, pelo que o seu conteúdo foi descartado. O último tamis possui diâmetro de poro ligeiramente inferior ao diâmetro dos ovos de *Toxocara* spp. A amostra foi lavada em água corrente durante 30 minutos, permitindo assim que as diferentes frações se separem pelos 4 tamises. O sedimento presente no tamis de 0,063mm foi passado para um copo de sedimentação, ao qual foi adicionada água destilada até 2/3 do topo e deixado repousar 12 horas (Figura 15d). O sobrenadante foi então descartado e a camada superficial de sedimentos transferida para tubos de ensaio com uma pipeta de Pasteur, até preencher 1/4 dos mesmos. Água destilada foi adicionada até meio de cada tubo que foi depois levado ao vórtice. Cada tubo foi centrifugado a 200 g por 10 minutos, após os quais se descartou o sobrenadante. Solução de sacarose ( $\rho \sim 1,3\text{g/cm}^3$ ) foi adicionada até meio de cada tubo e de novo misturado no vórtice. Cada tubo foi então centrifugado a 200 g por 10 minutos ao fim dos quais se preencheu cada um com a mesma solução saturada até formar um menisco positivo. Uma lamela de vidro foi adicionada ao topo de cada tubo (Figura 15e) e após 30 minutos aposta numa lâmina (Figura 15f) que foi observada ao microscópio ótico numa ampliação de 100x.

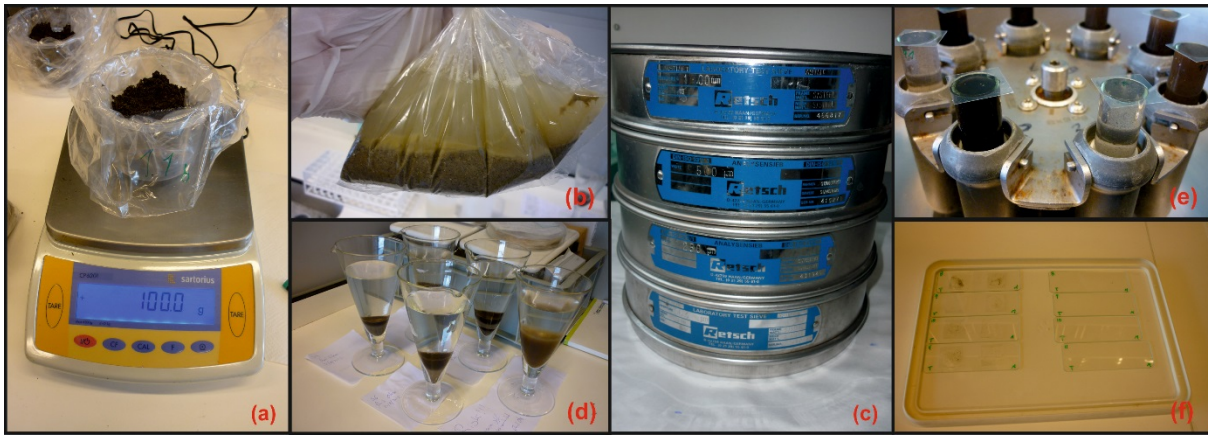


Figura 15 – Ilustração dos passos para análise de amostras de solo segundo: a) Pesagem de 100g de solo; b) Homogeneização do solo em 100mL de Tween20 5%; c) Colocação da amostra no primeiro de 4 tamises montados em série, de cima para baixo com poro de 1,000mm, 0,300mm, 0,150mm e 0,063mm respectivamente; d) Transferência do conteúdo do último tamis para um copo de sedimentação com água destilada; e) Transferência da camada superficial do sedimento para tubos de ensaio, posteriormente cheios com solução saturada de sacarose e centrifugados a 200 g; f) Aposição de cada lamela em lâmina de vidro para posterior visualização ao microscópio óptico (original).

#### 4.4. Incubação e Avaliação da Viabilidade de Infecção de ovos de *Toxocara* spp.

De forma a poder ser avaliada a viabilidade de infecção de cada ovo recuperado nas amostras de solo, foi utilizada uma técnica de incubação de ovos de *Toxocara canis* (Pinelli, Herremans, Harms, Hoek, & Kortbeek, 2011). Os ovos recolhidos no passo anterior foram concentrados e transferidos para um frasco de cultura de tampa de borracha de 100cm<sup>3</sup>, contendo cada um 50mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 0,05M, e armazenados no escuro à temperatura ambiente durante 60 dias, existindo um frasco para cada local de estudo (Figura 16). Em cada frasco foram colocadas 2 agulhas de forma a permitir a renovação do ar. Nestas condições todos os ovos vivos e ainda não embrionados completamente conseguem desenvolver-se na totalidade. Após as 6 semanas os frascos foram transferidos para um frigorífico e armazenados a 4°C até serem analisados.



Figura 16 - Frasco de cultura de 100cm<sup>3</sup>, contendo suspensão de ovos de *Toxocara* spp. em 50mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (original).

O conteúdo de cada frasco foi então transferido para tubos de ensaio e centrifugado a 200 g por 10 minutos, após os quais foram pipetados os 2mL superficiais e transferidos para 6 lâminas de microscópio. Uma lamela foi aposta a cada lâmina e então observada ao microscópio ótico numa ampliação de 100x. Em cada lâmina foram contados os ovos que se encontravam embrionados e calculou-se a percentagem relativamente ao total de ovos contados.

#### 4.5. Sazonalidade da contaminação do solo por ovos de *Toxocara* spp.

Para o estudo de sazonalidade foi utilizado um método de análise adaptado às necessidades específicas do estudo (Colombo, Guglielmo, Monje, Nava, & Beldomenico, 2014). Foi procurado um local que reunisse, cumulativamente, as seguintes condições: a) possuir uma colónia bem estabelecida de gatos errantes; b) possuir uma zona de areia ou terra de fácil escavação onde habitualmente defecassem alguns dos gatos da colónia; c) As amostras de solo dessa zona dessem positivo para ovos de *Toxocara* spp. por três meses consecutivos. As três condições foram idealizadas de forma a mais facilmente se identificar locais com potencial.

Foi escolhido o Parque Urbano Felício Loureiro em Queluz, mais precisamente a área adjacente às cavalariças do Palácio Nacional de Queluz (N 38°45'09.1" O 9°15'34.7") (Figura 17). O local possui uma extensa colónia de gatos ( $n > 60$ ) estabelecidos nas cavalariças do Palácio, assim como nos seus jardins e zona adjacente à cozinha do Palácio. Estes locais fazem fronteira com o parque urbano de Queluz, onde várias pessoas os alimentam diariamente, deixando junto às caixas de areia recipientes com água e comida.



Figura 17 - Fotografias do Parque Urbano Felício Loureiro em Queluz, em especial da área adjacente às cavalariças e jardins do Palácio Nacional de Queluz (original).

Após escolhido o local, foi realizada uma colheita mensal de 200g de solo, durante 12 meses entre Novembro de 2012 e Outubro de 2013. Cada amostra foi posteriormente analisada pelos métodos 4.3 e 4.4 descritos anteriormente neste capítulo.

Foram ainda compilados os dados referentes à temperatura média ambiente (TMA) assim como à precipitação média acumulada (PMA), ambos para os 15 dias anteriores a cada colheita. Os dados recolhidos de cada amostra mensal foram estatisticamente tratados e comparados com os valores de TMA e PMA.

#### 4.6. Identificação da espécie dos ovos de *Toxocara*

Na tentativa de identificar a espécie de *Toxocara* para cada amostra positiva, foram seleccionados aleatoriamente 10 ovos de cada amostra e analisados ao microscópio ótico segundo uma técnica de avaliação de tamanho (Fahrion et al., 2011). Utilizando uma ocular com micrómetro incluído, para cada ovo foi medido o eixo maior e o eixo menor (Figura 18). Os ovos foram então classificados como *Toxocara canis*, *Toxocara cati* ou Indeterminados, segundo a Tabela 8. Os valores dos eixos foram adaptados para permitir uma maior variância.

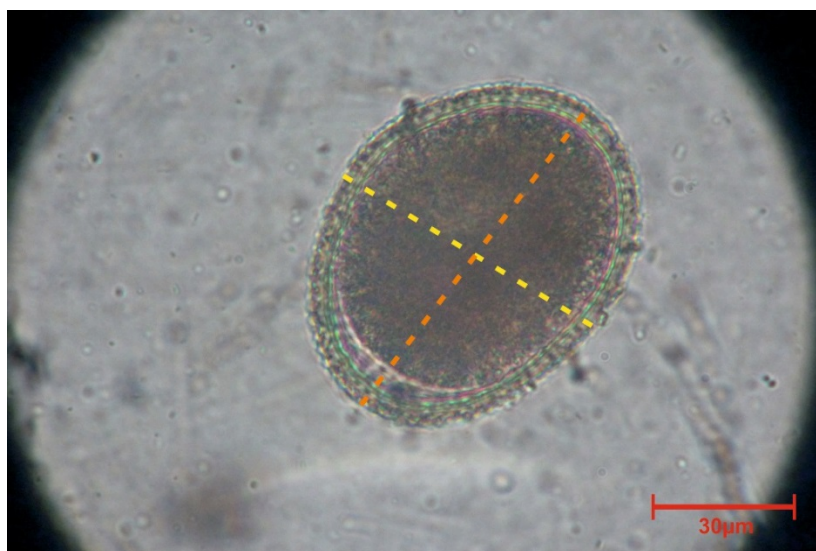


Figura 18 - Ovo de *Toxocara* spp. visto ao microscópio ótico (10x40x). A amarelo o eixo menor e a laranja o eixo maior (original).

Tabela 8 - Classificação de ovos de *Toxocara* spp. com base em valores adaptados para a dimensão dos eixos menor e maior (Fahrion et al., 2011).

Classificação	Eixo maior	Eixo menor
<i>Toxocara canis</i>	> 82 $\mu\text{m}$	> 71 $\mu\text{m}$
Indefinido	76-82 $\mu\text{m}$	71-66 $\mu\text{m}$
<i>Toxocara cati</i>	< 76 $\mu\text{m}$	< 66 $\mu\text{m}$

#### **4.7. Análise estatística**

Todos os dados obtidos foram armazenados e catalogados utilizando o *software* Microsoft Excel 2013 (Marques & Costa, 2014) e a sua análise estatística realizada com o auxílio do *software* SPSS Statistics 20 (Marôco, 2011).

As relações de dependência dos dados recolhidos referentes às prevalências de ovos de *Toxocara* spp. em parques públicos foram comparadas através do Teste Exato de Fisher. Foi escolhido este teste em detrimento de outros pois os conjuntos de dados continham algumas frequências menores que 5 (Callegari-Jacques, 2003). O intervalo de confiança utilizado foi 95% ( $p < 0,05$ ).

As relações dos dados referentes à viabilidade dos ovos recuperados, à sazonalidade da infecção e à identificação da espécie dos ovos recuperados foram testadas através do teste de Correlação de Pearson. Este teste foi escolhido pois o objetivo era avaliar a existência de associação entre cada duas das variáveis estudadas, sendo todas elas variáveis quantitativas. Os valores do coeficiente de correlação de Pearson ( $\rho$ ) obtidos para cada análise foram interpretados segundo uma tabela de avaliação qualitativa do grau de correlação (Callegari-Jacques, 2003).

## 5. Resultados

### 5.1. Prevalência de ovos de *Toxocara* spp. em parques públicos da grande Lisboa

#### 5.1.1. Resultados por parque público

Foram encontrados ovos de *Toxocara* spp. em amostras de solo de 85,7% (6 em 7) dos PI e de 50,0% (6 em 12) dos PU (Figura 19), totalizando uma prevalência de 63,2% (12 em 19) de PP infetados por *Toxocara* spp. tendo em conta as amostras de solo (Figura 20).

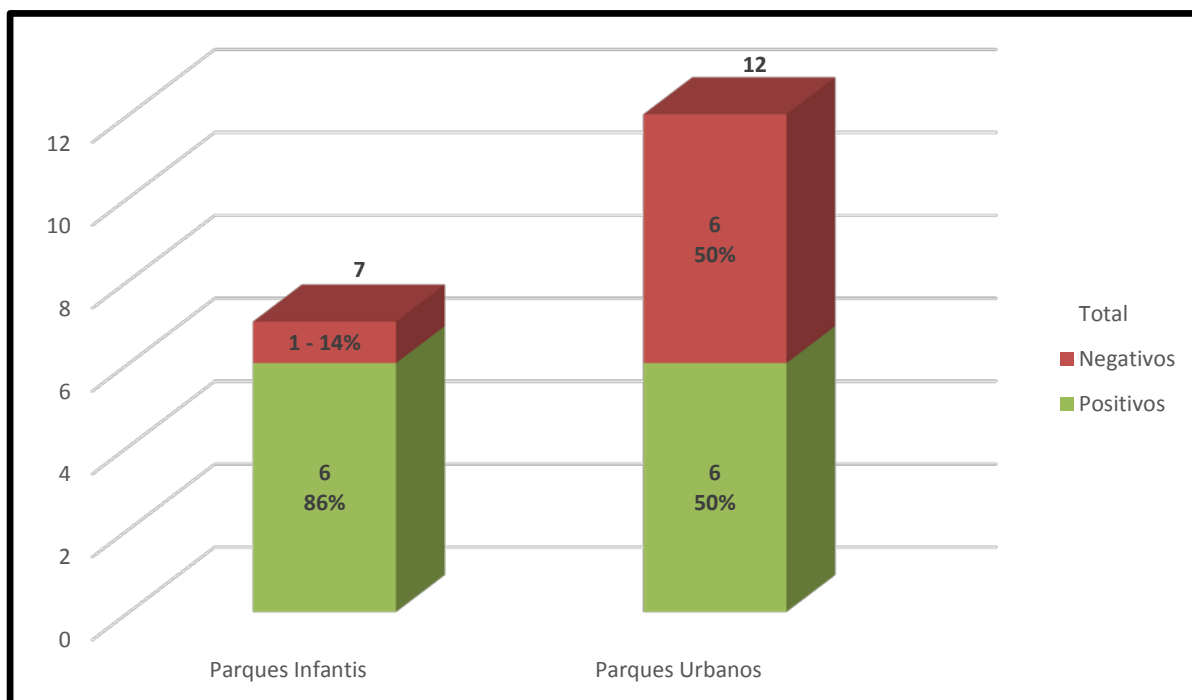


Figura 19 – Comparação entre PI e PU positivos e negativos a ovos de *Toxocara* spp. para amostras de solo.

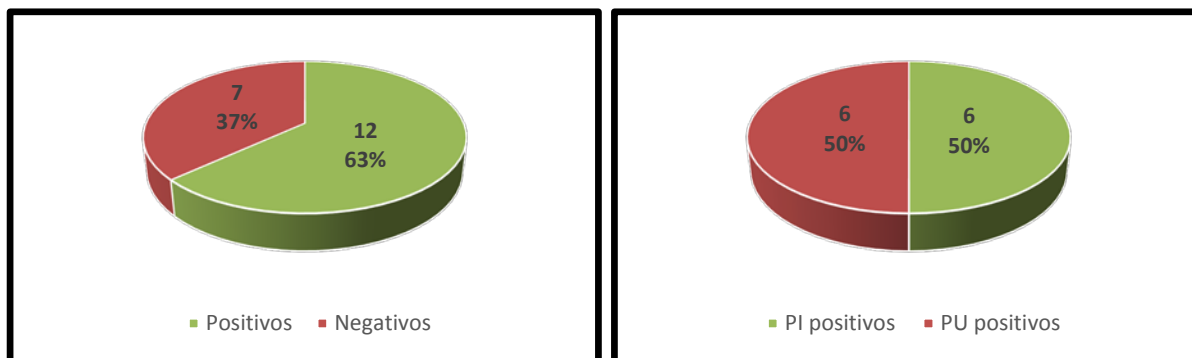


Figura 20 - Parques públicos (PP) positivos e negativos a ovos de *Toxocara* spp. para amostras de solo (esquerda). Parques Infantis positivos (PI) e Parques Urbanos e Jardins Públicos positivos (PU) a ovos de *Toxocara* spp. para amostras de solo (direita).

Relativamente às amostras fecais, foram encontrados ovos de *Toxocara* spp. em 14,3% (1 em 7) dos PI e em 16,7% (2 em 12) dos PU (Figura 21), totalizando uma prevalência de 15,8% (3 em 19) de parques públicos infetados por *Toxocara* spp. tendo em conta as amostras fecais (Figura 22).

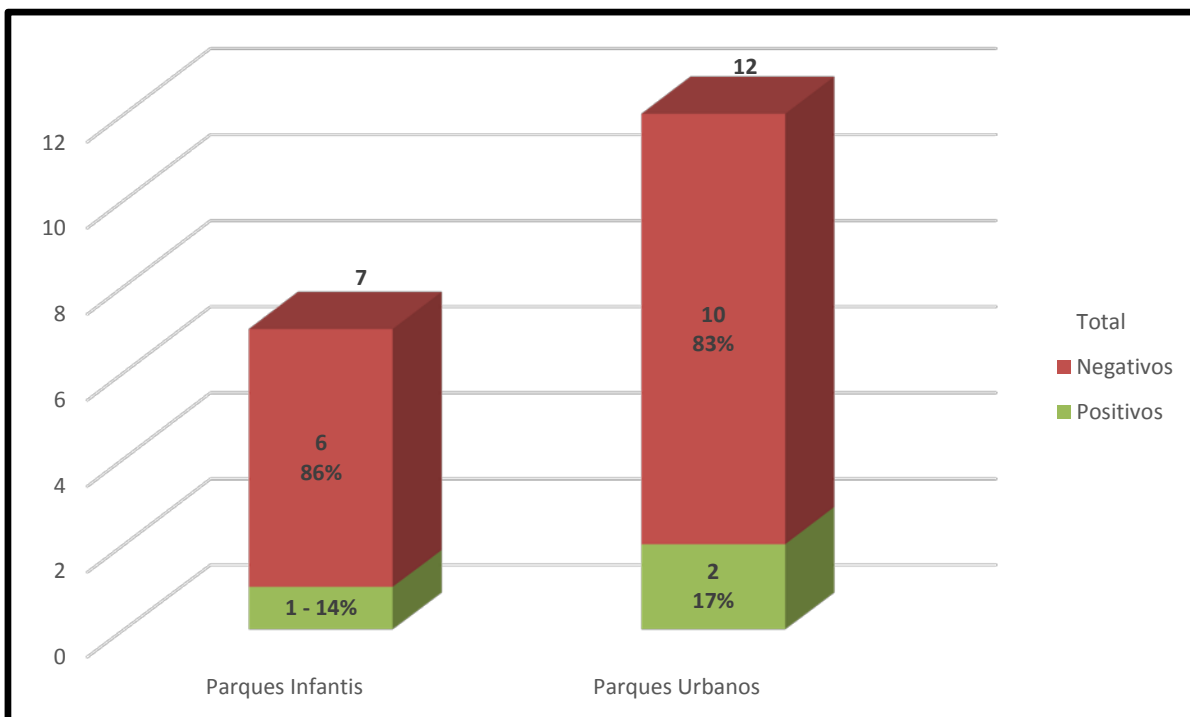


Figura 21 - Comparação entre PI e PU positivos e negativos a ovos de *Toxocara* spp. para amostras fecais.

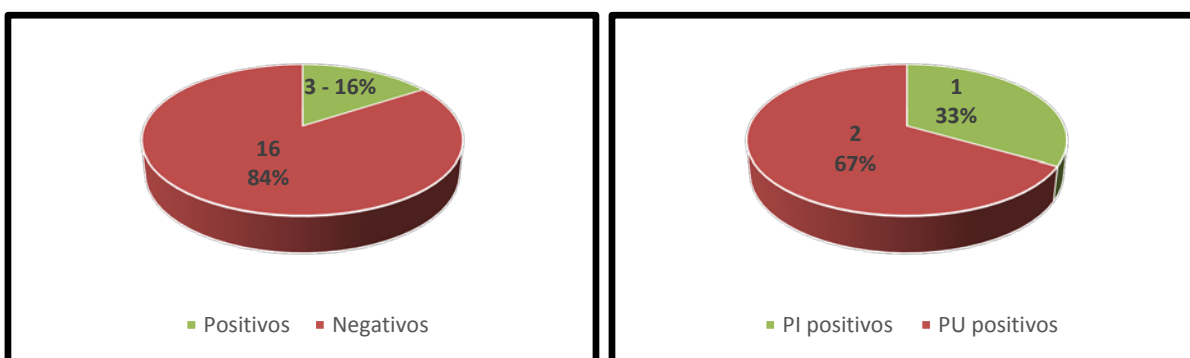


Figura 22 - Parques públicos positivos e negativos a ovos de *Toxocara* spp. para amostras fecais (esquerda). Parques Infantis positivos (PI) e Parques Urbanos e Jardins Públicos positivos (PU) a ovos de *Toxocara* spp. para amostras fecais (direita).

Contabilizando amostras fecais e de solo, obteve-se uma prevalência de 85,7% dos PI (6 em 7), 50,0% nos PU (6 em 12) e uma prevalência global de 63,2% de todos os parques analisados (12 em 19) (Tabela 9).

Tabela 9 - Síntese da prevalência de *Toxocara* spp. nos parques públicos, para amostras de solo e fezes.

	Solo % de parques positivos	Fezes % de parques positivos	Prevalência por tipo de parque
PI	85,7%	14,3%	85,7%
PU	50,0%	16,7%	50,0%
<b>TOTAL (Média)</b>	<b>63,2%</b>	<b>15,8%</b>	<b>63,2%</b>

Os 6 parques infantis positivos a ovos de *Toxocara* spp. nas amostras de solo foram o da Alameda Keil do Amaral, do Jardim Guerra Junqueiro, Silva Porto, do Jardim Marcelino Mesquita, da Quinta da Cabrinha e da Alameda D. Afonso Henriques. Já nas amostras fecais apenas houve um positivo, o Parque Infantil da Alameda Keil do Amaral, que também tinha dado positivo para as amostras de solo. Os 6 parques urbanos e jardins públicos positivos para amostras de solo foram o da Torre de Belém, do Campo Grande, da Gulbenkian, do Parque da Bela Vista, da Quinta de Santo António e de Queluz. Houve 2 PU positivos para amostras fecais, Jardim do Campo Grande e o Parque Urbano de Queluz, ambos positivos para amostras de solo. O jardim do Parque Eduardo VII, jardim da Avenida da Liberdade, parque da Quinta das Conchas, parque do Vale do Silêncio, parque urbano de Miraflores, parque canino de Miraflores e o parque infantil do Jardim Constantino não apresentaram qualquer resultado positivo para ovos de *Toxocara* spp., quer em amostras de solo quer em amostras fecais. Os resultados de cada PI e PU, para as análises de solo e fecais, encontram-se resumidos na Tabela 10 e representados graficamente na Figura 23 e Figura 24.

**Tabela 10 - Síntese dos resultados positivos e negativos para ovos de *Toxocara* spp. em solo e em fezes, por parque público. A negrito os parques públicos positivos em pelo menos uma amostra de solo ou fecal.**

Nº	Parques Públicos	Solo	Fezes
<b>1</b>	<b>Jardim da Torre de Belém</b>	<b>+</b>	-
<b>2</b>	<b>Jardim do Campo Grande</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>3</b>	<b>Jardim da Gulbenkian</b>	<b>+</b>	-
<b>4</b>	<b>Jardim do Parque da Bela Vista</b>	<b>+</b>	-
5	Jardim do Parque Eduardo VII	-	-
6	Jardim da Avenida da Liberdade	-	-
7	Parque da Quinta das Conchas	-	-
8	Parque do Vale do Silêncio	-	-
<b>9</b>	<b>Parque Urbano da Quinta de Santo António</b>	<b>+</b>	-
10	Parque Urbano de Miraflores	-	-
11	Parque Canino de Miraflores	-	-
<b>12</b>	<b>Parque Urbano de Queluz</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>13</b>	<b>Parque Infantil da Alameda Keil do Amaral</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>14</b>	<b>Parque Infantil do Jardim Guerra Junqueiro</b>	<b>+</b>	-
<b>15</b>	<b>Parque Infantil Silva Porto</b>	<b>+</b>	-
<b>16</b>	<b>Parque Infantil do Jardim Marcelino Mesquita</b>	<b>+</b>	-
<b>17</b>	<b>Parque Infantil da Quinta da Cabrinha</b>	<b>+</b>	-
<b>18</b>	<b>Parque Infantil da Alameda D. Afonso Henriques</b>	<b>+</b>	-
19	Parque Infantil do Jardim Constantino	-	-
<b>TOTAL DE POSITIVOS</b>		<b>12</b>	<b>3</b>

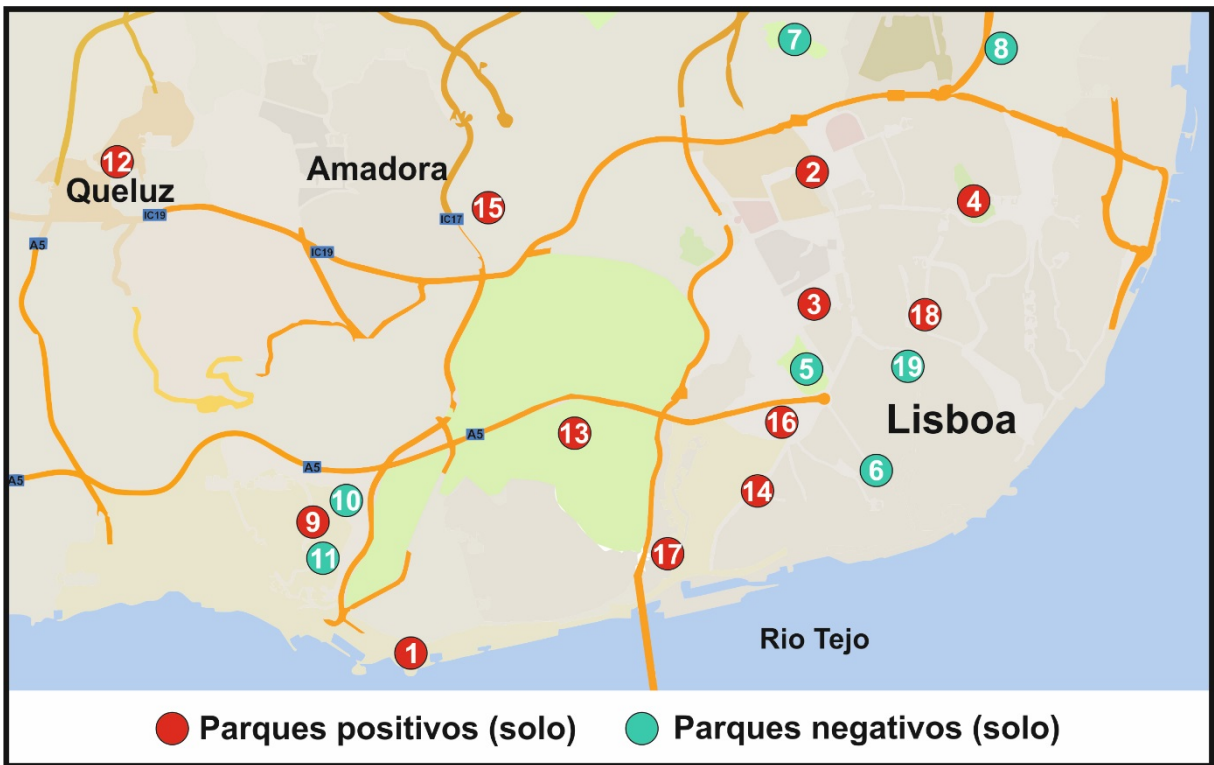


Figura 23 - Mapa de distribuição dos resultados das análises ao solo (numeração relativa à Tabela 10).

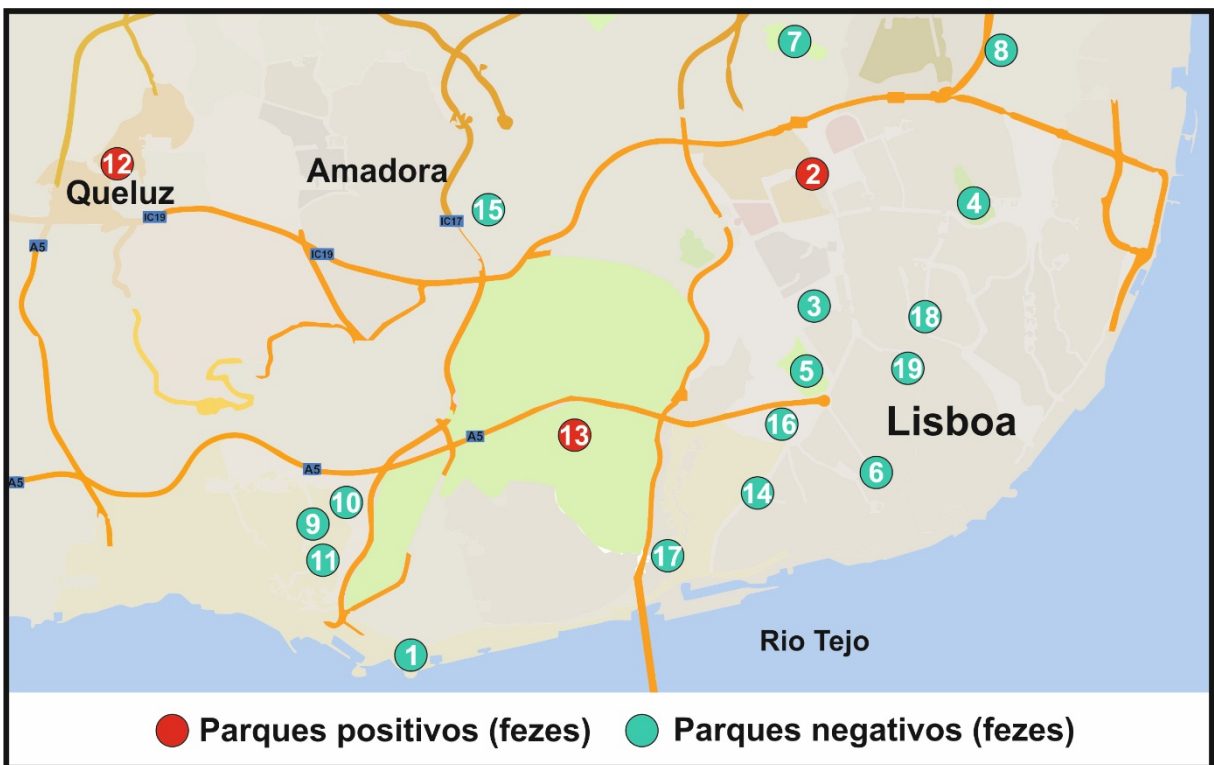


Figura 24 - Mapa de distribuição dos resultados das análises às fezes (numeração relativa à Tabela 10).

### 5.1.2. Resultados por tipo de amostra

Das 151 amostras de solo recolhidas no conjunto dos 19 locais de estudo, 53,0% (n=80) deram positivo para ovos de *Toxocara* spp., sendo que destas 80 amostras positivas 58,8% pertenciam a parques infantis (n=47) e 41,3% a parques urbanos e jardins públicos (n=33) (Figura 25). No que concerne aos parques infantis, 85,5% das amostras recolhidas deram positivo (47 em 55), enquanto nos parques urbanos e jardins públicos as amostras positivas totalizaram 34,4% das amostras recolhidas (33 em 96) (Figura 26).

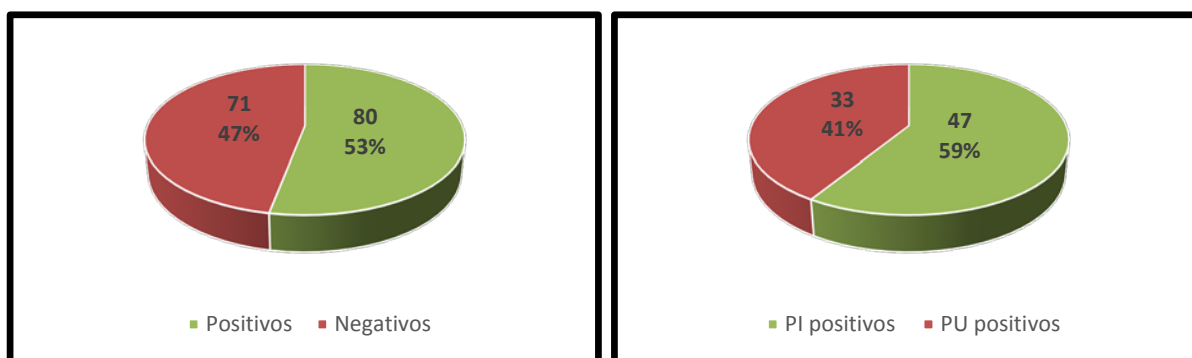


Figura 25 - Amostras de solo positivas e negativas para ovos de *Toxocara* spp. (esquerda). Divisão das amostras positivas por Parques Infantis (PI) e Parques Urbanos e Jardins Públicos (PU) (direita).

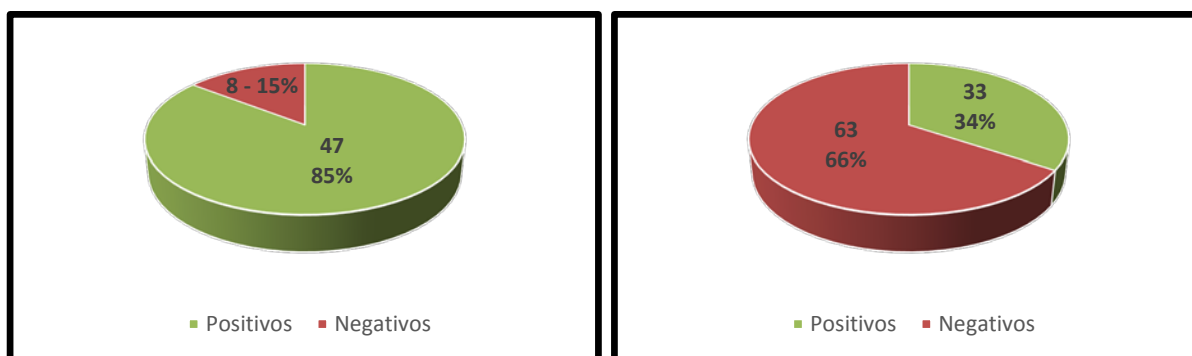


Figura 26 - Amostras de solo recolhidas em Parques Infantis (PI) (esquerda) e amostras de solo recolhidas em parques urbanos e jardins públicos (PU) (direita), positivas e negativas a ovos de *Toxocara* spp.

Das 135 amostras fecais recolhidas no conjunto dos 19 locais de estudo, 5,9% (n=8) deram positivo para ovos de *Toxocara* spp., sendo que destas 8 amostras positivas 50,0% pertenciam a parques infantis (n=4) e 50,0% a parques urbanos e jardins públicos (n=4) (Figura 27). No que concerne aos parques infantis, 12,5% das amostras recolhidas deram positivo (4 em 32), enquanto nos parques urbanos e jardins públicos as amostras positivas totalizaram 3,9% das amostras recolhidas (4 em 103) (Figura 28).

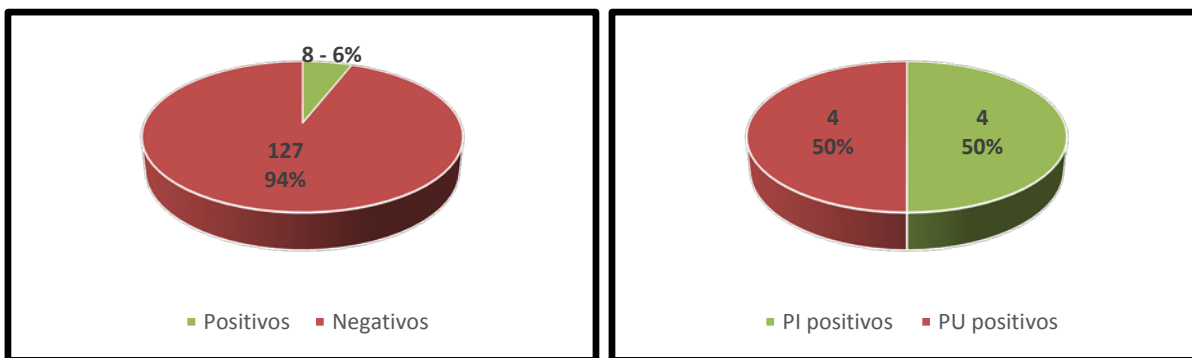


Figura 27 - Amostras fecais positivas e negativas (esquerda). Divisão das amostras positivas por Parques Infantis (PI) e Parques Urbanos e Jardins Públicos (PU) (direita).

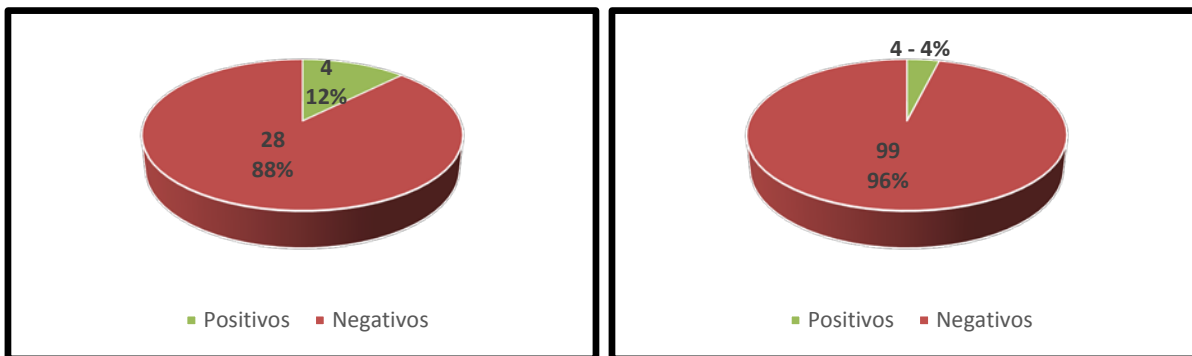


Figura 28 - Amostras fecais recolhidas em Parques Infantis (PI) (esquerda) e amostras fecais recolhidas em parques urbanos e jardins públicos (PU) (direita), positivas e negativas a ovos de *Toxocara* spp.

Tabela 11 - Síntese de resultados das amostras de solo e fecais, por parque público.

Nº	Parque Público	Amostras de Solo			Amostras de Fezes		
		Amostras recolhidas	Amostras positivas		Amostras recolhidas	Amostras positivas	
1	Jardim da Torre de Belém	10	8	80,0%	8	0	0,0%
2	Jardim do Campo Grande	9	7	77,8%	8	3	37,5%
3	Jardim da Gulbenkian	9	7	77,8%	8	0	0,0%
4	Jardim do Parque da Bela Vista	7	5	71,4%	8	0	0,0%
5	Jardim do Parque Eduardo VII	4	0	0,0%	8	0	0,0%
6	Jardim da Avenida da Liberdade	3	0	0,0%	8	0	0,0%
7	Parque da Quinta das Conchas	3	0	0,0%	6	0	0,0%
8	Parque do Vale do Silêncio	3	0	0,0%	7	0	0,0%
9	Parque Urbano Quinta de Santo António	8	1	12,5%	4	0	0,0%
10	Parque Urbano de Miraflores	10	0	0,0%	8	0	0,0%
11	Parque Canino de Miraflores	10	0	0,0%	10	0	0,0%
12	Parque Urbano de Queluz	20	5	25,0%	20	1	5,0%
13	Parque Infantil Alameda Keil do Amaral	8	8	100,0%	8	4	50,0%
14	Parque Infantil Jardim Guerra Junqueiro	10	9	90,0%	4	0	0,0%
15	Parque Infantil Silva Porto	10	9	90,0%	4	0	0,0%
16	Parque Infantil J. Marcelino Mesquita	8	7	87,5%	4	0	0,0%
17	Parque Infantil da Quinta da Cabrinha	8	7	87,5%	4	0	0,0%
18	Parque Infantil Al. D. Afonso Henriques	8	7	87,5%	4	0	0,0%
19	Parque Infantil do Jardim Constantino	3	0	0,0%	4	0	0,0%
	<b>TOTAL</b>	<b>151</b>	<b>80</b>	<b>53,0%</b>	<b>135</b>	<b>8</b>	<b>5,9%</b>

De todos os parques públicos, o que obteve a maior percentagem de amostras de solo positivas foi o parque infantil da Alameda Keil do Amaral, com 100% de amostras positivas, seguido do parque infantil do Jardim Guerra Junqueiro e do parque infantil da mata Silva Porto, ambos com prevalências de 90,0%. Relativamente às amostras fecais positivas o parque público com maior prevalência foi o parque infantil da Alameda Keil do Amaral com 50,0%, seguido do Jardim do Campo Grande com 37,5% e do Parque Urbano de Queluz com 5,0%. Os dados relativos às amostras de solo e fecais respeitantes aos 19 parques públicos em estudo encontram-se resumidos na Tabela 11.

A análise pelo Teste Exato de Fisher permitiu inferir que há uma forte relação de dependência entre o tipo de parque (PI ou PU) e a positividade das amostras de solo para ovos de *Toxocara* spp, ou seja, o fato de uma amostra ser positiva é bastante provável que seja dependente do tipo de parque em que a amostra de solo foi recolhida ( $p < 0,001$ ). Já no caso das amostras fecais, a análise não permitiu encontrar uma relação de dependência significativa entre o tipo de parque e a positividade destas amostras, portanto, o fato de uma amostra fecal ser positiva ou negativa é provavelmente independente do tipo de parque onde a amostra foi colhida ( $p = 0,090$ ).

Ao analisar se as percentagens das amostras positivas em cada PP estavam relacionadas com o número de amostras recolhidas nesse mesmo parque, obteve-se que a percentagem de amostras positivas é independente quer para as amostras de solo, quer para as amostras fecais, ou seja, não há relação entre o número de amostras positivas e o número de amostras de solo e de fezes recolhidas ( $p = 0,650$  e  $p = 1,000$  para amostras de solo e fecais, respetivamente). Estes resultados encontram-se resumidos na Tabela 12.

**Tabela 12 - Resumo dos *p-value* e resultado para cada Teste Exato de Fisher realizado para as análises indicadas (intervalo de confiança 95%).**

<b>Análise efetuada</b>	<b><i>p-value</i></b>	<b><i>Resultado</i></b>
Tipo de parque x Positividade das Amostras de Solo	< <b>0,001</b>	<b>Dependentes</b>
Tipo de parque x Positividade das Amostras Fecais	0,090	Independentes
Nº de amostras de solo recolhidas x % de amostras positivas	0,650	Independentes
Nº de amostras fecais recolhidas x % de amostras positivas	1,000	Independentes

Os resultados obtidos no programa *SPSS Statistics 20* estão listados na íntegra no Anexo 10.

## 5.2. Viabilidade dos ovos recuperados em amostras de solo de parques públicos

As 80 amostras de solo positivas foram completamente processadas, e a totalidade dos ovos encontrados foi recolhida e armazenada em frascos, um por parque. Foram recolhidos no total 570 ovos de *Toxocara* spp. (Figura 29).



Figura 29 - Ovos de *Toxocara* spp. encontrados em amostras de solo dos locais de estudo (original).

Destes, 59,5% (n=339) foram recuperados de amostras de solo provenientes de parques infantis, enquanto 40,5% (n=231) foram recuperados de amostras de solo provenientes de parques urbanos e jardins públicos (Figura 30).

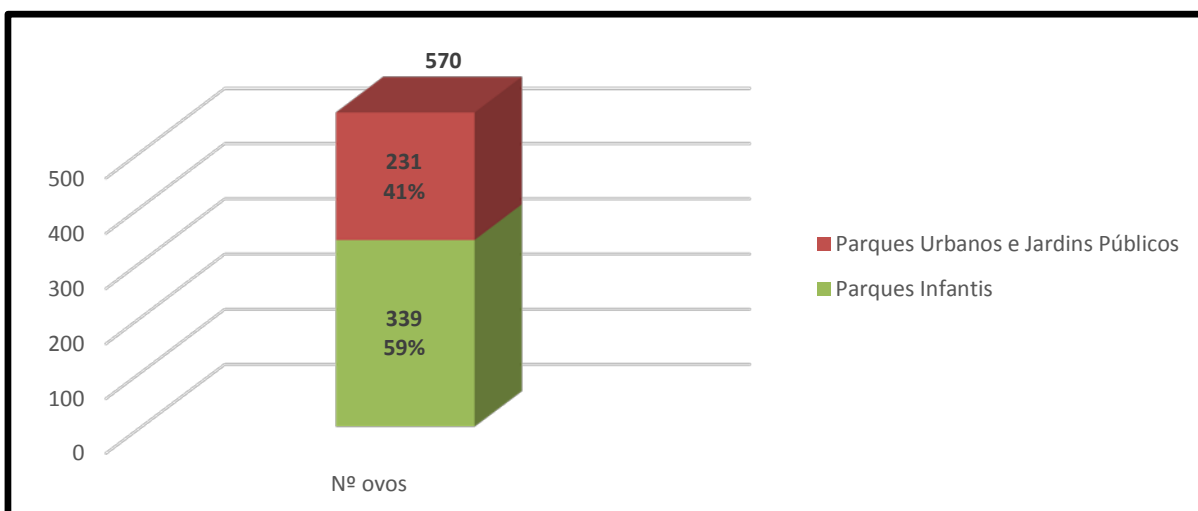
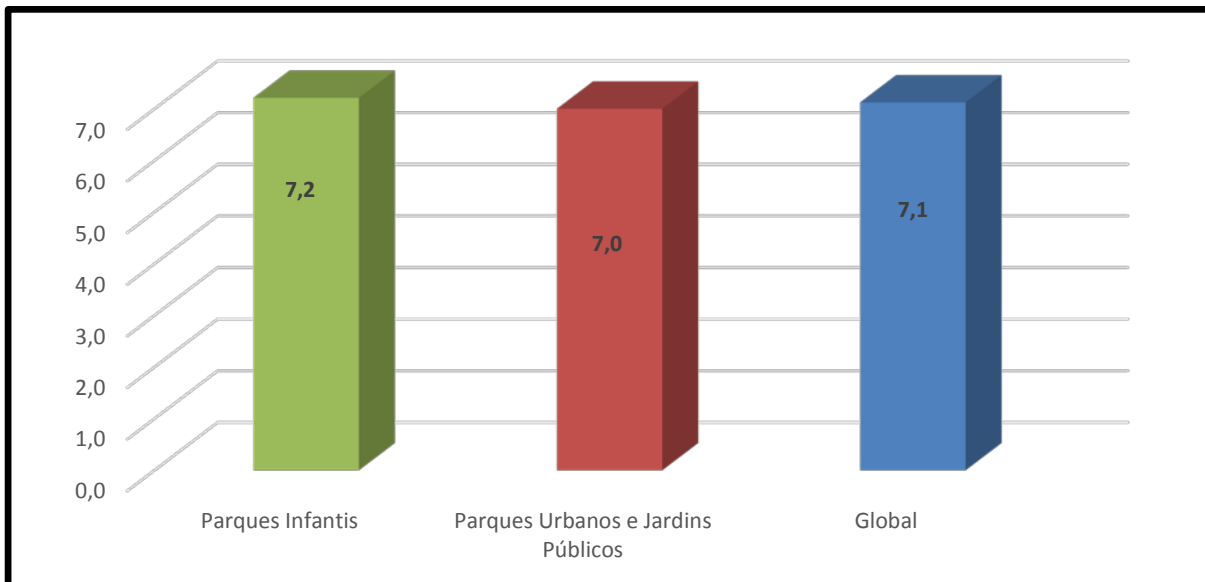


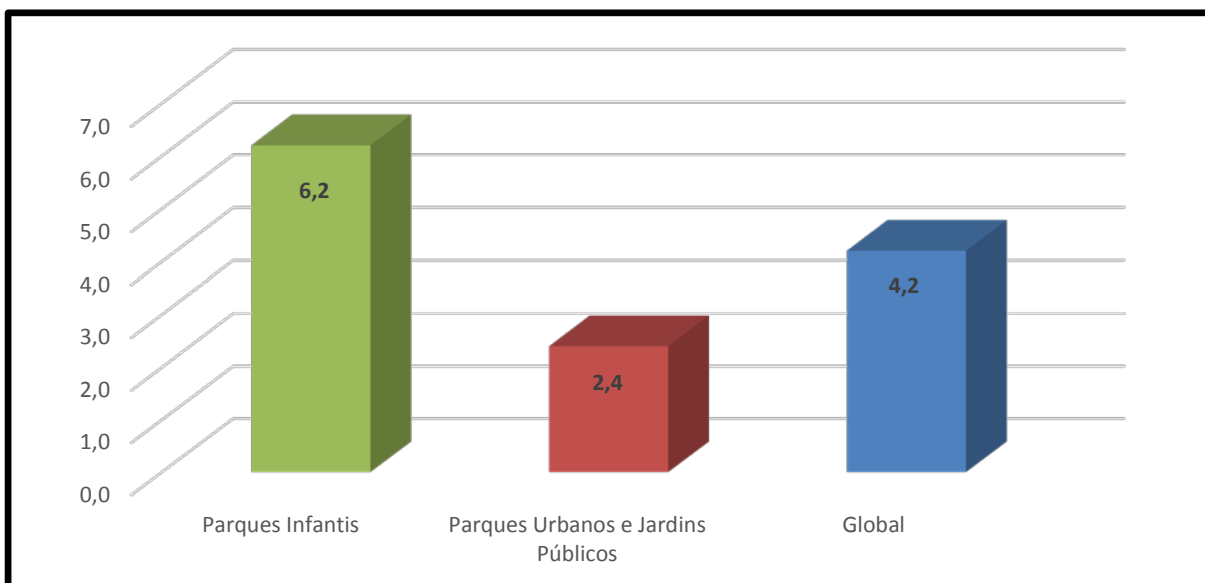
Figura 30 - Distribuição dos ovos de *Toxocara* spp. recuperados, pelos tipos de parque público.

Em média foram recuperados 7,2 ovos por cada cem gramas de solo contaminado proveniente de parques infantis e 7,0 ovos por cada cem gramas de solo contaminado proveniente de parques urbanos e jardins públicos. No global obteve-se uma média de 7,1 ovos de *Toxocara* spp. por cada cem gramas de solo contaminado dos locais de estudo (Figura 31).



**Figura 31 - Médias de ovos por 100g de solo, para cada tipo de parque e média global, referente às amostras de solo contaminado.**

Ao incluir todas as amostras de solo, positivas e negativas, foi obtida uma média de 6,2 ovos por cem gramas de solo estudado proveniente de parques infantis e 2,4 ovos por cem gramas de solo estudado proveniente de parques urbanos e jardins públicos. No global obteve-se uma média de 4,2 ovos por cem gramas de solo estudado (Figura 32).



**Figura 32 - Médias de ovos por 100g de solo, para cada tipo de local e média global, referente a todas as amostras de solo do estudo.**

Os parques que registaram o maior número de ovos por cem gramas de solo foram o Parque Urbano de Queluz com uma média de 17 ovos/100g solo, seguido do Parque da Bela Vista com 8,8 ovos/100g solo e o parque infantil Silva Porto e parque infantil da Quinta da Cabrinha, ambos com 8,6 ovos/100g solo (Tabela 13).

Dos 570 ovos de *Toxocara* spp. recuperados das amostras de solo recolhidas, 319 desenvolveram uma larva L3 e encontravam-se viáveis após 60 dias de maturação (Figura 33), o que corresponde a uma taxa de viabilidade de 56,0% dos ovos recuperados.



Figura 33 - Ovos de *Toxocara* spp. completamente desenvolvidos com larva L3 viva no seu interior, após 60 dias de maturação (original).

Todos os parques públicos de onde foram recuperados ovos tiveram pelo menos um ovo viável após 60 dias de maturação. Os parques públicos com maior taxa de viabilidade foram o Parque Urbano de Queluz com 68,2%, seguido do jardim do Parque da Bela Vista com 65,9% e do Parque Infantil da Alameda Keil do Amaral com 65,7%. No global, os parques infantis reportaram uma taxa de viabilidade de ovos recolhidos de 53,1% (180 em 339), enquanto os parques urbanos e jardins públicos reportaram uma taxa de viabilidade de 60,2% (139 em 231). Todos os resultados respeitantes aos ovos recolhidos e viáveis encontram-se sintetizados na Tabela 13.

**Tabela 13 - Síntese de resultados dos ovos recuperados e viáveis, por parque público.**

Nº	Parque Público	Amostras recolhidas	Amostras positivas	Ovos recuperados	Ovos/100g solo	Ovos viáveis após 60 dias	% ovos viáveis
1	Jardim da Torre de Belém	10	8	37	4,6	24	64,9%
2	Jardim do Campo Grande	9	7	40	5,7	19	47,5%
3	Jardim da Gulbenkian	9	7	21	3,0	8	38,1%
4	Jardim do Parque da Bela Vista	7	5	44	8,8	29	65,9%
5	Jardim do Parque Eduardo VII	4	0	0	0,0	0	0,0%
6	Jardim da Avenida da Liberdade	3	0	0	0,0	0	0,0%
7	Parque da Quinta das Conchas	3	0	0	0,0	0	0,0%
8	Parque do Vale do Silêncio	3	0	0	0,0	0	0,0%
9	Parque Urbano Quinta de Santo António	8	1	4	4,0	1	25,0%
10	Parque Urbano de Miraflores	10	0	0	0,0	0	0,0%
11	Parque Canino de Miraflores	10	0	0	0,0	0	0,0%
12	Parque Urbano de Queluz	20	5	85	17,0	58	68,2%
13	Parque Infantil Alameda Keil do Amaral	8	8	67	8,4	44	65,7%
14	Parque Infantil Jardim Guerra Junqueiro	10	9	81	9,0	50	61,7%
15	Parque Infantil Silva Porto	10	9	77	8,6	31	40,3%
16	Parque Infantil J. Marcelino Mesquita	8	7	31	4,4	14	45,2%
17	Parque Infantil da Quinta da Cabrinha	8	7	60	8,6	36	60,0%
18	Parque Infantil Al. D. Afonso Henriques	8	7	23	3,3	5	21,7%
19	Parque Infantil do Jardim Constantino	3	0	0	0,0	0	0,0%
<b>TOTAL</b>		151	80	570	7,1	319	55,96%

As variáveis da Tabela 13, depois de analisadas pelo teste de Pearson, revelaram que existe uma correlação positiva de grau forte entre a percentagem de ovos viáveis após 60 dias de incubação e o número de ovos recuperados ( $\rho=0.647$ ), ou seja, há uma relação estatisticamente relevante que indica que quanto mais ovos são recuperados numa amostra, maior a taxa de ovos que atingem a fase de L3 após 60 dias. Também a quantidade de ovos recuperados e a quantidade de ovos viáveis têm uma correlação positiva de grau forte com o número de amostras de solo recolhidas ( $\rho=0,654$  e  $0,666$  respetivamente), indicando que, quantas mais amostras de solo são recolhidas, mais ovos recuperados e viáveis são obtidos. Os ovos recuperados demonstram uma correlação positiva de grau regular com o tipo de parque (PU ou PI) onde foram recolhidas as amostras de solo ( $\rho=0,377$ ), indicando que a haver associação entre estas duas variáveis, esta não é alta. Já os ovos viáveis demonstraram apenas uma correlação positiva de grau fraco com o tipo de parque ( $\rho=0,275$ ), indicando que a associação entre estas duas variáveis é praticamente inexistente. As análises estatísticas demonstraram ainda que a quantidade de ovos recuperados e a quantidade de ovos viáveis é independente do PP onde as amostras são colhidas, com uma correlação positiva de grau fraco entre as variáveis (Tabela 14).

**Tabela 14 - Quadro de valores do coeficiente de correlação de Pearson ( $\rho$ ) para todas as variáveis testadas relativas à viabilidade e recuperação de ovos de *Toxocara* spp. em amostras de solo.**

	<i>Nº do Parque</i>	<i>Ovos Recuperados</i>	<i>Ovos Viáveis</i>	<i>Tipo de Parque</i>	<i>Nº Colheitas Solo</i>
<b>Nº do Parque</b>	1,000 <sup>a</sup>				
<b>Ovos Recuperados</b>	0,172 <sup>d</sup>	1,000 <sup>a</sup>			
<b>Ovos Viáveis</b>	0,118 <sup>d</sup>	0,647 <sup>*b</sup>	1,000 <sup>a</sup>		
<b>Tipo de Parque</b>		0,377 <sup>c</sup>	0,275 <sup>d</sup>	1,000 <sup>a</sup>	
<b>Nº Colheitas Solo</b>		0,654 <sup>b</sup>	0,666 <sup>b</sup>		1,000 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> – Correlação positiva perfeita

<sup>c</sup> – Correlação positiva de grau regular

<sup>b</sup> – Correlação positiva de grau forte

<sup>d</sup> – Correlação positiva de grau fraco

\* - Este valor foi calculado com a percentagem de ovos viáveis por amostra, e não com o número de ovos viáveis

Todos os resultados respeitantes aos subcapítulos 5.1 e 5.2 encontram-se listados na íntegra nos Anexos 7 e 8, com exceção dos resultados estatísticos que se encontram no Anexo 10.

### **5.3. Sazonalidade da infeção do solo por ovos de *Toxocara* spp.**

Foram recolhidas 12 amostras de solo, todas positivas a *Toxocara* spp., uma por cada mês do estudo. Ao todo, das 12 amostras, foram recuperados 84 ovos perfazendo uma média de 7,0 ovos/100g solo. Dos 84 ovos recuperados 63,1% (n=53) desenvolveram uma larva L3 e encontravam-se viáveis após 60 dias de maturação. Os meses de Fevereiro e Maio de 2013 foram os que registaram maior número de ovos recuperados, respetivamente 11 e 10 ovos/100g solo. O mês de Setembro de 2013 foi o que registou maior taxa de viabilidade com 100% dos ovos a maturarem completamente, seguido dos meses de Julho e Junho com 83,3% e 71,4%, respetivamente.

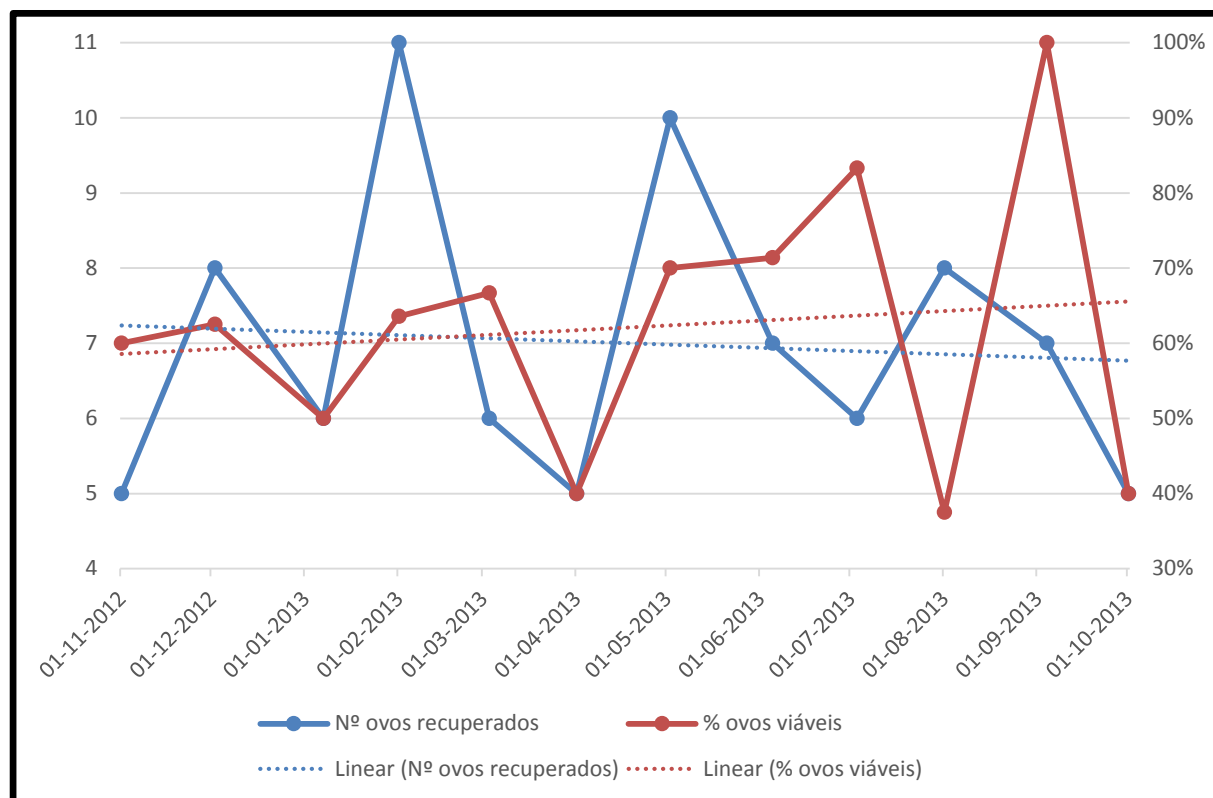
Segundo os dados divulgados pelo Instituto Português do Mar e da Atmosfera, as maiores temperaturas fizeram-se sentir nos quinze dias anteriores às recolhas de Agosto, Julho e Setembro, respetivamente com 23°C, 22°C e 21°C. As temperaturas mais baixas fizeram-se sentir nos meses de Fevereiro com 11°C e em Dezembro e Janeiro, ambos com 12°C. Relativamente à precipitação acumulada, os maiores valores registaram-se nos 15 dias anteriores à recolha do mês de Dezembro com 180mm, Abril com 150mm e Fevereiro com 145mm. Os valores mais baixos foram registados nas colheitas de Maio, Agosto e Setembro, todos sem precipitação registada. Os dados encontram-se sintetizados na Tabela 15.

**Tabela 15 - Síntese de resultados referentes ao estudo de sazonalidade. Dados de TM e PA divulgados pelo Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA, 2015).**

Nº	Data Colheita	TM (°C)	PA (mm)	Resultado	Ovos recuperados	Ovos viáveis após 60 dias	% ovos viáveis
1	01-11-2012	13	140	+	5	3	60,0%
2	02-12-2012	12	180	+	8	5	62,5%
3	07-01-2013	12	20	+	6	3	50,0%
4	01-02-2013	11	145	+	11	7	63,6%
5	03-03-2013	13	60	+	6	4	66,7%
6	01-04-2013	15	150	+	5	2	40,0%
7	02-05-2013	16	0	+	10	7	70,0%
8	05-06-2013	19	15	+	7	5	71,4%
9	03-07-2013	22	3	+	6	5	83,3%
10	01-08-2013	23	0	+	8	3	37,5%
11	04-09-2013	21	0	+	7	7	100,0%
12	01-10-2013	19	60	+	5	2	40,0%

TM - Temperatura média nos 15 dias anteriores à recolha. | PA - Precipitação acumulada nos 15 dias anteriores

Comparando diretamente o número de ovos recuperados com a percentagem de ovos viáveis, os dados parecem apresentar uma distribuição aleatória e comportamento misto, ou seja, há meses em que a percentagem de ovos viáveis segue a mesma tendência que o número de ovos recuperados, enquanto noutros meses seguem tendências opostas. Ao traçar-se uma linha de tendência linear para cada conjunto de dados, observou-se ainda que ao longo do trabalho a quantidade de ovos diminuiu ligeiramente, enquanto a percentagem de ovos viáveis aumentou (Figura 34).



**Figura 34 - Comparação entre o número de ovos recuperados e a respetiva percentagem de ovos viáveis após 60 dias de incubação, para cada amostra mensal.**

Os testes de Correlação de Pearson realizados sobre os dados da Tabela 15 revelaram uma correlação positiva de grau regular entre o mês de colheita e os ovos recuperados ( $\rho = 0,542$ ), o que indica que a quantidade de ovos recuperados pode ser em parte dependente do mês de colheita, mas apenas em parte. Todas as outras variáveis demonstraram uma correlação de grau fraco entre si, indicando que o número de ovos recuperados não é dependente nem da temperatura nem da precipitação médias dos quinze dias anteriores à colheita, e que a quantidade de ovos viáveis não é dependente nem dos ovos recuperados, nem da temperatura, precipitação ou mês de colheita (Tabela 16).

**Tabela 16 - Quadro de valores do coeficiente de correlação de Pearson ( $\rho$ ) para todas as variáveis testadas relativas à sazonalidade da infecção de ovos de *Toxocara* spp. em amostras de solo.**

	<i>Ovos recuperados</i>	<i>Ovos viáveis</i>
<b>Ovos recuperados</b>	1,000 <sup>a</sup>	
<b>Ovos viáveis</b>	-0,049 <sup>d</sup>	1,000 <sup>a</sup>
<b>Temperatura média</b>	-0,152 <sup>d</sup>	0,015 <sup>c</sup>
<b>Precipitação média</b>	0,083 <sup>c</sup>	-0,186 <sup>d</sup>
<b>Mês de Colheita</b>	0,542 <sup>b</sup>	-0,101 <sup>d</sup>

<sup>a</sup> – Correlação positiva perfeita

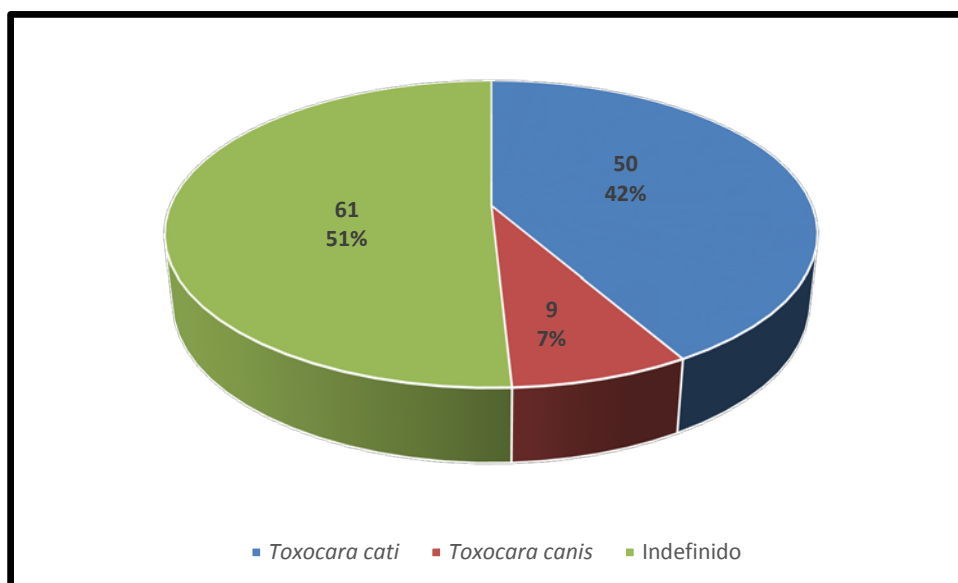
<sup>b</sup> – Correlação positiva de grau regular

<sup>c</sup> – Correlação positiva de grau fraco

<sup>d</sup> – Correlação negativa de grau fraco

#### 5.4. Identificação da espécie dos ovos recuperados

Para cada um dos 12 parques públicos positivos a ovos de *Toxocara* spp. foram selecionados aleatoriamente 10 ovos, perfazendo um total de 120 ovos de *Toxocara* spp. analisados e medidos. Destes 120 ovos, 50 foram classificados como *Toxocara cati* (41,7%), 9 como *Toxocara canis* (7,5%) e os restantes 61 como Indefinidos (50,8%). O conjunto dos dados encontra-se ilustrado na Figura 35 e Tabela 17.



**Figura 35 - Classificação dos ovos analisados, com base na medida do seu eixo maior e menor.**

**Tabela 17 - Síntese de resultados referentes à classificação dos ovos de *Toxocara* spp. com base nas medidas do seu eixo maior e menor.**

<b>Parque Público</b>	<b><i>T. canis</i></b>	<b><i>T. cati</i></b>	<b>Indefinido</b>
Parque Infantil da Alameda Keil do Amaral	1	4	5
Parque Infantil do Jardim Guerra Junqueiro	1	5	4
Parque Infantil Silva Porto	1	4	5
Parque Infantil do Jardim Marcelino Mesquita	0	3	7
Parque Infantil da Quinta da Cabrinha	1	2	7
Parque Infantil da Alameda D. Afonso Henriques	1	4	5
<b>Subtotal</b>	<b>5 (8,3%)</b>	<b>22 (36,7%)</b>	<b>33 (55,0%)</b>
Jardim da Torre de Belém	1	3	6
Jardim do Campo Grande	2	3	5
Jardim da Gulbenkian	0	4	6
Jardim do Parque da Bela Vista	0	4	6
Parque Urbano de Queluz	0	10	0
Parque Urbano da Quinta de Santo António	1	4	5
<b>Subtotal</b>	<b>4 (6,6%)</b>	<b>28 (46,7%)</b>	<b>28 (46,7%)</b>
<b>TOTAL</b>	<b>9 (7,5%)</b>	<b>50 (41,7%)</b>	<b>61 (50,8%)</b>

Se retirarmos os indefinidos e trabalharmos apenas com os positivos para *T. cati* e *T. canis*, verifica-se que há 5,5 vezes mais ovos da primeira espécie (50) em relação à segunda (9).

Apenas o Parque Urbano de Queluz obteve resultados homogêneos, tendo todos os ovos sido classificados como *Toxocara cati*. Em todos os outros parques os resultados são mistos. Os ovos classificados como *Toxocara canis* obtiveram valores máximos para o eixo maior de 92µm e para o eixo menor 89µm. O valor mínimo para o eixo maior foi 83µm e para o eixo menor 72µm. O valor médio de eixo maior foi 88,3µm e de eixo menor foi 76,8µm. Relativamente aos ovos classificados de *Toxocara cati*, o valor máximo medido no eixo maior foi 75µm e no eixo menor de 65µm. O valor mínimo medido para o eixo maior foi de 69µm e para o eixo menor de 58µm. O valor médio medido para o eixo maior foi de 72,3µm e para o eixo menor de 62,6µm. Para os ovos classificados como indefinidos o valor máximo medido de eixo maior foi de 91µm e de eixo menor 75µm. Os valores mínimos medidos de eixo maior foram 61µm e de eixo menor 61µm. A média desta categoria foi para o eixo maior 80,4µm e para o eixo menor 68,0µm (Tabela 18 e Figura 36).

**Tabela 18 - Valores máximos, mínimos e médios para os eixos maior e menor dos ovos de *Toxocara* spp. em cada uma das 3 classificações.**

<b>Classificação</b>	<b>Eixo maior (µm)</b>			<b>Eixo menor (µm)</b>		
	<b>Máximo</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Média</b>	<b>Máximo</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Média</b>
<b><i>Toxocara canis</i></b>	92	83	88,3	89	72	76,8
<b><i>Toxocara cati</i></b>	75	69	72,3	65	58	62,6
<b>Indefinido</b>	91	61	80,4	75	61	68,0
<b>TOTAL</b>	<b>92</b>	<b>61</b>	<b>77,7</b>	<b>89</b>	<b>58</b>	<b>66,4</b>

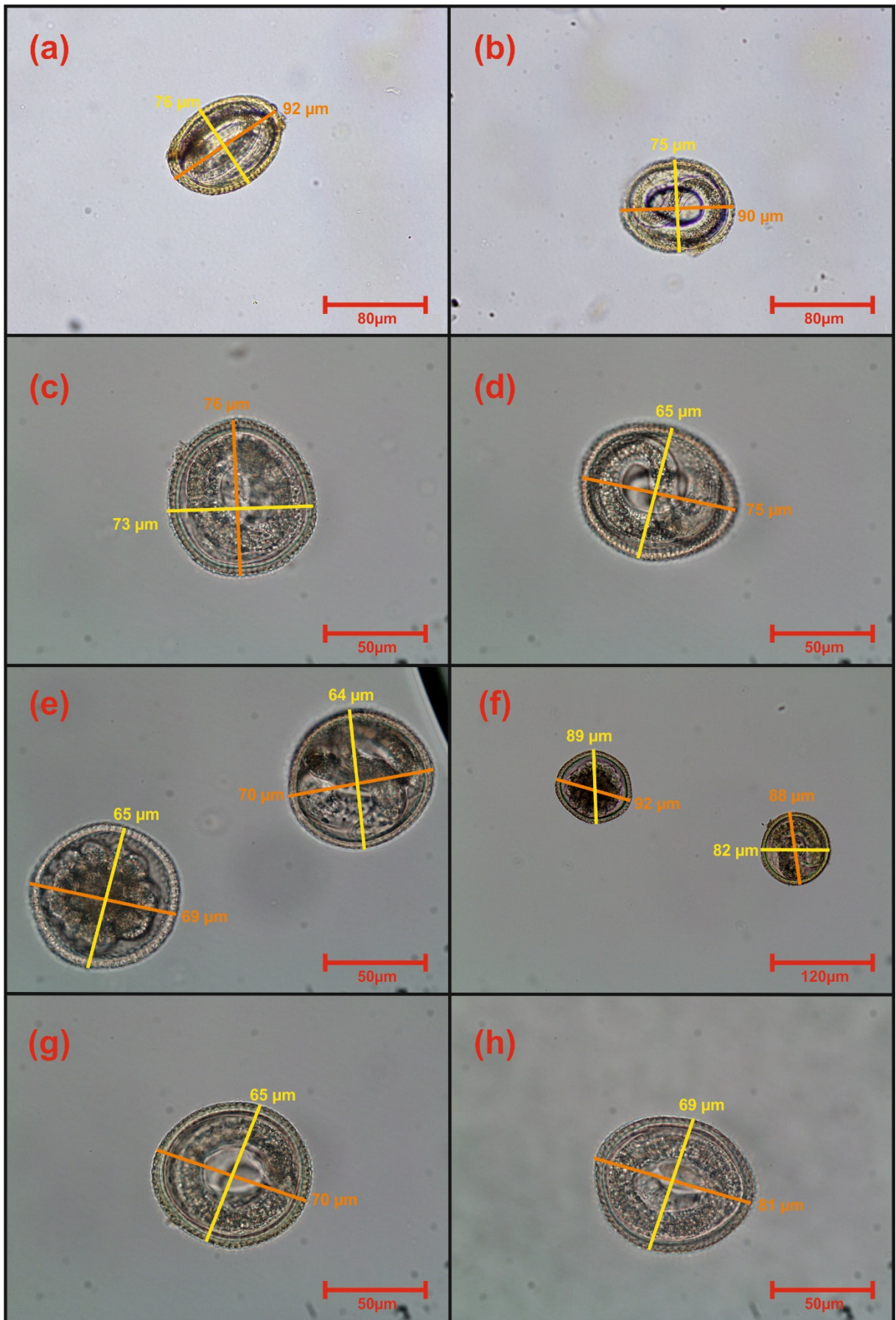


Figura 36 - Exemplos de ovos de *Toxocara* spp. medidos para classificação da espécie (eixo maior a laranja e eixo menor a amarelo). Imagens a), b) e f) classificadas como *T. canis*; d), e) e g) como *T. cati*; c) e h) como Indefinido (original).

O valor do teste de Correlação de Pearson calculado não demonstrou qualquer relação significativa entre a espécie de ovos de *Toxocara* spp. identificada e o parque em que as amostras foram recolhidas ( $\rho = -0,050$ ), podendo por isso considerar-se que a espécie é independente dos PP analisados.

Todos os resultados respeitantes a este subcapítulo 5.4 encontram-se listados na íntegra no Anexo 9.

## 6. Discussão

### 6.1. Prevalência de ovos de *Toxocara* spp. no solo de parques públicos da área da Grande Lisboa

De acordo com os resultados obtidos, existe uma prevalência elevada de ovos de *Toxocara* spp. no solo dos parques públicos da área da Grande Lisboa, com 63,2% dos parques estudados e 53,0% das amostras de solo a apresentarem resultados positivos. Estes valores são substancialmente superiores aos reportados em 2006 no conselho do Seixal (Fernandes, 2006) que obteve apenas 40,4% dos parques e 10,3% das amostras positivas. São também bastante superiores a todos os estudos europeus (Dubná, Langrová, Jankovská, et al., 2007; Gawor et al., 2008; Dado et al., 2012) e à maioria dos estudos extra continentais (Paul et al., 1988; Castillo et al., 2000; Matsuo & Nakashio, 2005), situando-se em linha com os valores reportados na Venezuela em 2008 (Devera et al., 2008) e bastante abaixo dos valores reportados no Japão em 1993 (Uga, 1993). A análise estatística indica que o número de amostras recolhidas foi superior ao mínimo necessário, não influenciando a percentagem de amostras positivas. Como tal os valores obtidos são válidos. Os resultados vêm desta forma alertar para uma possível contaminação descontrolada do solo de parques públicos da área da Grande Lisboa por este parasita e como tal, uma elevada probabilidade de infeção para animais e humanos.

Estes valores revelam ainda uma disparidade quando analisados separadamente para PI e PU, com os PI a obter uma prevalência de 85,7%, com 85,5% de amostras positivas, e os PU com uma prevalência de 50,0%, com 34,4% de amostras positivas. Estes dados são corroborados pela análise estatística que indica que as amostras positivas de solo são dependentes do tipo de parque. Embora a prevalência nos PU seja preocupante e continue mais elevada que a média dos estudos existentes, a prevalência para os PI é extremamente alarmante e crítica do ponto de vista da Saúde Pública, por serem locais que crianças e jovens utilizam frequentemente e onde, pela própria natureza do local, os mesmos estão em constante contacto com a areia levando muitas vezes a cabo ações de geofagia (Schmidt & Roberts, 2008). A prevalência nos PI encontra-se próxima dos valores mais elevados reportados mundialmente e em relação aos valores de trabalhos publicados dos últimos 20 anos, é mesmo o mais elevado (Tabela 19).

O facto de todos os PI, à exceção do parque infantil do Jardim Constantino, apresentarem prevalências superiores às apresentadas nos PU indica que na cidade de Lisboa, as caixas de areia usadas no mobiliário urbano para crianças são desadequadas, aumentando assim o risco de problemas de Saúde Pública numa faixa etária já por si mais suscetível a infeções (Overgaauw, 1997b). Embora não existam muitos estudos a comparar as prevalências entre PI

e PU, os resultados obtidos vão de encontro aos publicados até ao momento na bibliografia internacional, que reportam prevalências superiores em PU do que em PI (Dubná, Langrová, Jankovská, et al., 2007; Gawor et al., 2008), o que indica que os cercados, proteção física e medidas de desinfeção atuais destas caixas de areia, não são suficientes para manter os riscos de contaminação/infeção parasitária a um nível aceitável.

**Tabela 19 - Estudos de prevalência de ovos de *Toxocara* spp. em caixas de areia de parques infantis, em comparação com o estudo atual, e ordenados pelo valor da prevalência.**

Local	Ano	Prevalência	Referência
Japão	1993	92,3%	(Uga, 1993)
<b>Portugal</b>	<b>2015</b>	<b>85,7%</b>	<b>Estudo atual</b>
Polónia	2013	81,2%	(Blaszkowska et al., 2013)
Brasil	2014	50,7%	(Sprenger et al., 2014)
Rep. Checa	2007	11,9%	(Dubná, Langrová, Jankovská, et al., 2007)
Polónia	2008	10,7%	(Gawor et al., 2008)
Japão	2005	8%	(Matsuo & Nakashio, 2005)

Todos os parques infantis com caixa de areia estudados são cercados por vedações altas e apertadas e possuem porta que ou está constantemente fechada ou pelo menos é trancada à noite. Desta forma é muito difícil a entrada de cães nestes locais. Como tal, seria de esperar que a taxa de infeção do solo fosse mais elevada nos parques urbanos e jardins públicos, locais que estão sempre abertos e são por excelência sítios onde os proprietários de canídeos os levam a passear. Como os valores apurados vão contra o que seria de esperar e contra os valores dos estudos internacionais, é de supor que as comunidades de gatos errantes tenham um elevado contributo na infeção das caixas de areia, muito maior que a dos canídeos (Nijse et al., 2015).

Por todas estas razões, as entidades competentes devem ser alertadas, no sentido de intentarem ações que visem a substituição das caixas de areia ainda existentes no mobiliário urbano.

## **6.2. Comparação da prevalência de ovos de *Toxocara* spp. das amostras fecais com as amostras de solo**

A prevalência de ovos de *Toxocara* spp. em amostras fecais dos parques em estudo revelou-se bastante inferior ao das amostras de solo. Apenas um PI e dois PU foram considerados positivos tendo em conta as amostras fecais, contabilizando 15,8% dos parques estudados, contra os 63,2% positivos para as amostras de solo. Desta forma foram vários os parques reportados como positivos, mas sem qualquer amostra fecal positiva. No entanto todos os parques que reportaram

amostras fecais positivas também são positivos a amostras de solo. Estes resultados estão de acordo com os divulgados na bibliografia mundial, que reportam prevalências em amostras fecais muito mais reduzidas do que as das amostras de solo (Tabela 20).

**Tabela 20 - Comparação entre amostras de solo e fecais positivas a *Toxocara* spp. para os mesmos locais de estudo.**

Local	Ano	Amostras de Solo Positivas	Amostras Fecais Positivas	Referência
EUA	1988	22%	5%	(Paul et al., 1988)
Portugal	2006	10,8%	1,3%	(Fernandes, 2006)
Venezuela	2008	55%	16,7%	(Devera et al., 2008)
Portugal	2015	85,5%	5,9%	Estudo atual

Ainda assim, no presente trabalho é onde assinalamos uma maior desproporção entre o número de amostras de solo e de fezes positivas, especialmente quando comparada com outros autores mencionados na Tabela 20. E quando apenas 5,9% das amostras fecais recolhidas deram positivo para *Toxocara* spp., este valor que vai ao encontro das baixas prevalências reportadas no nosso país para amostras fecais (Carvalho-Varela et al., 1996; Madeira de Carvalho, Pereira da Fonseca, et al., 2005; Vaz et al., 2005; Duarte et al., 2010; Ferreira et al., 2011; Lebre, 2011; Mateus et al., 2014; Neves et al., 2014).

Este valor, quando posto em perspetiva com os 85,5% de amostras de solo positivas, alerta para o facto de os anteriores estudos respeitantes à prevalência de *Toxocara* spp. nos espaços públicos de Lisboa, e que apenas analisaram amostras fecais, poderem estar subvalorizados. Esta realidade representa um elevado risco de exposição para animais e humanos, tendo os parques públicos um papel importante na perpetuação desta infeção (Overgaauw, 1997b; Nijssse et al., 2015).

São várias as razões que podem explicar a disparidade entre a prevalência em solo e em fezes, sendo as duas mais prováveis relacionadas com o ambiente e com o hospedeiro definitivo. Por um lado, devido à natureza dinâmica dos PP com centenas ou milhares de visitantes, rega automática diária, ações de limpeza camarárias e a ação dos elementos naturais, especialmente da chuva, vento e sol, as amostras fecais rapidamente se degradam e incorporam o solo, tornando-se indetetáveis para ações de recolha fecais. No entanto os seus constituintes, tais como ovos de parasitas, ficam retidos no solo onde sofrem bioacumulação. Por outro lado, e assumindo que a comunidade de gatos errantes tem um muito maior contributo que a

comunidade canídea na dispersão dos ovos de *Toxocara* spp. (Nijssse et al., 2015), os resultados obtidos fazem sentido, pois os estudos ambientais geralmente só são baseados na colheita de fezes de canídeos (Paul et al., 1988; Fernandes, 2006; Devera et al., 2008).

Torna-se desta forma importante realizar mais e novos estudos sobre a importância ponderada de ambas as espécies, cão e gato, na disseminação desta infecção nos parques públicos para, com este conhecimento, elaborar um plano otimizado que permita às entidades competentes tomar medidas mais eficientes.

### 6.3. Viabilidade de infecção dos ovos recolhidos

A taxa de viabilidade dos ovos estudados foi de 56,0%, significando que mais de metade dos ovos presentes no solo têm possibilidade e capacidade para se desenvolver completamente até possuir capacidade infetante. Encontraram-se dados estatísticos que demonstram que a taxa de ovos viáveis em cada amostra é dependente da quantidade de ovos recuperados, o que pode indicar que quanto mais alta a prevalência de ovos num determinado PP, mais elevada é a probabilidade dos ovos existentes serem infetantes. Estes valores traduzem-se por uma média de 4,0 ovos com capacidade infetante presentes em cada cem gramas de solo das zonas contaminadas e por uma média de 2,4 ovos com capacidade infetante presentes em cada cem gramas de solo de todos os PP estudados. Estes resultados estão em linha com os poucos estudos existentes sobre o assunto (Tabela 21).

**Tabela 21 - Comparação da taxa de viabilidade do estudo atual com outros estudos internacionais.**

Local	Ano	Taxa viabilidade	Referência
Japão	1993	63%	(Uga, 1993)
<b>Portugal</b>	<b>2015</b>	<b>56,0%</b>	<b>Estudo atual</b>
Rep. Checa	2007	46,90%	(Dubná, Langrová, Jankovská, et al., 2007)

Estes números são de difícil interpretação. Matematicamente são valores demasiado baixos para serem alvo de preocupação. Se um indivíduo ingerisse dez gramas de solo, apenas em 20% das situações entraria em contacto com *Toxocara* spp, e seria apenas um único ovo. Além do mais, o número de ovos que um indivíduo saudável necessitaria de ingerir para que uma das larvas escapasse ao sistema imunitário e causasse infecção, equivale a algumas centenas de gramas de solo ingerido. Por outro lado, do ponto de vista da saúde pública, bastará um único ovo para, em teoria, causar infecção, principalmente em indivíduos não imunocompetentes. Sabe-se ainda que pequenas infecções, causadas por poucos ou apenas um parasita, são onde se observa

maiores danos para o hospedeiro paratênico, incluindo maior probabilidade de LMO (Schmidt & Roberts, 2008; Dutra et al., 2014).

Estes dados devem por isso ser analisados com a devida precaução e ter diferente ponderação consoante a situação. Se para um parque urbano ou jardim público os números podem ser considerados poucos relevantes devido à sua dimensão e tipo de solo, num jardim infantil com população de risco deverão ser considerados de extrema importância.

#### **6.4. Sazonalidade da prevalência de ovos de *Toxocara* spp. no solo**

Foram recuperados 84 ovos das amostras recolhidas para este estudo, perfazendo uma média de 7,0 ovos/100g de solo. Destes, 63,1% embrionaram e tornaram-se viáveis após incubação. Todos estes dados se encontram em linha com os valores apresentados anteriormente no estudo de prevalência, validando desta forma as recolhas e processamento das amostras deste estudo.

Estatisticamente apenas foi encontrada correlação significativa, embora bastante baixa, entre a quantidade de ovos recuperados e o mês em que a colheita ocorreu, indicando que poderá haver algum tipo de sazonalidade, mesmo que pouco acentuada. Desta forma os dados recolhidos são em parte concordantes com os dados publicados na bibliografia internacional (Blaszkowska et al., 2013), que reporta não haver qualquer diferença significativa entre os ovos recuperados em épocas diferentes. O fato do estudo atual reportar uma possível correlação mensal enquanto Blaszkowska et al. (2013) não obteve esse resultado, prende-se com o desenho experimental de ambos os testes, um realizado com amostras mensais e o outro com amostras bianuais, respetivamente.

As linhas de tendência referentes ao número de ovos recuperados e à percentagem de ovos viáveis revelaram uma diminuição dos primeiros e um aumento dos segundos ao longo do período do estudo. Não havendo dados na bibliografia internacional para comparar, pode-se suspeitar que tais achados sejam influenciados pelo meio-ambiente, visto serem as condições ambientais as responsáveis pelo desenvolvimento e maturação dos ovos de *Toxocara* spp. (Araujo, 1972; Zajac & Conboy, 2012).

#### **6.5. Identificação da espécie de ovos de *Toxocara* presente em cada amostra**

Da totalidade de ovos de *Toxocara* spp. recolhidos, 50,8% não foi possível distinguir se eram *T. cati* ou *T. canis*, enquanto 41,7% foram identificados como *T. cati* e 7,5% como *T. canis*. Os valores entre parques foram mistos, indicando os resultados estatísticos não haver relação entre

a espécie e o parque. Os resultados são bastante significativos, indicando uma possível contribuição do *T. cati* superior a 5 vezes a de *T. canis* para a infecção ambiental global dos PP da zona de estudo. Fica apenas a faltar a análise complementar de PCR sugerida no estudo base (Fahrion et al., 2011) para clarificar os resultados.

Desta forma, e tendo em conta as especificidades do ciclo biológico deste parasita que em cães adultos raramente consegue evoluir para uma infecção patente e portanto não excretam ovos nas suas fezes (Araujo, 1972; Bowman et al., 2009; Holland & Smith, 2006; P. A. M. Overgaauw, 1997b; Strube, Heuer, & Janecek, 2013; Urquhart et al., 1996), mas que pelo contrário nos gatos adultos a probabilidade de migração traqueal é sempre muito elevada e portanto excretam ativamente ovos deste parasita (Strube et al., 2013); os vários estudos internacionais que apontam os gatos como principais responsáveis pela contaminação das caixas de areia infantis (Overgaauw, 1997b) e *Toxocara cati* como a espécie mais prevalente no solo (Dubná, Langrová, Jankovská, et al., 2007; Khademvatan et al., 2014); os estudos nacionais que indicam que as populações de gatos têm elevada prevalência para *T. cati* (Vaz et al., 2005; Duarte et al., 2010; Ferreira et al., 2011); e as conclusões do presente estudo, nomeadamente o facto dos parques infantis com cercados que virtualmente não permitem a entrada de cães estarem fortemente contaminados, o baixo valor de prevalência para as fezes de cão mas elevadas prevalências no solo e o resultado obtido na identificação da espécie com um claro domínio de *Toxocara cati*; o presente estudo sugere fortemente que as populações de gatos errantes poderão ser as principais responsáveis pelas elevadas prevalências de ovos deste parasita no solo dos parques públicos da zona da Grande Lisboa.

## 7. Conclusões

O presente estudo permitiu concluir que a prevalência de ovos de *Toxocara* spp. no solo de parques públicos da área da Grande Lisboa é bastante elevada, com 63,2% dos locais estudados e 53,0% das amostras recolhidas a serem positivos a este parasita. A prevalência foi especialmente elevada e preocupante nas caixas de areia dos parques infantis, em que 6 das 7 caixas de areia estudadas se encontravam infetadas por ovos deste nemátode.

Foi também concluído que existe uma grande disparidade nas prevalências identificadas para os mesmos locais, quando se comparam amostras de solo com amostras fecais. A prevalência associada a amostras fecais foi bastante reduzida e muito inferior à identificada no solo, com apenas 15,8% de todos os locais estudados e 5,9% das amostras fecais a serem positivas a *Toxocara* spp.

As conclusões do estudo relativo à viabilidade de infeção dos ovos recolhidos em parques públicos da área da Grande Lisboa indicaram uma elevada taxa de viabilidade dos mesmos, com 56,0% dos ovos recolhidos a desenvolverem-se na totalidade. Relativamente ao estudo de identificação da espécie, podemos concluir que a grande maioria dos ovos identificados é compatível com *Toxocara cati*, tendo *Toxocara canis* uma expressão mínima. O estudo de sazonalidade demonstrou que não há associação entre os ovos recolhidos ou ovos viáveis com as variações da temperatura e precipitação, embora possa haver uma pequena correlação entre a quantidade de ovos recolhidos e o mês da colheita.

Estes resultados, apoiados pela bibliografia internacional, dão conta de uma possível contaminação descontrolada do solo dos parques públicos da Grande Lisboa por este parasita, principalmente nas caixas de areia dos parques infantis, nas quais a prevalência é alarmante e crítica para crianças e jovens. Há também indicação que os cercados, proteção física e medidas de desinfeção da areia dos parques infantis são pouco eficientes a manter os riscos de infeção parasitária a um nível aceitável. Novos métodos, como controlo biológico com fungos nematófagos e extratos vegetais com ação ovicida, devem continuar a ser investigados. Os resultados levantam ainda questões sobre a importância relativa dos cães e gatos na disseminação urbana deste parasita, dando a entender que os gatos errantes possam ter um papel muito mais importante que os cães. No global, os resultados indicam um elevado risco de infeção para animais e humanos, tendo desta forma os parques públicos um papel preponderante na perpetuação desta infeção.

## 8. Considerações Finais e Perspetivas Futuras

As entidades competentes devem ser alertadas para estes resultados de forma a poderem iniciar ações que visem a substituição das caixas de areia existentes por pavimento sintético adequado à prática de exercício. Paralelamente, ações de sensibilização devem ser realizadas para o público geral nos parques públicos, especialmente nos parques infantis que ainda possuam caixa de areia, de forma a informar sobre as melhores práticas de higiene e segurança que devem ser observadas no sentido de minimizar os riscos de infeção.

São necessários mais estudos de prevalência ambiental, quer de *Toxocara* spp., quer de outros nemátodes, de forma a melhor caracterizar a situação. Por existir também a possibilidade dos estudos anteriores de prevalência de *Toxocara* spp. em áreas públicas que apenas analisaram amostras fecais poderem estar subvalorizados, aconselham-se mais estudos de comparação de prevalência entre amostras fecais e de solo, em diferentes locais e condições.

Devem, sempre que possível, ser realizados testes de identificação molecular em futuros estudos de contaminação do solo por *Toxocara* spp. para se poder inferir com segurança a contribuição relativa de cada espécie, e como tal, de cada hospedeiro na realidade nacional. Devem também ser realizados mais estudos de sazonalidade, de maior duração e em diferentes locais e condições, para que se possa concluir a existência ou não de um padrão sazonal. Estes dados deverão ainda ser compilados na criação de mapas de risco. Desta forma podem-se desenvolver medidas mais eficientes e adaptar as estratégias implementadas de combate a esta infeção.

Na bibliografia internacional são reportadas elevadas taxas de prevalência de *Toxocara* spp. em terrenos agrícolas. Este é um tema bastante pertinente e importante, pois a contaminação de solos agrícolas leva facilmente à contaminação dos vegetais comercializados, resultando num risco ainda mais elevado para a Saúde Pública do que o que advém da contaminação do solo de parques públicos. Aconselha-se assim que sejam realizados estudos em Portugal nesta área.

Embora o número de casos reportados de LMV em humanos seja bastante reduzido, os estudos de seroprevalência sugerem um subdiagnóstico desta doença. Tendo em conta a suspeita de ligação entre este parasita e outras doenças em humanos que, na melhor das hipóteses, causam mal-estar diminuindo assim a qualidade de vida, estudos sobre *Toxocara* spp. e sua distribuição ambiental continuam a ser pertinentes e importantes na busca de “Uma Saúde” de qualidade.

## 9. Bibliografia

- Abougrain, A. K., Nahaisi, M. H., Madi, N. S., Saied, M. M., & Ghenghesh, K. S. (2010). Parasitological contamination in salad vegetables in Tripoli-Libya. *Food Control*, *21*(5), 760–762. Elsevier Ltd.
- Acosta, L., León-Quinto, T., Bornay-Llinares, F. J., Simón, M. a, & Esteban, J. G. (2011). Helminth parasites in faecal samples from the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Veterinary Parasitology*, *179*(1-3), 175–9. Elsevier B.V.
- Adanir, R., & Tasci, F. (2013). Prevalence of helminth eggs in raw vegetables consumed in Burdur, Turkey. *Food Control*, *31*(2), 482–484. Elsevier Ltd.
- Akyol, A., Bicerol, B., Ertug, S., Ertabaklar, H., & Kiylioglu, N. (2007). Epilepsy and seropositivity rates of *Toxocara canis* and *Toxoplasma gondii*. *Seizure*, *16*(3), 233–7.
- Amaral, H. L. D. C., Rassier, G. L., Pepe, M. S., Gallina, T., Villela, M. M., Nobre, M. D. O., Scaini, C. J., et al. (2010). Presence of *Toxocara canis* eggs on the hair of dogs: A risk factor for Visceral Larva Migrans. *Veterinary Parasitology*, *174*(1-2), 115–118. Elsevier B.V.
- Antolová, D., Reiterová, K., Miterpáková, M., Stanko, M., & Dubinský, P. (2004). Circulation of *Toxocara* spp. in suburban and rural ecosystems in the Slovak Republic. *Veterinary Parasitology*, *126*(3), 317–24.
- Arandas Rego, A. (1980). Contamination of the soil in parks and gardens of Lisbon by eggs of *Toxocara* and other helminths. *Anais da Escola Superior de Medicina Veterinaria*, *22*, 152–162.
- Araujo, P. (1972). Observações pertinentes as primeiras ecdises de larvas de *Ascaris lumbricoides*, *A. suum* e *Toxocara canis*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, *14*(2), 83–90.
- Auer, H., & Aspöck, H. (2004). Nosology and epidemiology of human toxocarosis - the recent situation in Austria. *Wiener klinische Wochenschrift*, *116 Suppl*, 7–18.
- Aydenizöz-Özkayhan, M., Yağci, B. B., & Erat, S. (2008). The investigation of *Toxocara canis* eggs in coats of different dog breeds as a potential transmission route in human toxocariasis. *Veterinary Parasitology*, *152*, 94–100.
- Baldisserotto, M., Conchin, C. F., Da Soares, M. G., Araujo, M. A., & Kramer, B. (1999). Ultrasound findings in children with toxocariasis: report on 18 cases. *Pediatr. Radiol.*, *29*, 316–319.
- Beaver, P. C. (1966). *Zoonoses, with particular reference to parasites of veterinary importance. Biology of Parasites*. New York.
- Beaver, P. C., Snyder, C. H., & Carreara, G. M. (1952). Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. *Pediatrics*, *9*(7).
- Blaszkowska, J., Wojcik, A., Kurnatowski, P., & Szwabe, K. (2013). Geohelminth egg contamination of children's play areas in the city of Lodz (Poland). *Veterinary Parasitology*, *192*(1-3), 228–33. Elsevier B.V.
- Bouchet, F., Araújo, A., Harter, S., Chaves, S. M., Duarte, A. N., Monnier, J. L., & Ferreira, L. F. (2003). *Toxocara canis* (Werner, 1782) eggs in the Pleistocene site of Menez-Dregan, France (300,000-500,000 Years Before Present). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, *98*, 137–139.
- Bowman, D. D. (2014). *Georgis' Parasitology for Veterinarians* (10th ed.). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Bowman, D. D., Reinemeyer, C. R., Wiseman, S., & Snyder, D. E. (2014). Efficacy of

milbemycin oxime in combination with spinosad in the treatment of larval and immature adult stages of *Ancylostoma caninum* and *Toxocara canis* in experimentally infected dogs. *Veterinary Parasitology*, 205(1-2), 134–9. Elsevier B.V.

- Braga, F. R., & De Araújo, J. V. (2014). Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Bruňaská, M., Dubinský, P., & Reiterová, K. (1995). *Toxocara canis*: Ultrastructural aspects of larval moulting in the maturing eggs. *International Journal for Parasitology*, 25(6), 683–690.
- Callegari-Jacques, S. M. (2003). *Bioestatística: Princípios e aplicações*. São Paulo: Artmed Editora.
- Calvete, C., Lucientes, J., Castillo, J. A., Estrada, R., Gracia, M. J., Peribáñez, M. A., & Ferrer, M. (1998). Gastrointestinal helminth parasites in stray cats from the mid-Ebro Valley, Spain. *Veterinary Parasitology*, 75(2-3), 235–40.
- Cardillo, N., Rosa, A., Ribicich, M., López, C., & Sommerfelt, I. E. (2009). Experimental infection with *Toxocara cati* in BALB-c mice, migratory behaviour and pathological changes. *Zoonoses and Public Health*, 56(4), 198–205.
- Carvalho, R. O., Araújo, J. V., Braga, F. R., Araujo, J. M., & Alves, C. D. F. (2010). Ovicidal activity of *Pochonia chlamydosporia* and *Paecilomyces lilacinus* on *Toxocara canis* eggs. *Veterinary Parasitology*, 169(1-2), 123–7.
- Carvalho-Varela, M. (1991). Situação actual das zoonoses parasitárias em Portugal Continental. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas*, 14 (3), 171–182.
- Carvalho-Varela, M., Meireles, J. A. F. S., Pereira da Fonseca, I. M., & Madeira de Carvalho, L. M. (1996). *Aspectos Globais dos Resultados obtidos no Laboratório de Patologia das Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa*. Coimbra.
- Castillo, D., Paredes, C., Zañartu, C., Castillo, G., Mercado, R., Muñoz, V., & Schenone, H. (2000). Environmental contamination with *Toxocara* sp. eggs in public squares and parks from Santiago, Chile, 1999. *Boletín Chileno de Parasitología*, 55(3), 86–91.
- Chammartin, F., Scholte, R. G. C., Malone, J. B., Bavia, M. E., Nieto, P., Utzinger, J., & Vounatsou, P. (2013). Modelling the geographical distribution of soil-transmitted helminth infections in Bolivia. *Parasites & vectors*, 6, 152.
- Chandrashekhara, S. H., Sharma, R., Bagh, S., & Garg, P. (2010). Image of the month. Hepatic visceral larva migrans due to *Toxocara Canis*. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 34(11), 573–4.
- Chomel, B. B., Kasten, R., Adams, C., Lambillotte, D., Theis, J., Goldsmith, R., Koss, J., et al. (1993). Serosurvey of some major zoonotic infections in children and teenagers in Bali, Indonesia. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 24(2), 321–326.
- Christensson, D. a., Raue, H., & Bernstad, S. (1991). A field evaluation of treatment with febantel for the control of *Toxocara canis* in pups. *Veterinary Parasitology*, 38(1), 41–47.
- Ciarmela, M. ., Minvielle, M. ., Lori, G., & Basualdo, J. . (2002). Biological interaction between soil fungi and *Toxocara canis* eggs. *Veterinary Parasitology*, 103(3), 251–257.
- Colombo, V. C., Guglielmone, A. a., Monje, L. D., Nava, S., & Beldomenico, P. M. (2014). Seasonality of immature stages of *Ixodes loricatus* (Acari: Ixodidae) in the Paraná Delta, Argentina. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 5(6), 701–705. Elsevier GmbH.
- Cordero del Campillo, M., & Rojo Vázquez, F. A. (2001). *Parasitología Veterinaria* (1ª Ed.). Madrid: McGraw Hill-Interamericana.

- Crespo, M. V. M., & Jorge, A. T. (2000). Contaminação Parasitária, por ovos de Helminthes, de alguns Jardins e Parques Públicos das Cidades de Almeirim e do Cartazo. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 7, 43–47.
- Dado, D., Izquierdo, F., Vera, O., Montoya, a, Mateo, M., Fenoy, S., Galván, a L., et al. (2012). Detection of zoonotic intestinal parasites in public parks of Spain. Potential epidemiological role of microsporidia. *Zoonoses and public health*, 59(1), 23–8.
- Daryani, A., Sharif, M., Amouei, A., Askarian, F., Ziaei, H., Gohardehi, S. H., & Bastani, R. (2008). Prevalence of *Toxocara canis* in Stray Dogs in Northern Iran. *International Journal of Infectious Diseases* (Vol. 12, p. 1).
- David de Morais, J. A., Rombert, P. C., & Trinca, A. C. (1990). Larva Migrante Visvceral. Subsídios para o seu conhecimento epidemiológico no distrito de Évora. *Revta. Port. Doenç. Infec.*, 13(4), 227–234.
- David, E. D., & Lindquist, W. D. (1982). Determination of the specific gravity of certain helminth eggs using sucrose density gradient centrifugation. *The Journal of Parasitology*, 68(5), 916–919.
- Deplazes, P., van Knapen, F., Schweiger, A., & Overgaauw, P. A. M. (2011). Role of pet dogs and cats in the transmission of helminthic zoonoses in Europe, with a focus on echinococcosis and toxocarosis. *Veterinary Parasitology*, 182(1), 41–53. Elsevier B.V.
- Despommier, D. (2003). Toxocaríasis: Clinical Aspects, Epidemiology, Medical Ecology, and Molecular Aspects. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(2), 265–272.
- Deutz, A., Fuchs, K., Auer, H., Kerbl, U., Aspöck, H., & Köfer, J. (2005). *Toxocara*-infestations in Austria: A study on the risk of infection of farmers, slaughterhouse staff, hunters and veterinarians. *Parasitology Research*, 97(5), 390–394.
- Devera, R., Blanco, Y., Hernández, H., & Simoes, D. (2008). *Toxocara* spp. y otros helmintos en plazas y parques de Ciudad Bolívar, estado Bolívar (Venezuela). *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 26(1), 23–26. Elsevier.
- Dillon, a R., Tillson, D. M., Hathcock, J., Brawner, B., Wooldridge, A., Cattley, R., Welles, B., et al. (2013). Lung histopathology, radiography, high-resolution computed tomography, and bronchio-alveolar lavage cytology are altered by *Toxocara cati* infection in cats and is independent of development of adult intestinal parasites. *Veterinary Parasitology*, 193(4), 413–26. Elsevier B.V.
- Dryden, M. W., & Ridley, R. K. (1999). Efficacy of fenbendazole granules and pyrantel pamoate suspension against *Toxocara canis* in greyhounds housed in contaminated runs. *Veterinary Parasitology*, 82(4), 311–315.
- Duarte, A., Castro, I., Pereira da Fonseca, I. M., Almeida, V., Madeira de Carvalho, L. M., Meireles, J. A. F. S., Fazendeiro, M. I., et al. (2010). Survey of infectious and parasitic diseases in stray cats at the Lisbon Metropolitan Area, Portugal. *Journal of feline medicine and surgery*, 12(6), 441–6. ISFM and AAFF.
- Dubná, S., Langrová, I., Jankovská, I., Vadlejch, J., Pekár, S., Nápravník, J., & Fechtner, J. (2007). Contamination of soil with *Toxocara* eggs in urban (Prague) and rural areas in the Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, 144(1-2), 81–6.
- Dubná, S., Langrová, I., Nápravník, J., Jankovská, I., Vadlejch, J., Pekár, S., & Fechtner, J. (2007). The prevalence of intestinal parasites in dogs from Prague, rural areas, and shelters of the Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, 145(1-2), 120–8.
- Dunsmore, J. D., Thompson, R. C. A., & Bates, I. A. (1984). Prevalence and survival of *Toxocara canis* eggs in the urban environment of Perth, Australia. *Veterinary Parasitology*, 16(3-4), 303–311.

- Dutra, G. F., Pinto, N. S. F., de Avila, L. F. D. C., Dutra, P. C., Telmo, P. D. L., Rodrigues, L. H., Silva, A. M. W. A., et al. (2014). Risk of infection by the consumption of liver of chickens inoculated with low doses of *Toxocara canis* eggs. *Veterinary Parasitology*, 203(1-2), 87–90.
- Eberhard, M. L., & Alfano, E. (1998). Adult *Toxocara cati* infections in U.S. children: report of four cases. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 59(404).
- Egwang, T. G., & Slocombe, J. O. (1982). Evaluation of the Cornell-Wisconsin centrifugal flotation technique for recovering trichostrongylid eggs from bovine feces. *Canadian journal of comparative medicine. Revue canadienne de médecine comparée*, 46(2), 133–7.
- El-Tras, W. F., Holt, H. R., & Tayel, A. a. (2011). Risk of *Toxocara canis* eggs in stray and domestic dog hair in Egypt. *Veterinary Parasitology*, 178(3-4), 319–23. Elsevier B.V.
- Embil, J. a., Tanner, C. E., Pereira, L. H., Staudt, M., Morrison, E. G., & Gualazzi, D. a. (1988). Seroepidemiologic survey of *Toxocara canis* infection in urban and rural children. *Public Health*, 102(2), 129–133.
- ESCCAP. (2010). *ESCCAP Guideline 1 – Worm control in dogs and cats* (2nd. ed., Vol. 1 segunda). Worcestershire, UK: European Scientific Counsel Companion Animal Parasites.
- Fahrion, A. S., Schnyder, M., Wichert, B., & Deplazes, P. (2011). *Toxocara* eggs shed by dogs and cats and their molecular and morphometric species-specific identification: is the finding of *T. cati* eggs shed by dogs of epidemiological relevance? *Veterinary Parasitology*, 177(1-2), 186–9. Elsevier B.V.
- Fallah, A. a., Piralí-Kheirabadi, K., Shirvani, F., & Saei-Dehkordi, S. S. (2012). Prevalence of parasitic contamination in vegetables used for raw consumption in Shahrekord, Iran: Influence of season and washing procedure. *Food Control*, 25(2), 617–620. Elsevier Ltd.
- Fan, C.-K., Liao, C.-W., & Cheng, Y.-C. (2013). Factors affecting disease manifestation of toxocarosis in humans: genetics and environment. *Veterinary Parasitology*, 193(4), 342–52. Elsevier B.V.
- Fernandes, C. A. (2006). *Contribuição para o estudo do género Toxocara - Tese de Mestrado*, 117p. Universidade Nova de Lisboa, Instituto de Higiéne e Medicina Tropical.
- Ferreira, F. S., Pereira-Baltasar, P., Parreira, R., Padre, L., Vilhena, M., Távora Távora, L., Atouguia, J., et al. (2011). Intestinal parasites in dogs and cats from the district of Évora, Portugal. *Veterinary Parasitology*, 179(1-3), 242–5. Elsevier B.V.
- Fillaux, J., & Magnaval, J. F. (2013). Laboratory diagnosis of human toxocariasis. *Veterinary Parasitology*, 193(4), 327–36. Elsevier B.V.
- Finsterer, J., & Auer, H. (2007). Neurotoxocarosis. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 49, 279–287.
- Fisher, M. (2003). *Toxocara cati*: An underestimated zoonotic agent. *Trends in Parasitology*, 19(4), 167–170.
- Foreyt, W. J. J. (2001). *Veterinary Parasitology – Reference Manual* (5th ed.). Iowa, USA: Wiley-Blackwell.
- Gasser, R. B. (2013). A perfect time to harness advanced molecular technologies to explore the fundamental biology of *Toxocara* species. *Veterinary Parasitology*, 193(4), 353–64. Elsevier B.V.
- Gawor, J., Borecka, A., Zarnowska, H., Marczyńska, M., & Dobosz, S. (2008). Environmental and personal risk factors for toxocarosis in children with diagnosed disease in urban and

- rural areas of central Poland. *Veterinary Parasitology*, 155(3-4), 217–22.
- Gibbons, L. M., Jacobs, D. E., & Sani, R. A. (2001). *Toxocara malaysiensis* n. sp. (Nematoda: Ascaridoidea) from the domestic cat (*Felis catus* Linnaeus, 1758). *The Journal of Parasitology*, 87(3), 660–5.
- Gillespie, S. H. (1988). The epidemiology of *Toxocara canis*. *Parasitol. Today*, 4, 180–182.
- Gillespie, S. H., Pereira, M., & Ramsay, A. (1991). The prevalence of *Toxocara canis* ova in soil samples from parks and gardens in the London area. *Public Health*, 105(4), 335–339.
- Grácio, M. A. A., & Pereira, M. A. E. (2001). Larva Migrante Visceral: helmintose endémica em Portugal? *Acta Parasitológica Portuguesa*, 8 (2), 138.
- Guerra, D. (2012). *The Sylvatic and Synanthropic Cycles of Echinococcus spp., Taenia spp. and Toxocara spp. in Portugal: Coprologic and Molecular Diagnosis in Canids - Tese de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária*, 106p. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária.
- Habluetzel, a., Traldi, G., Ruggieri, S., Attili, a. R., Scuppa, P., Marchetti, R., Menghini, G., et al. (2003). An estimation of *Toxocara canis* prevalence in dogs, environmental egg contamination and risk of human infection in the Marche region of Italy. *Veterinary Parasitology*, 113(3-4), 243–252.
- Hakim, S. L., Thadasavanth, M., Shamilah, R. H. R., & Yogeswari, S. (1997). Prevalence of *Toxocara canis* antibody among children with bronchial asthma in Klang Hospital, Malaysia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 91(5), 528.
- Holland, C. V., & Smith, H. V. (2006). *Toxocara: the enigmatic parasite*. Wallingford: CABI Publishing.
- IPMA. (2015). IPMA - Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Retrieved January 21, 2015, from <https://www.ipma.pt/pt/oclima/monitorizacao/>
- Keegan, J. D., & Holland, C. V. (2010). Contamination of the hair of owned dogs with the eggs of *Toxocara* spp. *Veterinary Parasitology*, 173(1-2), 161–4. Elsevier B.V.
- Keegan, J. D., & Holland, C. V. (2013). A comparison of *Toxocara canis* embryonation under controlled conditions in soil and hair. *Journal of Helminthology*, 87(1), 78–84.
- Khademvatan, S., Abdizadeh, R., & Tavalla, M. (2014). Molecular characterization of *Toxocara* spp. from soil of public areas in Ahvaz southwestern Iran. *Acta Tropica*, 135, 50–4. Elsevier B.V.
- Knaus, M., Baker, C. F., Reinemeyer, C. R., Chester, S. T., Rosentel, J., & Rehbein, S. (2014). Efficacy of a novel topical combination of fipronil, (S)-methoprene, eprinomectin and praziquantel against adult and larval stages of *Toxocara cati* in cats. *Veterinary Parasitology*, 202(1-2), 34–9. Elsevier B.V.
- Kozan, E., Gonenc, B., Sarimehmetoglu, O., & Aycicek, H. (2005). Prevalence of helminth eggs on raw vegetables used for salads. *Food Control*, 16(3), 239–242.
- Lebre, F. (2011). *Rastreio de Parasitas Gastrintestinais e seu Impacto Zoonótico em Cães de Canil da Cidade de Lisboa - Tese de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária*, 145p. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária.
- Lem, M. F., Vincent, K. P., Josue, W. P., Jeannette, Y., Gertrude, M. T., & Joseph, T. (2014). In Vitro Ovicidal and Larvicidal Activities of Stem Bark of *Terminalia glaucescens* ( Combretaceae ) against *Haemonchus contortus*. *American Journal of Plant Sciences*, 5(September), 2859–2868.
- Leone, N., Baronio, M., Todros, L., David, E., Brunello, F., Artioli, S., & Rizzetto, M. (2006).

Hepatic involvement in larva migrans of *Toxocara canis*: report of a case with pathological and radiological findings. *Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*, 38(7), 511–4.

- Levecke, B., Rinaldi, L., Charlier, J., Maurelli, M. P., Bosco, A., Vercruyse, J., & Cringoli, G. (2012). The bias, accuracy and precision of faecal egg count reduction test results in cattle using McMaster, Cornell-Wisconsin and FLOTAC egg counting methods. *Veterinary Parasitology*, 188(1-2), 194–9.
- Loh, A. G., & Israf, D. A. (1998). Tests on the centrifugal flotation technique and its use in estimating the prevalence of *Toxocara* in soil samples from urban and suburban areas of Malaysia. *Journal of Helminthology*, 72(1), 39–42.
- Madeira de Carvalho, L. M. (2009). *Relatório de Atividades de Monitorização das Amostras Fecais de Cánídeos na Cidade de Lisboa no Biénio 2007-2008 para avaliação do Parasitismo Gastrintestinal e do risco de contaminação de espaços públicos ao abrigo do Protocolo FMV / CML*. Lisboa.
- Madeira de Carvalho, L. M., Carreira, M. C. P., Santos, S. G., Pereira da Fonseca, I. M., Afonso-Roque, M. M., & Fazendeiro, M. I. (2005). *Toxocarose/Larva Migrante Visceral – Um problema de Saúde Pública urbano? Situação epidemiológica na área da Grande Lisboa* (Vol. 1). Lisboa.
- Madeira de Carvalho, L. M., Pereira da Fonseca, I. M., Rosário, M. A. R., Soares, M. J. A., Gomes, L. M. N., Meireles, J. A. F. S., & Fazendeiro, M. I. (2005). Dermatoses parasitárias em pequenos animais. Casuística de 1999-2004 do Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV. *XXIX Jornadas Médicas-Veterinárias da FMV, Oncologia, Dermatologia e Oftalmologia em Pequenos Animais. 15-17 Abril 2005, FMV/UTL* (p. 3).
- MagnaVal, J. F. (1995). Comparative efficacy of diethylcarbamazine and mebendazole for the treatment of human toxocariasis. *Parasitology*, 110, 529–533.
- MagnaVal, J. F., Glickman, L. T., Dorchie, P., & Morassin, B. (2001). Highlights of human toxocariasis. *Korean J. Parasitol*, 39, 1–11.
- MagnaVal, J. F., Michault, A., Calon, N., & Charlet, J. P. (1994). Epidemiology of human toxocariasis in La Réunion. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 88, 531–533.
- Maikai, B. V., Elisha, I. a., & Baba-Onoja, E. B. T. (2012). Contamination of vegetables sold in markets with helminth eggs in Zaria metropolis, Kaduna State, Nigeria. *Food Control*, 28(2), 345–348. Elsevier Ltd.
- Manini, M. P., Marchioro, A. a, Colli, C. M., Nishi, L., & Falavigna-Guilherme, A. L. (2012). Association between contamination of public squares and seropositivity for *Toxocara* spp. in children. *Veterinary Parasitology*, 188(1-2), 48–52. Elsevier B.V.
- Marôco, J. (2011). *Análise Estatística com o SPSS Statistics* (5<sup>a</sup> ed.). Pero Pinheiro: ReportNumber.
- Marques, P. C., & Costa, N. (2014). *Excel 2013* (1<sup>a</sup> Ed.). Curitiba: Fundamental.
- Martínez-Barbabosa, I., Vázquez Tsuji, O., Romero Cabello, R., Gutiérrez Cárdenas, E. M., & Chasin, O. A. (2003). The prevalence of *Toxocara cati* in domestic cats in Mexico City. *Veterinary Parasitology*, 114, 43–49.
- Martínez-Moreno, F. J., Hernández, S., López-Cobos, E., Becerra, C., Acosta, I., & Martínez-Moreno, A. (2007). Estimation of canine intestinal parasites in Córdoba (Spain) and their risk to public health. *Veterinary Parasitology*, 143(1), 7–13.
- Martins, S., Sousa, S., & Portugal, M. (2005). Estudo parasitológico dos cánídeos recolhidos

- pelo canil municipal de Coimbra. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, (Suplemento), 8–9.
- Mateus, T., Castro, A., Ribeiro, J., & Vieira-Pinto, M. (2014). Multiple Zoonotic Parasites Identified in Dog Feces Collected in Ponte de Lima, Portugal — A Potential Threat to Human Health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *11*(9), 9050–9067.
- Matsuo, J., & Nakashio, S. (2005). Prevalence of fecal contamination in sandpits in public parks in Sapporo City, Japan. *Veterinary Parasitology*, *128*(1-2), 115–9.
- McTier, T. ., Siedek, E. ., Clemence, R. ., Wren, J. ., Bowman, D. D., Hellmann, K., Holbert, M. ., et al. (2000). Efficacy of selamectin against experimentally induced and naturally acquired ascarid (*Toxocara canis* and *Toxascaris leonina*) infections in dogs. *Veterinary Parasitology*, *91*(3-4), 333–345.
- Melker, H. E. de, Peet, T. E. van der, Berbers, G. A. M., Akker, R. van de, Knapen, F. van, Schellekens, J. F. P., & Coneyn-van Spaendonck, M. A. E. (1995). Pilot-study for the PIENTER-Project. Report nr. 213675004. *National Institute of Public Health and Environment, Bilthoven, the Netherlands*, *37*, 8.
- Mendonça, L. R., Figueiredo, C. a, Esquivel, R., Fiaccone, R. L., Pontes-de-Carvalho, L., Cooper, P., Barreto, M. L., et al. (2013). Seroprevalence and risk factors for *Toxocara* infection in children from an urban large setting in Northeast Brazil. *Acta Tropica*, *128*(1), 90–5.
- Morgan, E. R., Azam, D., & Pegler, K. (2013). Quantifying sources of environmental contamination with *Toxocara* spp. eggs. *Veterinary Parasitology*, *193*(4), 390–7. Elsevier B.V.
- Muradian, V., Gennari, S. M., Glickman, L. T., & Pinheiro, S. R. (2005). Epidemiological aspects of Visceral Larva Migrans in children living at São Remo Community, São Paulo (SP), Brazil. *Veterinary Parasitology*, *134*(1-2), 93–7.
- Negri, E. C., Santarém, V. A., Rubinsky-Elefant, G., & Giuffrida, R. (2013). Anti-*Toxocara* spp. antibodies in an adult healthy population: serosurvey and risk factors in Southeast Brazil. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, *3*(3), 211–6.
- Neves, D., Lobo, L., Simões, P. B., & Cardoso, L. (2014). Frequency of intestinal parasites in pet dogs from an urban area (Greater Oporto, northern Portugal). *Veterinary Parasitology*, *200*(3-4), 295–8. Elsevier B.V.
- Nicoletti, A., Bartoloni, A., Reggio, A., Bartalesi, F., Roselli, M., Sofia, V., Rosado Chavez, J., et al. (2002). Epilepsy, cysticercosis, and toxocariasis, a population-based case–control study in rural Bolivia. *Neurology*, *58*, 1256–1261.
- Nijsse, R., Mughini-Gras, L., Wagenaar, J. a., Franssen, F., & Ploeger, H. W. (2015). Environmental contamination with *Toxocara* eggs: a quantitative approach to estimate the relative contributions of dogs, cats and foxes, and to assess the efficacy of advised interventions in dogs. *Parasites & Vectors*, *8*(1), 397. Parasites & Vectors.
- Öge, H., Öge, S., Özbakış, G., & Gürcan, S. (2014). Comparison of *Toxocara* eggs in hair and faecal samples from owned dogs and cats collected in Ankara, Turkey. *Veterinary Parasitology*.
- Overgaauw, P. A. M. (1997a). Aspects of *Toxocara* epidemiology: human toxocarosis. *Critical reviews in microbiology*, *23*(3), 215–31.
- Overgaauw, P. A. M. (1997b). Aspects of *Toxocara* epidemiology: toxocarosis in dogs and cats. *Critical reviews in microbiology*, *23*(3), 233–51.
- Overgaauw, P. A. M., van Zutphen, L., Hoek, D., Yaya, F. O., Roelfsema, J., Pinelli, E., van

- Knapen, F., et al. (2009). Zoonotic parasites in fecal samples and fur from dogs and cats in The Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 163(1-2), 115–22.
- Parsons, J. C., Bowman, D. D., Gillette, D. M., & Grieve, R. B. (1988). Disseminated granulomatous disease in a cat caused by larvae of *Toxocara canis*. *J Comp Pathol*, 99(343).
- Parsons, J. C., Bowman, D. D., & Grieve, R. B. (1986). Tissue localization of excretory-secretory antigens of larval *Toxocara canis* in acute and chronic murine toxocariasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 27, 492–498.
- Parsons, J. C., Bowman, D. D., & Grieve, R. B. (1989). Pathological and haematological responses of cats experimentally infected with *Toxocara canis* larvae. *International Journal for Parasitology*, 19(5), 479–488.
- Paul, a. J., Todd, K. S., & Dipietro, J. a. (1988). Environmental contamination by eggs of *Toxocara* species. *Veterinary Parasitology*, 26(3-4), 339–342.
- Pereira, M. A. E. (2001). *Estudo Sero-epidemiológico sobre Larva Migrans Visceral e Cisticercose em Portugal*. Instituto de Higiene e Medicina Tropical. *Dissertação a candidatura ao grau de Mestre*.
- Petithory, J. C., & Beddock, A. (1997). Role de *Toxocara cati* dans le syndrome de larva migrans visceral. *Bull Soc Fr Parasitol*, 15(199).
- Pinelli, E., Herremans, T., Harms, M. G., Hoek, D., & Kortbeek, L. M. (2011). *Toxocara* and *Ascaris* seropositivity among patients suspected of visceral and ocular larva migrans in the Netherlands: trends from 1998 to 2009. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 30(7), 873–9.
- Reperant, L. A., Hegglin, D., Fischer, C., Kohler, L., Weber, J. M., & Deplazes, P. (2007). Influence of urbanization on the epidemiology of intestinal helminths of the red fox (*Vulpes vulpes*) in Geneva, Switzerland. *Parasitology Research*, 101(3), 605–611.
- Riggio, F., Mannella, R., Ariti, G., & Perrucci, S. (2013). Intestinal and lung parasites in owned dogs and cats from central Italy. *Veterinary Parasitology*, 193(1-3), 78–84. Elsevier B.V.
- Roddie, G., Stafford, P., Holland, C. V., & Wolfe, A. (2008). Contamination of dog hair with eggs of *Toxocara canis*. *Veterinary Parasitology*, 152(1-2), 85–93.
- Rombert, P. C. (1976). Contribuição da imunologia para o diagnóstico das parasitoses insuspeitadas. *J. Soc. Ciênc. Med.*, 140 (1), 25–34.
- Rombert, P. C. (1984). Sobre a frequência da “Larva Migrante Visceral” em Portugal. *Revta. Port. Doenç. Infec.*, 7, 137–141.
- Rosa, F., Crespo, M. V. M., & Castro, A. (2006). Contaminação Parasitária por Fezes de Canídeos em Áreas Urbanas e Não Urbanas do Conselho de Alcobaça - Dados preliminares. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 13(1-2), 37–41.
- Rubel, D., & Wisnivesky, C. (2005). Magnitude and distribution of canine fecal contamination and helminth eggs in two areas of different urban structure, Greater Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Parasitology*, 133(4), 339–47.
- Rubel, D., Zunino, G., Santillán, G., & Wisnivesky, C. (2003). Epidemiology of *Toxocara canis* in the dog population from two areas of different socioeconomic status, Greater Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Parasitology*, 115(3), 275–286.
- El Said Said, D. (2012). Detection of parasites in commonly consumed raw vegetables. *Alexandria Journal of Medicine*, 48(4), 345–352. Alexandria University Faculty of Medicine.

- Santos, I. A., Souza, F. J. M. A., Akisue, G., Coelho, F. A. S., & Coelho, M. D. G. (2013). Avaliação da Atividade Ovicida e Larvicida de Dez Extratos Vegetais ante *Ancylostoma* ssp. *Revista de Patologia Tropical*, 42(2), 209–216.
- Schantz, P. M. (2002). Zoonotic ascarids and hookworms: The role for veterinarians in preventing human disease. *Supplement to Comp. Cont. Educ. Pract. Vet., Emerging Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 24 (1A), 47–52.
- Schenker, R., Bowman, D. D., Epe, C., Cody, R., Seewald, W., Strehlau, G., & Junquera, P. (2007). Efficacy of a milbemycin oxime-praziquantel combination product against adult and immature stages of *Toxocara cati* in cats and kittens after induced infection. *Veterinary Parasitology*, 145(1-2), 90–3.
- Schenker, R., Cody, R., Strehlau, G., Alexander, D., & Junquera, P. (2006). Comparative effects of milbemycin oxime-based and febantel-pyrantel embonate-based anthelmintic tablets on *Toxocara canis* egg shedding in naturally infected pups. *Veterinary Parasitology*, 137(3-4), 369–73.
- Schmidt, G. ., & Roberts, L. . (2008). *Foundations of Parasitology* (8th ed.). New York: McGraw Hill.
- Shalaby, H. a., El Namaky, A. H., Khalil, F. a., & Kandil, O. M. (2012). Efficacy of methanolic extract of *Balanites aegyptiaca* fruits on *Toxocara vitulorum*. *Veterinary Parasitology*, 183(3-4), 386–392. Elsevier B.V.
- Sianto, L., de Souza, M. V., Chame, M., da Luz, M. D. F., Guidon, N., Pessis, A.-M., & Araújo, A. (2014). Helminths in feline coprolites up to 9000years in the Brazilian Northeast. *Parasitology international*, 63(6), 851–7. Elsevier Ireland Ltd.
- Silva, M. (2010). *Rastreo de Parasitas Gastrintestinais, Pulmonares, Cutâneos e Musculares em Canídeos Domésticos e Silvestres no Norte de Portugal - Tese de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária*, 131p. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária.
- Sommerfelt, I. E., Cardillo, N., López, C., Ribicich, M., Gallo, C., & Franco, A. J. (2006). Prevalence of *Toxocara cati* and other parasites in cats' faeces collected from the open spaces of public institutions: Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Parasitology*, 140(3-4), 296–301.
- De Souza Maia Filho, F., Nunes Vieira, J., Aires Berne, M. E., Stoll, F. E., Da Silva Nascente, P., Pötter, L., & Brayer Pereira, D. I. (2013). Fungal ovicidal activity on *Toxocara canis* eggs. *Revista iberoamericana de micología*, 30(4), 226–30. Revista Iberoamericana de Micología.
- Sprenger, L. K., Green, K. T., & Molento, M. B. (2014). Geohelminth contamination of public areas and epidemiological risk factors in Curitiba, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23(1), 69–73.
- Strube, C., Heuer, L., & Janecek, E. (2013). *Toxocara* spp. infections in paratenic hosts. *Veterinary Parasitology*, 193(4), 375–89. Elsevier B.V.
- Taira, K., Saeed, I., Permin, A., & Kapel, C. M. O. (2004). Zoonotic risk of *Toxocara canis* infection through consumption of pig or poultry viscera. *Veterinary Parasitology*, 121(1-2), 115–24.
- Tavares, L. P., Garrido, J., Geraldés, C. A., Tavares, M. C., & Faria, A. C. (1998). Toxocaríase: contributo para o conhecimento epidemiológico no concelho da Feira. *Sociedade Portuguesa de Medicina Interna*, 5(3), 152–157.
- Uga, S. (1993). Prevalence of *Toxocara* eggs and number of faecal deposits from dogs and cats in sandpits of public parks in Japan. *Journal of Helminthology*, 67(1), 78–82.

- Uga, S., & Kataoka, N. (1995). Measures to control *Toxocara* egg contamination in sandpits of public parks. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 52(1), 21–4.
- Uga, S., Minami, T., & Nagata, K. (1996). Defecation habits of cats and dogs and contamination by *Toxocara* eggs in public park sandpits. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 54(2), 122–6.
- Uhlikova, M., & Htlbner, J. (1982). A study on the morphology of early larval stages of *Toxocara cati*. *Folk Parasitologica*, 29, 165–166.
- Urquhart, G. M., Armour, J., Duncan, J. L., Dunn, A. M., & Jennings, F. W. (1996). *Veterinary Parasitology* (2nd ed.). Oxford: Blackwell Science Ltd.
- Vaz, Y., Almeida, V., Pereira da Fonseca, I. M., Duarte, A., Madeira de Carvalho, L. M., Meireles, J. A. F. S., & Fazendeiro, M. I. (2005). Estudo de doenças transmissíveis em populações de gatos errantes. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, (Suplemento), 9–10.
- Vieira, R. A. (1981). Parasitismo em cães de 5 áreas rurais dos arredores de Lisboa. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas*, 4, 257–273.
- Virginia, P., Nagakura, K., Ferreira, O., & Tateno, S. (1991). Serologic evidence of toxocariasis in northeast Brazil. *Jpn J Med Sci Biol*, 44(1).
- Won, K., Kruszon-Moran, D., & Schantz, P. M. (2007). National seroprevalence and risk factors for zoonotic *Toxocara* spp. infection. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Fifty-Six.
- Won, K. Y., Kruszon-Moran, D., Schantz, P. M., & Jones, J. L. (2008). National seroprevalence and risk factors for zoonotic *Toxocara* spp. infection. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 79(4), 552–557.
- Zajac, A. M., & Conboy, G. A. (2012). *Veterinary Clinical Parasitology* (8th ed., Vol. 40). Oxford: Blackwell Publishing.

## **10. Anexos**

### **10.1. Anexo 1 - Artigo científico Acta Parasitológica Portuguesa**

Otero, D., Nijse, R., Gomes, L., Alho, A., Overgaauw, P., Hoek, D., Madeira de Carvalho, L.M. (2014). *Prevalência de ovos de Toxocara spp. no solo de parques públicos da área da Grande Lisboa, Portugal - Resultados preliminares*. Acta Parasitológica Portuguesa, 20:47-50

# PREVALÊNCIA DE OVOS DE *Toxocara* spp. NO SOLO DE PARQUES PÚBLICOS DA ÁREA DA GRANDE LISBOA, PORTUGAL – RESULTADOS PRELIMINARES

D. Otero<sup>1\*</sup>, R. Nijse<sup>2</sup>, L. Gomes<sup>1</sup>, A. Alho<sup>1</sup>, P. Overgaauw<sup>3</sup>, D. Hoek<sup>4</sup>, L.M. Madeira de Carvalho<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal (CIISA), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Portugal;

<sup>2</sup> Departamento de Doenças Infecciosas e Imunologia, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Utrecht, Holanda; <sup>3</sup> Instituto de Ciências para Avaliação do Risco, Divisão de Saúde Pública Veterinária, Universidade de Utrecht, Holanda; <sup>4</sup> Instituto Nacional para a Saúde Pública e Ambiente (RIVM), Bilthoven, Holanda. \*Autor correspondente: david.oterop@gmail.com

## INTRODUÇÃO

Os nemátodes do género *Toxocaras* são parasitas intestinais presentes em muitos animais domésticos e selvagens. Cães e gatos que alojam formas adultas deste parasita, libertam os seus ovos para o ambiente através das fezes. Após um período obrigatório de maturação no ambiente, os ovos com larvas L2-L3 adquirem capacidade infectante se ingeridos. Causam assim infecções gastrointestinais nos animais de estimação e Toxocarose Humana em humanos, podendo dar lugar ao aparecimento das síndromes da Larva Migrante Visceral (LMV), Larva Migrante Neurológica (LMN) e Larva Migrante Ocular (LMO) em Humanos e animais (Kazacos, 2002 e Dubná *et al.*, 2007), constituindo um grande problema em Portugal (Madeira de Carvalho *et al.*, 2005). No entanto, são poucos os estudos de prevalência publicados recentemente sobre este assunto e há pouca informação no que concerne ao risco de infecção para Humanos. Entre 1940 e 1980 foram realizados alguns trabalhos na zona de Lisboa, com prevalências entre os 7 e os 93% para *Toxocara canis* (Arandas Rego, 1980, Vieira, 1981 e Carvalho-Varela, 1991). De 1994 até 2004 o Serviço de Patologia das Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa reportou um número constante de análises positivas para *Toxocara canis* (cerca de 3%), e um decréscimo de *Toxocara cati* de 7,8% para 3,3% (Carvalho-Varela *et al.*, 1996 e Madeira de Carvalho *et al.*, 2005). Em 2005 um estudo sobre os canídeos do canil municipal de Coimbra reporta 24% de amostras positivas para *Toxocara* spp. (n=894) e 67% dos animais necropsiados infectados por este parasita (Martins *et al.*, 2005). Já em 2009 um relatório de actividades de monitorização das amostras fecais de canídeos em Lisboa reporta uma prevalência de *Toxocara canis* em 50% dos locais em estudo (Madeira de Carvalho, 2009) e em 2010 um estudo realizado à população de gatos errantes da área metropolitana de Lisboa identificou 10,8% das amostras positivas a *Toxocara cati* (Duarte *et al.*, 2010). No entanto, não existe nenhum trabalho português publicado sobre pesquisa

de ovos de *Toxocara* spp. no solo. Desta forma, é crucial efectuarem-se estudos que permitam avaliar a prevalência deste parasita não só nos animais domésticos, mas principalmente no ambiente urbano, para que se possa caracterizar a situação epidemiológica actual (Overgaauw & van Knapen, 2013). O presente trabalho teve dois objectivos: a) avaliar a prevalência de ovos de *Toxocara* spp. nos parques públicos da área da Grande Lisboa; b) comparar para cada parque, a prevalência de ovos de *Toxocara* spp. das amostras fecais com as amostras de solo. Os resultados preliminares são aqui apresentados.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Área de Estudo

Um total de 12 parques e jardins urbanos e 7 parques infantis da área da Grande Lisboa foram escolhidos e analisados para a presença de ovos de *Toxocara* spp. A escolha foi efectuada de forma a englobar a totalidade dos parques infantis da cidade de Lisboa que ainda possuem caixa de areia e ainda parques públicos e jardins representativos das grandes vias e áreas mais populosas da Grande Lisboa. Desta forma foram escolhidos os parques e jardins urbanos da Torre de Belém, Campo Grande, Gulbenkian, Bela Vista, Parque Eduardo VII, Avenida da Liberdade, Quinta das Conchas, Vale do Silêncio (Olivais), Quinta de Santo António (Algés, Miraflores), Parque Canino do Alto de Algés (R. Quinta da Formiga) e Queluz. Foram ainda escolhidos os parques infantis da Alameda Keil do Amaral, Jardim Guerra Junqueiro (Estrela), Parque Silva Porto (Mata de Benfica), Jardim Marcelino Mesquita (Amoreiras), Quinta da Cabrinha (Av. de Ceuta), Alameda D. Afonso Henriques e Jardim Constantino. Foram realizadas três visitas a cada local, em cada uma das quais foram efectuadas recolhas de amostras de fezes e de solo. As visitas foram a horas diferentes (manhã, meio-dia, e noite) de forma a conseguir uma amostra mais representativa e evitar ao máximo animais repetidos. Um total de 135 amostras de fezes de canídeos foi recolhido dos vários locais, sendo escolhidas apenas

amostras frescas e de forma aleatória pela área do parque. Foram também recolhidas 151 amostras de solo, a uma profundidade entre os 0-10 centímetros, das áreas mais frequentadas pelos animais. Ambos os tipos de amostra foram refrigerados a 4°C até serem analisadas.

### Análise Coprológica

As amostras de fezes foram analisadas pelo método adaptado de Cornell-Wisconsin (Egweg & Slocombe, 1982; Levecke *et al.*, 2012) volume 15-60 mL. Dez gramas de fezes de cada amostra foram homogeneizadas em 90mL de solução saturada de sacarose. O sobrenadante foi transferido para 4 tubos de ensaio até formar um menisco positivo. Uma lamela de vidro foi adicionada ao topo de cada tubo e após 30 minutos colocada numa lâmina que foi observada ao microscópio óptico numa ampliação de 100x.

### Análise do Solo

O sedimento presente no tamis de 0,063mm foi passado. As amostras de solo foram analisadas segundo um método de centrifugação e sedimentação/flutuação (Santarém & Sichieri, 2009). Cem gramas de solo de cada amostra foram transferidos para um saco de plástico ao qual se acrescentou 100mL de Tween 20 5%. O conteúdo foi homogeneizado durante 10 minutos e deixado repousar por 12 horas e despejado para a primeira de quatro tamises montados em série, cada um com diferentes diâmetros de poro: 1,000mm; 0,300mm; 0,150mm; 0,063mm. Os primeiros tamises serviram para reter os constituintes do solo não necessários, enquanto o último tinha um diâmetro de poro ligeiramente inferior ao diâmetro dos ovos mais pequenos de *Toxocara* spp. A amostra foi lavada em água corrente durante 30 minutos.

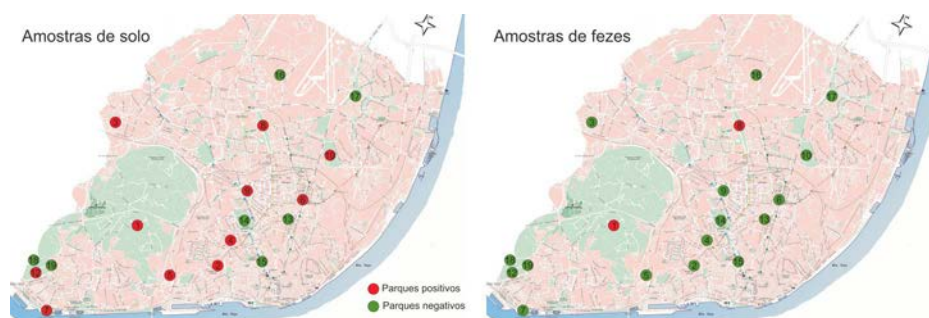
para um copo de sedimentação, ao qual foi adicionada água destilada até 2/3 do topo e deixado repousar 12h. O sobrenadante foi descartado e a camada superficial de sedimentos foi transferida para tubos de ensaio com uma pipeta de Pasteur, até preencher ¼ dos mesmos. Água destilada foi adicionada até meio de cada tubo que foi depois levado ao vórtice. Cada tubo foi centrifugado a 200 x g por 10 minutos, após os quais se descartou o sobrenadante. Solução saturada de sacarose foi adicionada até meio de cada tubo e de novo misturado no vórtice. Cada tubo foi então centrifugado a 200 x g por 10 minutos ao fim dos quais se preencheu cada um com a mesma solução saturada até formar um menisco positivo. Uma lamela de vidro foi adicionada ao topo de cada tubo e após 30 minutos posta numa lâmina que foi observada ao microscópio óptico numa ampliação de 100x.

## RESULTADOS

Foram encontrados ovos de *Toxocara* spp. no solo de 50% dos parques e jardins urbanos (6 em 12) e de 85,7% dos parques infantis (6 em 7) e ainda nas fezes de 16,7% dos parques e jardins urbanos (2 em 12) e de 14,3% dos parques infantis (1 em 7). Representa assim uma prevalência média de 63,2% (12 em 19) no solo e de 15,8% (3 em 19) nas fezes dos parques públicos estudados e uma prevalência global de 63,2% (12 em 19) combinando as amostras de solo e fezes dos 19 locais estudados, pois todos os parques com amostras de fezes positivas para *Toxocara* spp. exibiram também amostras de solo positivas. Os dados encontram-se resumidos em baixo (Tabela 1 e Figura 1).

**Tabela 1.** Síntese da prevalência de *Toxocara* spp. nos parques públicos de Lisboa, para amostras de solo e fezes.

	Análises ao solo	Análises às fezes	
	% de parques positivos	% de parques positivos	Prevalência global
<b>Parques Urbanos e Jardins</b>	50,0%	16,7%	<b>63,2%</b>
<b>Parques Infantis</b>	85,7%	14,3%	
<b>TOTAL</b>	<b>63,2%</b>	<b>15,8%</b>	



**Figura 1.** Prevalência de *Toxocara* spp. nos parques públicos de Lisboa - Mapas indicativos dos parques urbanos, jardins e parques infantis positivos e negativos a *Toxocara* spp. respectivamente para amostras de solo e amostras de fezes. Numeração relativa à Tabela 2.

## Preliminares

Relativamente às amostras individuais, 53% (80 em 151) das amostras de solo e 6% (8 em 135) das amostras de fezes deram positivo para a presença de *Toxocara* spp. Os resultados obtidos por parque público encontram-se resumidos na tabela seguinte (Tabela 2).

**Tabela 2.** Distribuição das amostras positivas por parque público de Lisboa - Percentagem de amostras de solo e de fezes positivas em cada parque urbano, jardim e parque infantil.

Nº	Parques Públicos	% de amostras de solo positivas	% de amostras de fezes positivas
1	Parque Infantil da Alameda Keil do Amaral	100% (n=8)	50% (n=8)
2	Parque Infantil do Jardim Guerra Junqueiro (Estrela)	90% (n=10)	0% (n=4)
3	Parque Infantil Silva Porto (Mata de Benfica)	90% (n=10)	0% (n=4)
4	Parque Infantil do Jardim Marcelino Mesquita (Amoreiras)	88% (n=8)	0% (n=4)
5	Parque Infantil da Quinta da Cabrinha (Av. de Ceuta)	88% (n=8)	0% (n=4)
6	Parque Infantil da Alameda D. Afonso Henriques	88% (n=8)	0% (n=4)
7	Jardim da Torre de Belém	80% (n=10)	0% (n=8)
8	Jardim do Campo Grande	78% (n=9)	38% (n=8)
9	Jardim da Gulbenkian	78% (n=9)	0% (n=8)
10	Jardim do Parque da Bela Vista	71% (n=7)	0% (n=8)
11	Parque Urbano de Queluz	25% (n=20)	5% (n=20)
12	Parque Urbano da Quinta de Santo António	13% (n=8)	0% (n=4)
13	Parque Infantil do Jardim Constantino	0% (n=3)	0% (n=4)
14	Jardim do Parque Eduardo VII	0% (n=4)	0% (n=8)
15	Jardim da Avenida da Liberdade	0% (n=3)	0% (n=8)
16	Parque da Quinta das Conchas	0% (n=3)	0% (n=6)
17	Parque do Vale do Silêncio (Olivais)	0% (n=3)	0% (n=7)
18	Parque canino de Miraflores (R. Quinta da Formiga)	0% (n=10)	0% (n=10)
19	Parque Urbano de Miraflores	0% (n=10)	0% (n=8)

## CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, existe uma prevalência elevada de ovos de *Toxocara* spp. nos parques públicos da área da Grande Lisboa. A disparidade dos valores entre as amostras fecais e as amostras de solo, e a elevada prevalência nas amostras de solo, alertam para o facto de os anteriores resultados respeitantes à prevalência de *Toxocara* spp. nos espaços públicos de Lisboa estarem provavelmente subvalorizados. Esta realidade representa um elevado risco de exposição para animais e humanos, tendo os parques e jardins urbanos e os parques infantis um papel importante na perpetuação desta infecção. O facto de todos os parques infantis, à excepção do parque do Jardim Constantino, apresentarem prevalências superiores às apresentadas nos parques e jardins urbanos, indicam que as caixas de areia usadas no mobiliário urbano para crianças são desadequadas, aumentando assim o risco de problemas de saúde pública numa faixa etária por si já mais susceptível a infecções. Acções que visem a descontaminação da

areia destes parques, ou a substituição das caixas de areia por pavimento sintético adequado à prática de exercício, são de extrema urgência. Estes resultados levantam ainda questões sobre a importância relativa dos cães e gatos na disseminação urbana deste parasita, indicando que os gatos errantes talvez possam ter um papel muito mais importante que os cães, tal como sugerido anteriormente por outros autores (Fahrion *et al.*, 2011; Riggio *et al.*, 2013 e Öge *et al.*, 2014). Mais estudos são necessários, de forma a caracterizar a situação e assim alertar as autoridades municipais a fim de serem tomadas as acções apropriadas para o seu controlo. Mais ainda, as recentes descobertas de elevada prevalência de *Toxocara canis* nas populações silvestres de raposa-vermelha (*Vulpes vulpes silacea*) e outros carnívoros silvestres (Guerra *et al.*, 2012 e Silva, 2010), simultaneamente ao aumento de avistamentos de indivíduos desta espécie na zona urbana da Grande Lisboa, deve ser alvo de estudo que avaliar a circulação destes animais e o seu papel na disseminação deste e de outros parasitas zoonóticos a nível urbano.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arandas Rego, A. (1980). Contamination of the soil in parks and gardens of Lisbon by eggs of *Toxocara* and other helminths. *Anais Da Escola Superior de Medicina Veterinária*, 22, 152–162.
- Carvalho-Varela, M. (1991). Situação actual das zoonoses parasitárias em Portugal Continental. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas*, 14 (3), 171–182.
- Carvalho-Varela, M., Meireles, J. A. F. S., Pereira da Fonseca, I. M., & Madeira de Carvalho, L. M. (1996). *Aspectos Globais dos Resultados obtidos no Laboratório de Patologia das Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa* (p. 4). Coimbra.
- Duarte, A., Castro, I., Pereira da Fonseca, I. M., Almeida, V., Madeira de Carvalho, L. M., Meireles, J., ... Vaz, Y. (2010). Survey of infectious and parasitic diseases in stray cats at the Lisbon Metropolitan Area, Portugal. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12(6), 441–6. doi:10.1016/j.jfms.2009.11.003
- Dubná, S., Langrová, I., Jankovská, I., Vadlejch, J., Pekár, S., Nápravník, J., & Fechtner, J. (2007). Contamination of soil with *Toxocara* eggs in urban (Prague) and rural areas in the Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, 144(1-2), 81–6. doi:10.1016/j.vetpar.2006.09.023
- Egweg, T. G., & Slocombe, J. O. (1982). Evaluation of the Cornell-Wisconsin centrifugal flotation technique for recovering trichostrongylid eggs from bovine feces. *Canadian Journal of Comparative Medicine. Revue Canadienne de Médecine Comparée*, 46(2), 133–7.
- Fahrion, a S., Schnyder, M., Wichert, B., & Deplazes, P. (2011). *Toxocara* eggs shed by dogs and cats and their molecular and morphometric species-specific identification: is the finding of *T. cati* eggs shed by dogs of epidemiological relevance? *Veterinary Parasitology*, 177(1-2), 186–9. doi:10.1016/j.vetpar.2010.11.028
- Guerra, D., Silva, M., Bravo, I., Valverde, A., Minas, M., Santos, N., ... Madeira de Carvalho, L. (2012). Wild carnivores as key hosts for the maintenance of *Toxocara* spp. in Portugal. In *Toxocara 2012 ESCCAP Event, 3-5 October 2012* (p. 1). Budapest.
- Kazacos, K. R. (2002). Larva Migrans From Pets and Wildlife. *Supplement to Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 24(Nº1), 41–46.
- Levecke, B., Rinaldi, L., Charlier, J., Maurelli, M. P., Bosco, A., Vercruysse, J., & Cringoli, G. (2012). The bias, accuracy and precision of faecal egg count reduction test results in cattle using McMaster, Cornell-Wisconsin and FLOTAC egg counting methods. *Veterinary Parasitology*, 188(1-2), 194–9. doi:10.1016/j.vetpar.2012.03.017
- Madeira de Carvalho, L. M. (2009). *Relatório de Actividades de Monitorização das Amostras Fecais de Canídeos na Cidade de Lisboa no Biénio 2007-2008 para avaliação do Parasitismo Gastrintestinal e do risco de contaminação de espaços públicos ao abrigo do Protocolo FMV/CML* (p. 6). Lisboa.
- Madeira de Carvalho, L. M., Carreira, M. C. P., Santos, S. G., Pereira da Fonseca, I. M. S., Afonso-Roque, M. M., & Fazendeiro, M. I. (2005). *Toxocarose/Larva Migrante Visceral – Um problema de Saúde Pública urbano? Situação epidemiológica na área da Grande Lisboa* (Vol. 1, p. 5). Lisboa.
- Madeira de Carvalho, L. M., Pereira da Fonseca, I. M., Rosário, M. A. R., Soares, M. J. A., Gomes, L. M. N., Meireles, J. A. F., & Fazendeiro, M. I. (2005). Dermatoses parasitárias em pequenos animais. Casuística de 1999-2004 do Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV. In *XXIX Jornadas Médicas- Veterinárias da FMV, Oncologia, Dermatologia e Oftalmologia em Pequenos Animais. 15-17 Abril 2005, FMV/UTL* (p. 3).
- Martins, S., Sousa, S., & Portugal, M. (2005). Estudo parasitológico dos canídeos recolhidos pelo canil municipal de Coimbra. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, Suplemento*, 1–17.
- Öge, H., Öge, S., Özbakiş, G., & Gürcan, S. (2014). Comparison of *Toxocara* eggs in hair and faecal samples from owned dogs and cats collected in Ankara, Turkey. *Veterinary Parasitology*. doi:10.1016/j.vetpar.2014.10.005
- Overgaauw, P. a M., & van Knapen, F. (2013). Veterinary and public health aspects of *Toxocara* spp. *Veterinary Parasitology*, 193(4), 398–403. doi:10.1016/j.vetpar.2012.12.035
- Riggio, F., Mannella, R., Ariti, G., & Perrucci, S. (2013). Intestinal and lung parasites in owned dogs and cats from central Italy. *Veterinary Parasitology*, 193(1-3), 78–84. doi:10.1016/j.vetpar.2012.11.026
- Santarém, V. A., Magoti, L. P., & Sichieri, T. D. (2009). Influence of variables on centrifuge-flotation technique for recovery of *Toxocara canis* eggs from soil. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 51(3), 163–167. doi:10.1590/S0036-46652009000300007
- Silva, M. (2010). *Rastreio de Parasitas Gastrintestinais, Pulmonares, Cutâneos e Musculares em Canídeos Domésticos e Silvestres no Norte de Portugal*. Universidade Técnica de Lisboa.
- Vieira, R. A. (1981). Parasitismo em cães de 5 áreas rurais dos arredores de Lisboa. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas*, 4, 257–273.

## **10.2. Anexo 2 - Artigo técnico Revista Clínica Animal**

David Otero, Ana Ferreira, Ana Margarida Alho, Luís Madeira de Carvalho (2015). *Toxocara* spp.: a lombriga de estimação dos carnívoros domésticos e silvestres em Portugal. Revista Clínica Animal, 3, 30-35.

# Toxocara spp.: a lombriga de estimação dos carnívoros domésticos e silvestres em Portugal

Os nemátodes do género *Toxocara* são parasitas monóxenos cuja forma adulta vive no intestino delgado de mamíferos domésticos e selvagens. No entanto, há também diversos hospedeiros paraténicos, incluindo o Homem, em que as formas larvares podem causar doença.

David Otero<sup>1</sup>, Ana Ferreira<sup>1</sup>,  
Rita Cruz<sup>1</sup>, Ana Margarida Alho<sup>1</sup>,  
Luís Madeira de Carvalho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal (CIISA), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa (FMV-ULisboa).

\*Contacto do autor de correspondência:  
Luís Madeira de Carvalho:

madeiradecarvalho@fmv.ulisboa.pt  
Endereço: CIISA, Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, 1300-477 Lisboa, Portugal.  
Imagens cedidas pelos autores

## Introdução

Com o aumento da densidade populacional nas grandes cidades e, conseqüente aumento de cães e gatos, o ambiente urbano tem sido cada vez mais afetado pela contaminação ambiental e pela poluição fecal de jardins e parques públicos. Por todas estas razões, a *Toxocarose* é atualmente a zoonose parasitária mais comum nos países desenvolvidos (Madeira de Carvalho, Carreira, *et al.* 2005; Otero *et al.* 2014). Também os carnívoros silvestres têm revelado elevadas prevalências desta infeção, possivelmente potenciadas pela pressão humana sobre os seus habitats. Com a crescente presença de carnívoros sil-

vestres nas cidades e suas imediações, em particular as populações de raposa-vermelha (*Vulpes vulpes silacea*), quadros de infeção cruzada entre carnívoros domésticos e silvestres são cada vez mais frequentes, podendo agravar a gestão deste problema de Saúde Pública (Antolová *et al.* 2004; Reperant *et al.* 2007; Deplazes *et al.* 2011; Silva 2010; Guerra *et al.* 2012).

## Biologia

O género *Toxocara* é classificado no reino Animalia, filo Nematelminthes, classe Nematoda, ordem Ascaridida, superfamília Ascaridoidea, família Toxocaridae (Foreyt 2001; Despommier 2003). Das diversas espécies conhecidas as mais importantes em Medicina Veterinária e Saúde Pública são *Toxocara canis* Werner, 1782 e *Toxocara cati* Schrank, 1788, não só pela distribuição cosmopolita, mas principalmente pelo seu potencial zoonótico. *T. canis* tem como hospedeiros definitivos o cão, raposa e lobo, entre outros canídeos silvestres, enquanto *T. cati* tem o gato, gato-bravo, lince e gineta, entre outros felídeos e viverrídeos silvestres. Contudo é importante referir que ambas as espécies podem utilizar praticamente qualquer mamífero como hospedeiro paraténico, incluindo o Homem (Holland & Smith 2006).

Relativamente à sua morfologia, os adultos de *T. canis* apresentam uma boca na extremidade anterior, rodeada por três lábios, um dorsal e dois subventrais (Bowman *et al.* 2009) (Figura 1). Em ambos os sexos existe uma proeminente asa cervical em formato de lança e um bulbo glandular esofágico, denominado ventrículo, localizado na junção do esófago com o intestino (Bowman *et al.*

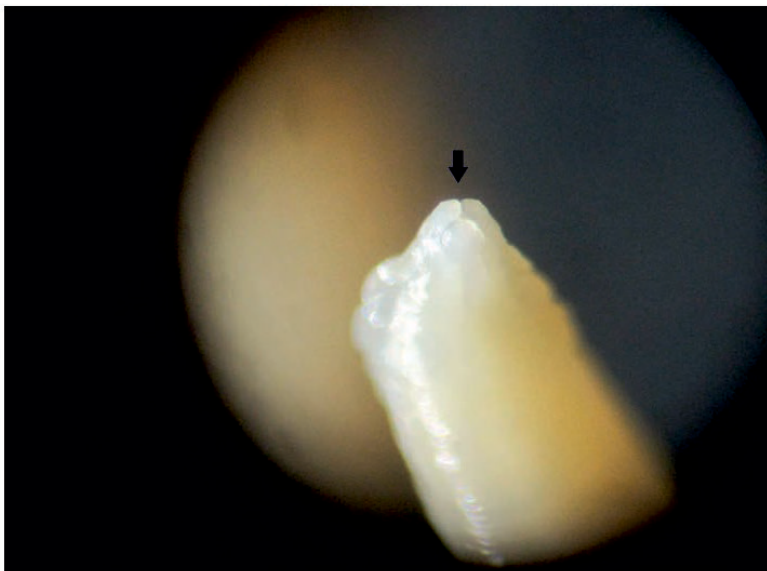


Figura 1. Extremidade anterior de *Toxocara canis* adulto, destacando a boca rodeada pelos três lábios (seta) (10x).

2009). Os machos medem 4 a 6 cm de comprimento, enquanto as fêmeas medem entre 6,5 a mais de 15 cm. Os exemplares adultos de *T. cati* são em tudo semelhantes aos de *T. canis*, contudo a asa cervical tem forma de seta e é menos comprida e mais larga (Schmidt & Roberts 2008). Também o comprimento do parasita é menor em relação ao de *T. canis*, possuindo entre 4 a 12 cm (Foreyt 2001; Bowman *et al.* 2009). Ambas as espécies têm uma coloração creme, sendo visível nos parasitas frescos, os seus órgãos reprodutivos internos de cor branca (Bowman *et al.* 2009).

No que respeita às características morfológicas dos ovos do género *Toxocara*, há a destacar a presença de uma casca externa (Figura 2), característica evolutiva que lhes confere grande resistência a ambientes extremos ou a agentes químicos e físicos, possibilitando assim, a sua sobrevivência e permanência no meio exterior, com capacidade infetante, durante meses a anos (Bowman *et al.* 2009). Microscopicamente os ovos de *T. canis* e *T. cati* são praticamente idênticos, sendo a distinção entre ambas as espécies difícil e pouco precisa. Apresentam dimensões ligeiramente diferentes, sendo o tamanho médio dos ovos de *T. canis* de 74,8x86 µm (com diâmetro mínimo de 74,0 µm e máximo de 86,8 µm) e o tamanho dos ovos de *T. cati* de 62,3x72,7 µm (com diâmetro mínimo de 61,8 µm e máximo de 73,3 µm). Este conhecimento permite assim que, com o auxílio de um micrómetro, se possa realizar uma identificação um pouco mais precisa (Fahrión *et al.* 2011). Segundo alguns autores também a forma dos ovos de ambas as espécies difere, sendo os de *T. canis* mais subsféricos enquanto os de *T. cati* são mais elípticos (Araujo 1972). A densidade específica é praticamente idêntica, sendo 1,09 g/cm<sup>3</sup> para ovos de *T. canis* e de 1,10 g/cm<sup>3</sup> para ovos de *T. cati* (David & Lindquist 1982).

Os ovos recuperados de amostras fecais são uniformemente arredondados ou ovais, contendo no centro um embrião unicelular, redondo e de coloração escura. Os ovos apresentam uma parede dupla e espessa, sendo a parede interna bem delimitada e escura e a parede externa clara e ondulada, semelhante a uma bola de golf, característica marcante dos ovos deste género. Nos ovos recuperados do solo está sempre presente a parede externa do ovo, de coloração clara e aspecto ondulado. Já a parede interna, pode perder grande parte da sua estrutura e coloração, consequência do de-

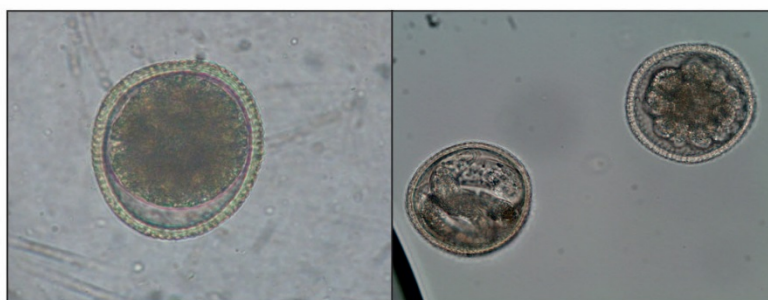


Figura 2. Ovo de *Toxocara canis*, com embrião unicelular (160x), obtido a partir de uma amostra fecal (esquerda) e ovos de *Toxocara canis* com larva L2/L3 (centro) e embrião pluricelular (direita), obtido a partir de uma amostra de solo (80x).

seenvolvimento do embrião, que se pode encontrar desde a forma larvar bicelular até larvas de 3.º estágio (L3) (Figura 2) (Araujo 1972).

Os parasitas adultos vivem no intestino delgado dos seus hospedeiros definitivos, produzindo uma elevada quantidade de ovos (em média 200.000 ovos por dia/fêmea) que são expelidos juntamente com as fezes do hospedeiro. Os ovos, com o embrião unicelular, não têm ainda capacidade infetante e acumulam-se no ambiente onde, em situações ideais de temperatura, humidade e tensão de oxigénio, iniciam a sua maturação, necessitando de 3 a 6 semanas no ambiente para se tornarem infetantes, passando para a larva L1, depois L2 e por fim L3 (Araujo 1972; Zajac & Conboy 2012; Overgaauw 1997). Embora haja autores que afirmem que a larva apenas se desenvolve até L2 no ambiente, sendo esta a forma infetante, (Urquhart *et al.* 1996; Cordero del Campillo & Rojo Vázquez 2001), vários estudos de microscopia electrónica demonstraram que as larvas passam por duas mudas ainda dentro do ovo, fazendo da larva L3 o verdadeiro estágio infetante (Araujo 1972; Uhlíkova & Hübner 1982; Bruňáská *et al.* 1995).

Relativamente às formas de infeção, para *T. canis* existem quatro vias de infeção possíveis: infeção direta, pela ingestão de ovos embrionados; infeção pré-natal, através de migração transplacentária; infeção galactogénica, por consumo de larvas no leite; e infeção por consumo de hospedeiros paraténicos infetados (Urquhart *et al.* 1996; Cordero del Campillo & Rojo Vázquez 2001).

Quando um cão consome ovos de *T. canis* as larvas L3 podem eclodir no estômago e duodeno do animal, 2 a 4 horas após a ingestão, e migrar através da parede intestinal, sistema porta, fígado, veia cava caudal, coração e artéria pulmonar, chegando então aos

capilares pulmonares, 36 horas depois. Aqui, consoante a idade, estado imunológico do animal e quantidade de larvas em migração, podem seguir uma de duas rotas: penetração nos alvéolos pulmonares ou permanência em circulação (Araujo 1972; Urquhart *et al.* 1996; Holland & Smith 2006; Bowman *et al.* 2009). Caso a larva penetre nos alvéolos pulmonares realiza uma migração traqueal, sendo então deglutida, passando para o esófago, voltando assim ao intestino onde continua o seu desenvolvimento para larva L4 e L5, sofrendo maturação sexual e fixando-se como adulto, macho ou fêmea, que reinicia então o ciclo com a expulsão de ovos nas fezes. Este ciclo é mais comum em juvenis que nunca foram infetados antes, assim como em cães imunodeprimidos (Araujo 1972; Urquhart *et al.* 1996; Overgaauw 1997; Holland & Smith 2006; Bowman *et al.* 2009; Strube *et al.* 2013). Caso a larva chegue aos capilares pulmonares e continue em circulação, volta ao coração e realiza uma migração somática até outros órgãos e tecidos, tais como o fígado, pulmões, cérebro, coração, músculo-esquelético e paredes do sistema digestivo, onde acaba por enquistar, ainda como larva L3, e originar uma larva infetante cativa. É esta migração que acontece nos hospedeiros paraténicos e na grande maioria dos animais adultos, previamente infetados. Caso um animal com larvas enquistadas seja consumido por um hospedeiro definitivo, a larva é de novo ativada, completando o seu ciclo (Araujo 1972; Overgaauw 1997; Holland & Smith 2006; Strube *et al.* 2013).

Do ponto de vista epidemiológico, as larvas infetantes enquistadas no tecido de fêmeas da espécie canina são de grande importância. Em caso de gravidez, as larvas tissulares L3 são ativadas em média no 42.º dia de gestação devido a hormonas do hospedeiro, voltando à corrente sanguínea por

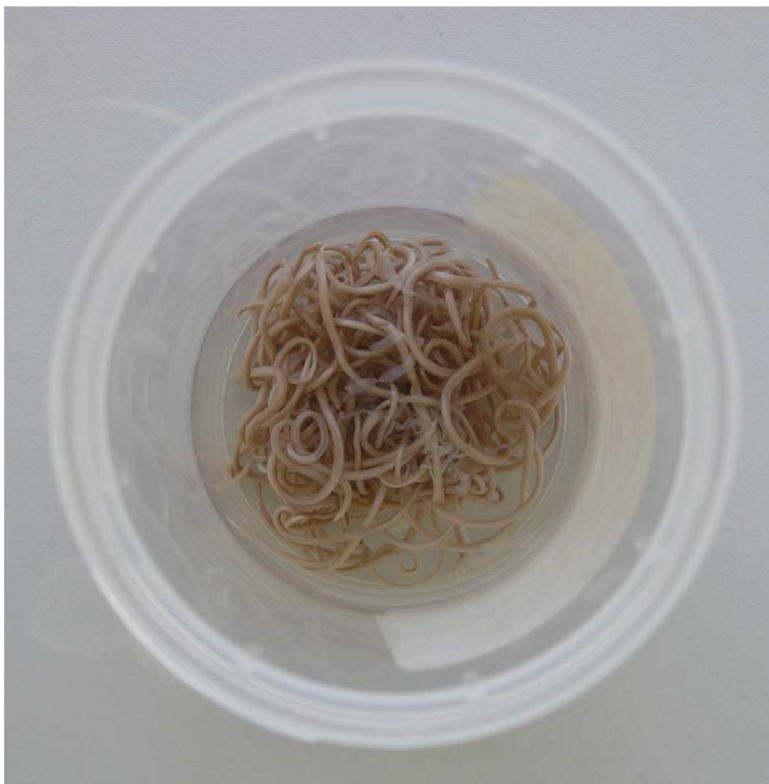


Figura 3. Intensa infecção parasitária em cão por *Toxocara canis*.

onde são levadas até às placentas e entram na circulação fetal, realizando assim uma migração transplacentária. Já nos fetos completam a migração traqueal e alojam-se nos intestinos, começando os parasitas adultos a eliminar ovos dentro de três a quatro semanas (Araujo 1972). Algumas das larvas da fêmea gestante, em vez de migrarem para o útero, completam a migração traqueal, resultando em parasitas adultos que eliminam grande quantidade de ovos nas semanas seguintes ao parto, perpetuando-se assim este ciclo (Urquhart *et al.* 1996).

Outra via possível de infecção é a transmamária, embora de menor importância. Após o parto, ocorre a reativação de um pequeno número de larvas maternas enquistadas, que irão efetuar uma migração transmamária. A eliminação de larvas no leite começa logo após o parto e atinge o pico máximo na segunda semana. Neste caso o parasita não efetua migração, desenvolvendo-se imediatamente até ao estágio adulto, no intestino dos recém-nascidos (Araujo 1972; Schmidt & Roberts 2008; Bowman *et al.* 2009).

Nos gatos a infecção por *T. cati* é em tudo idêntica à de *T. canis* no cão, excetuando

três aspetos: não existe infecção transplacentária nesta espécie; a ocorrência de migração traqueal permanece elevada ao longo da vida do animal, mesmo em gatos previamente infetados; e a infecção transmamária nos gatos é a principal forma de infecção dos recém-nascidos (ao contrário dos cães, em que é quase irrelevante) (Strube *et al.* 2013). Sendo os felinos predadores por excelência, a infecção por ingestão de roedores e outros hospedeiros paraténicos é de extrema importância na perpetuação desta parasitose (Schmidt & Roberts 2008; Bowman *et al.* 2009).

Em suma, o período pré-patente médio em cães aquando da ingestão de ovos é de 32 a 39 dias, 21 dias para infecções pré-natais e de 27 a 35 dias para infecções transmamárias. Já em gatos, o período pré-patente médio é de cerca de 6 semanas para todas as situações (BSCCAP 2010). Alguns autores referem tempos ligeiramente diferentes: em cães desde 6 semanas (Foreyt 2001) a 2 meses (Bowman *et al.* 2009), e em gatos de 50 dias (Foreyt 2001) a 2 meses (Bowman *et al.* 2009), sendo o período patente em cão e gato de 4 a 6 meses (BSCCAP 2010).

## Epidemiologia

Nas últimas décadas, diversos estudos têm documentado elevadas taxas de infecção por *Toxocara* spp. bem como um aumento da sua distribuição a nível mundial. Estão reportadas prevalências em amostras fecais de cães de 48,4% para zonas rurais e 26,2% para zonas urbanas de Itália (Habluetzel *et al.* 2003); 40,7% em cães errantes adultos e 82,6% em juvenis errantes no Irão (Daryani *et al.* 2008); 17,7% em cães errantes em Espanha (Martínez-Moreno *et al.* 2007); e 6,2% em cães na República Checa (Dubná, Langrová, Nápravník, *et al.* 2007). As amostras de fezes de gato têm apresentado valores semelhantes, com prevalências de 55,2% em Espanha (Calvete *et al.* 1998); 42,5% em gatos com proprietário no México (Martínez-Barbabosa *et al.* 2003); e 36% em gatos errantes da Argentina (Sommerfelt *et al.* 2006).

Para além da elevada taxa de infecção em canídeos e felídeos domésticos, diversos estudos têm documentado valores alarmantes de contaminação ambiental por ovos de *Toxocara* spp. O número de parques públicos, jardins ou quintais positivos a *Toxocara* spp. foi documentado como sendo de 50,7% no Brasil (Sprenger *et al.* 2014); 45% na República Checa (Dubná, Langrová, Jankovská, *et al.* 2007); 37,5% no Chile (Castillo *et al.* 2000); 29,3% na Polónia (Gawor *et al.* 2008); 22% nos EUA (Paul *et al.* 1988); 16,4% em Espanha (Dado *et al.* 2012); e 8% no Japão (Matsuo & Nakashio 2005).

Em Portugal os dados acompanham a tendência mundial. De 1994 até 2004 o Serviço de Patologia das Doenças Parasitárias da FMV-ULisboa reportou um número constante de 3% de análises positivas para *T. canis*, e um decréscimo de *T. cati* de 7,8% para 3,3% (Carvalho-Varela *et al.* 1996; Madeira de Carvalho, Pereira da Fonseca, *et al.* 2005). Num estudo de 2005 em canídeos do canil municipal de Coimbra foi reportado um total de 24% de amostras positivas para *Toxocara* spp. (n=260) e 67% dos animais sujeitos a necropsia infetados por este parasita (Martins *et al.* 2005). No mesmo ano, um estudo coprológico com 44 gatos errantes da área da Grande Lisboa, detetou ovos de *T. cati* em 13,6% dos animais (Vaz *et al.* 2005). Em 2009 um relatório de atividades de monitorização das amostras fecais de canídeos em Lisboa reportou uma prevalência de *T. canis* em 50% dos locais em estudo (Madeira de Carvalho 2009) e em 2010 um estudo realizado à população de gatos errantes da área metropolitana de Lisboa identificou 10,8% das amostras positivas

a *T. cati* (Duarte *et al.* 2010). Em 2011, um estudo efetuado em cães de canis da cidade de Lisboa reportou uma prevalência de 2,8% dos animais parasitados por *T. canis* (Lebre 2011). No mesmo ano, um estudo a 126 cães e 22 gatos de canis/gatis e clínicas veterinárias do distrito de Évora, reportou uma prevalência de 1,3% em cães e 10,0% em gatos, para ovos de *T. canis* e *T. cati*, respetivamente (Ferreira *et al.* 2011). Em 2014, um estudo analisou 175 cães sem sinais clínicos e 193 cães com sinais de doença gastrointestinal, todos admitidos num Hospital Veterinário da zona do Grande Porto. Do primeiro grupo 5,1% foram positivos para ovos de *T. canis* após exame coprológico e 7,8% de positivos no segundo grupo (Neves *et al.* 2014). Já em 2015, um estudo reportou 63,2% de prevalência no solo de parques públicos de Lisboa e 15,8% de prevalência nas amostras fecais desses mesmos parques (Otero *et al.* 2014).

Há também que salientar o impacto da Toxocarose em animais silvestres. Um estudo de 2010 no norte de Portugal reportou prevalências de 7,3% em lobo-ibérico (*Canis lupus signatus*), 24,7% em raposa-vermelha (*Vulpes vulpes silacea*) e 10,3% no cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) (Silva 2010). Num estudo semelhante de 2012 as prevalências reportadas foram de 11,8%, 12,1% e 0% em lobo, raposa e cão, respetivamente (Guerira 2012). Em 2011 foram analisadas amostras fecais de 66 linces (*Lynx pardinus*) em liberdade na zona de Andaluzia (Espanha) dos quais 19,7% estavam parasitados por *Toxocara* spp. (Acosta *et al.* 2011).

Por todos os resultados acima reportados, é possível concluir a importância e risco desta parasitose a nível de Saúde Pública, nomeadamente em Portugal, onde a Toxocarose

se tem atingido níveis de prevalência preocupantes (Madeira de Carvalho, Carreira, *et al.* 2005; Otero *et al.* 2014).

### Sinais Clínicos

A sintomatologia varia consoante a gravidade da infeção, dependendo de fatores como a idade do animal, carga parasitária, localização e estágio de desenvolvimento destes vermes (Katagiri & Oliveira-Siqueira 2007). Geralmente este parasita não causa sinais de doença em animais mais velhos mas sim em animais jovens, em particular devido à transmissão transplacentária (Zajac & Conboy 2012). Nestes casos, os sinais clínicos incluem vômito (por vezes com parasitas), diarreia, abdómen distendido, atrasos no crescimento e má condição da pelagem (El-sheikha & Khan 2011). A migração das larvas pode ainda causar sinais respiratórios como tosse, taquipneia, corrimento nasal (Katagiri & Oliveira-Siqueira 2007) e até pneumonia (Ballweber 2001), podendo ainda ocorrer lesões hepáticas (Foreyt 2001). Em situações de grandes cargas parasitárias (Figura 3), pode ocorrer obstrução ou perfuração da parede intestinal (El-sheikha & Khan 2011) e obstrução dos ductos colédoco e pancreático, podendo levar à morte (Bowman *et al.* 2009).

### Diagnóstico

As infeções por *Toxocara* spp. são normalmente diagnosticadas por observação dos respetivos ovos nas técnicas de flutuação fecal simples (com solução saturada de sacarose) ou após centrifugação (Figura 4) (El-sheikha & Khan 2011; Zajac & Conboy 2012). Atendendo à dificuldade na diferenciação

dos ovos de *T. canis* e *T. cati* no que considerando a sua morfologia (Uga *et al.* 2000), podem utilizar-se técnicas de biologia molecular como PCR para a identificação da espécie. Contudo, há que referir que estas técnicas moleculares não são utilizadas nos processos de rotina adotados pelos laboratórios (Overgaauw & van Knapen 2013).

Uma vez que as fêmeas deste parasita são muito prolíferas, a falha de deteção de ovos nas fezes é pouco provável (CAPC, 2012). No entanto, a coprofagia observada em vários animais pode sobrestimar infeções por *Toxocara* spp., uma vez que podem ser detetados ovos que apenas estão a realizar a sua passagem pelo intestino do hospedeiro (Overgaauw & van Knapen, 2013; Nijse *et al.*, 2014).

A pesquisa de infeção não patente em animais domésticos pode também ser efetuada em cadelas e gatas reprodutoras para determinar se estas são portadoras de larvas somáticas (Overgaauw 1997). Nestes casos, o diagnóstico é efetuado por ELISA, permitindo a identificação de um conjunto de proteínas excretadas e secretadas pelas larvas, denominadas TES – *Toxocara Excretory-Secretory*. A presença de eosinofilia elevada pode também sugerir infeção por *Toxocara* spp. nestes animais, em particular se for possível descartar outras fontes parasitárias (Schmidt & Roberts 2008).

### Terapêutica e Controlo

O diagnóstico correto e o tratamento atempado dos animais afetados por Toxocarose é essencial para diminuir o risco de infeção a outros animais e Humanos. Este é ainda mais importante nas fêmeas gestantes pelo seu

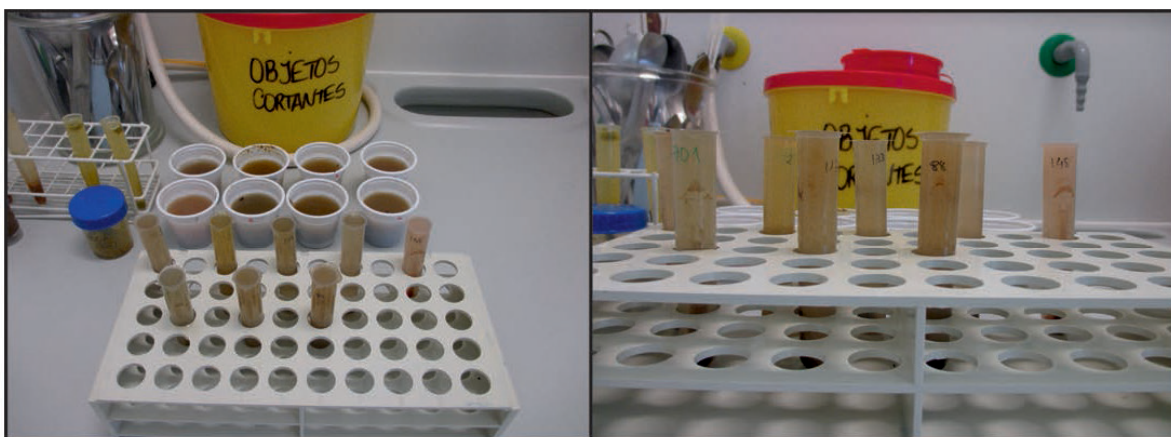


Figura 4. Técnica de flutuação fecal simples utilizando solução saturada de sacarose para observação de ovos de *Toxocara* spp.

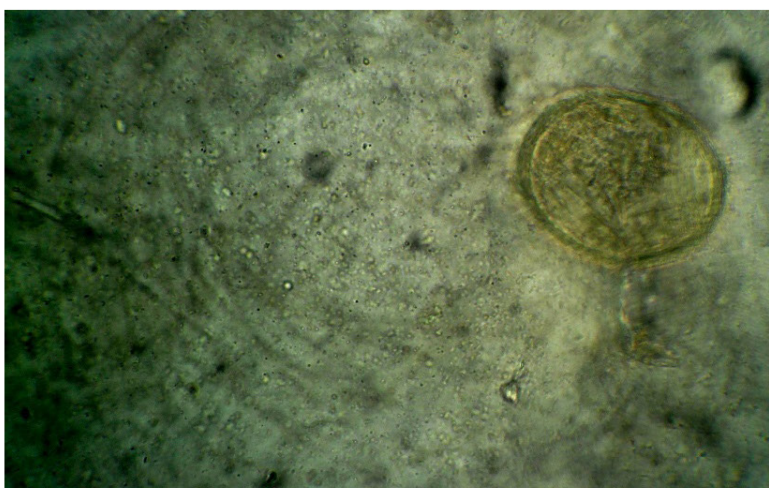


Figura 5. Ovo de *Toxocara canis* com destruição do embrião, após contacto com fungo *Pochonia clamydosporia* (400x).

papel como reservatórios de infecção. Atendendo à possibilidade de transmissão transplacentária desta doença, todos os cachorros devem ser considerados como infetados ao nascimento (Bowman *et al.* 2009), devendo por isso efetuar-se a sua desparasitação com pamoato de pirantel às 2, 4, 6 e 8 semanas e, a partir daí, todos os meses até aos 6 meses de idade (ESCCAP 2010; CAPC 2013). Como nos gatos não ocorre infecção pré-natal, os gatinhos podem começar a sua desparasitação às 3 semanas de idade, devendo esta ser repetida às 5 e 7 semanas e, posteriormente todos os meses até aos 6 meses.

Para evitar infecções patentes, as mães devem também ser desparasitadas e se possível, em simultâneo com as suas crias (ESCCAP 2010). As cadelas podem ser desparasitadas antes do acasalamento e duas semanas antes da data prevista do parto, com ou sem um tratamento diário com febendazol (50 mg/kg PO), a partir do último terço de gestação até à primeira etapa da lactação. No entanto, nem sempre é realizado uma vez que os anti-helmínticos não são muito eficazes contra as larvas enquistadas nos tecidos somáticos, perpetuando o risco de transmissão pré-natal (Overgaauw & van Knapen 2013).

A frequência de tratamento aconselhada para animais adultos é de quatro vezes por ano. Nos casos de elevado risco de infecção (nomeadamente em canis, agregados familiares com crianças pequenas ou utilização rotineira de jardins públicos), esta frequência pode ser elevada para mensal, prevenindo assim infecções patentes, ao considerar as 4 semanas de período pré-patente (ESCCAP 2010).

O tratamento mais adequado para ascariídeos consiste na administração de um anti-helmíntico como mebendazol, febendazol, febantel, pamoato de pirantel, nitroscanato, emodepside, milbemicina oxima, moxidectina e selamectina. Está também aprovado o uso de praziquantel em combinação com febendazol, febantel, pamoato de pirantel e milbemicina oxima (Alho *et al.* 2010; CAPC 2013). Em alternativa à desparasitação repetida pode efetuar-se uma terapêutica baseada em exames fecais periódicos, mensais ou trimestrais (Overgaauw & van Knapen 2013; ESCCAP 2010).

Para descontaminação do solo e controlo ambiental podem ser utilizadas diferentes metodologias, tais como: cobertura do solo com lâminas de vinil para destruição dos ovos de *Toxocara* spp. (nas regiões com temperaturas superiores a 30°C e durante um mínimo de 3 horas) (Uga & Kataoka 1995); aplicação de fontes de calor, utilizando uma temperatura superior a 60°C durante 5 minutos (Bowman *et al.* 2009); exposição à luz ultravioleta; e solução aquosa iodada (Overgaauw 1997).

Contudo, devido ao aparecimento de resistências anti-helmínticas e à necessidade de diminuir as concentrações residuais destes fármacos nos alimentos e meio ambiente, surgiu a necessidade de explorar outras alternativas terapêuticas. A utilização de fungos telúricos nematófagos tem sido considerada uma abordagem bastante interessante (Figura 5). De uma forma geral, os fungos são constituídos por hifas, estruturas cilíndricas filamentosas que originam espo-

ros e que são responsáveis pela sua propagação. Em situações ambientais adversas, ocorre o desenvolvimento de clamidosporos, estruturas semelhantes aos esporos mas com uma parede espessa e resistente e com uma reserva nutritiva. Já em condições favoráveis, o clamidosporo dá origem a uma nova hifa, permitindo, desta forma, a sobrevivência do fungo (Larone 2011). Estes fungos atuam nos ovos e larvas dos parasitas presentes no solo, destruindo-os, e quebrando assim o ciclo de vida do parasita. Como os esporos fúngicos não produzem efeitos nocivos no ambiente ou animal, e como resistem ao processo digestivo, é possível administrá-los oralmente, sendo eliminados juntamente com as fezes para o solo, onde irão atuar (Verissimo 2008; Braga & De Araújo 2014).


Para controlo biológico no género *Toxocara*, os fungos utilizados são ovicidas, sendo que a sua atividade decorre em quatro fases: inicialmente, na proximidade dos ovos, os esporos dos fungos desenvolvem-se e entram em contacto com a forma parasitária; seguidamente, algumas hifas aderem à cápsula e, através de fenómenos mecânicos e enzimáticos, penetram no ovo; já no interior do ovo, os fungos ramificam-se e destroem gradualmente o embrião em desenvolvimento; quando já não existem mais nutrientes, o fungo abandona o ovo, dando-se o processo final de destruição total da forma parasitária (Malagón 2014; Braga & De Araújo 2014). Estudos recentes realizados *in vitro*, em placa com meio de agar-água com *Pochonia clamydosporia* e ovos de *T. canis*, demonstraram uma atividade ovicida de tipo 3 (correspondente à destruição total do ovo) de 43,8% ao fim de 15 dias (Frassy *et al.* 2010) e de 86% ao fim de 42 dias (Thapa *et al.* 2015). Foi também verificado que a concentração inicial de clamidosporos tem influência na atividade ovicida (Araujo *et al.* 2013), tendo-se observado uma taxa de redução de 53% sobre ovos de *T. canis*, 30 dias após a adição de uma suspensão com esporos do fungo *Mucor circinelloides* (Malagón 2014).

Atendendo à gravidade da patologia provocada por *Toxocara* spp., o seu potencial zoonótico e considerando as elevadas prevalências documentadas na literatura, é fundamental apostar na consciencialização dos proprietários dos animais de companhia, promovendo uma profilaxia adequada e regular, que permita assegurar uma boa Saúde Animal, Humana e Ambiental, i.e., uma só saúde de qualidade. □

## Referências Bibliográficas

- BerentAcosta, L. *et al.*, 2011. Helminth parasites in faecal samples from the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Veterinary parasitology*, 179(1-3), pp. 175-9.
- Alho, A.M. *et al.*, 2010. Formas larvares dos helmintos: o elo mais forte na desparasitação do cão e do gato. *Veterinary Medicine*, 12(71), pp. 33-46.
- Antolová, D. *et al.*, 2004. Circulation of *Toxocara* spp. in suburban and rural ecosystems in the Slovak Republic. *Veterinary parasitology*, 126(3), pp. 317-24.
- Araujo, J.M. *et al.*, 2013. Predatory activity of chlamydospores of the fungus *Pochonia chlamydosporica* on *Toxocara canis* eggs under laboratory conditions. *Revista Brasileira de parasitologia veterinária = Brazilian journal of veterinary parasitology. Órgão Oficial do Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, 22(1), pp. 171-4.
- Araujo, P., 1972. Observações pertinentes as primeiras ecdises de larvas de *Ascaris lumbricoïdes*, *A. suum* e *Toxocara canis*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 14(2), pp. 83-90.
- Ballweber, L.R., 2001. *The Practical Veterinarian - Veterinary Parasitology* 1st ed., Woburn, Massachussets, USA: Butterworth-Heinemann.
- Bowman, D.D. *et al.*, 2014. *Georgis' parasitology for veterinarians* 10th ed., St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Braga, F.R. & De Araujo, J.V., 2014. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(1), pp. 71-82.
- Bruňaská, M., Dubinský, P. & Reiterová, K., 1995. *Toxocara canis*. Ultrastructural aspects of larval moulting in the maturing eggs. *International Journal for Parasitology*, 25(6), pp. 683-690.
- Calvete, C. *et al.*, 1998. Gastrointestinal helminth parasites in stray cats from the mid-Ebro Valley, Spain. *Veterinary parasitology*, 75(2-3), pp. 235-40.
- CAPC, C.A.P.C., 2013. CAPC Recommendations.
- Carvalho-Varela, M. *et al.*, 1996. *Aspectos Globais dos Resultados obtidos no Laboratório de Patologia das Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa*, Coimbra.
- Castillo, D. *et al.*, 2000. Environmental contamination with *Toxocara* sp. eggs in public squares and parks from Santiago, Chile, 1999. *Boletín chileno de parasitología*, 55(3), pp. 86-91.
- Cordero del Campillo, M. & Rojo Vázquez, F.A., 2001. *Parasitologia Veterinaria* 1ª Ed., Madrid: McGraw Hill-Interamericana.
- Dado, D. *et al.*, 2012. Detection of zoonotic intestinal parasites in public parks of Spain. Potential epidemiological role of microsporidia. *Zoonoses and public health*, 59(1), pp. 23-8.
- Daryani, A. *et al.*, 2008. Prevalence of *Toxocara canis* in Stray Dogs in Northern Iran. In *International Journal of Infectious Diseases*. p. 1.
- David, E.D. & Lindquist, W.D., 1982. Determination of the specific gravity of certain helminth eggs using sucrose density gradient centrifugation. *The Journal of parasitology*, 68(5), pp. 916-919.
- Deplazes, P. *et al.*, 2011. Role of pet dogs and cats in the transmission of helminthic zoonoses in Europe, with a focus on echinococcosis and toxocarosis. *Veterinary parasitology*, 182(1), pp. 41-53.
- Despommier, D., 2003. Toxocarosis: Clinical Aspects, Epidemiology, Medical Ecology, and Molecular Aspects. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(2), pp. 265-272.
- Duarte, A. *et al.*, 2010. Survey of infectious and parasitic diseases in stray cats at the Lisbon Metropolitan Area, Portugal. *Journal of feline medicine and surgery*, 12(6), pp. 441-6.
- Dubná, S., Langrová, I., Jankovská, I. *et al.*, 2007. Contamination of soil with *Toxocara* eggs in urban (Prague) and rural areas in the Czech Republic. *Veterinary parasitology*, 144(1-2), pp. 81-6.
- Dubná, S., Langrová, I., Nápravník, J. *et al.*, 2007. The prevalence of intestinal parasites in dogs from Prague, rural areas, and shelters of the Czech Republic. *Veterinary parasitology*, 145(1-2), pp. 120-8.
- Elsheikha, H.M. & Khan, N.A., 2011. *Essentials of Veterinary Parasitology*, Norfolk, UK: Caister Academic Press.
- ESCCAP, 2010. *ESCCAP Guideline 1 - Worm control in dogs and cats* 2nd. ed., Worcestershire, UK: European Scientific Counsel Companion Animal Parasites.
- Fahrión, A.S. *et al.*, 2011. *Toxocara* eggs shed by dogs and cats and their molecular and morphometric species-specific identification: is the finding of *T. cati* eggs shed by dogs of epidemiological relevance? *Veterinary parasitology*, 177(1-2), pp. 186-9.
- Ferreira, F.S. *et al.*, 2011. Intestinal parasites in dogs and cats from the district of Évora, Portugal. *Veterinary parasitology*, 179(1-3), pp. 242-5.
- Foreyt, W.J.J., 2001. *Veterinary Parasitology - Reference Manual* 5th ed., Iowa, USA: Wiley-Blackwell.
- Frassy, L.N. *et al.*, 2010. Destruição de ovos de *Toxocara canis* pelo fungo nematófago *Pochonia chlamydosporica*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 43(1), pp. 102-104.
- Gawor, J. *et al.*, 2008. Environmental and personal risk factors for toxocarosis in children with diagnosed disease in urban and rural areas of central Poland. *Veterinary parasitology*, 155(3-4), pp. 217-22.
- Guerra, D., 2012. *The Symbiotic and Symbiotrophic Cycles of Echinococcus spp., Taenia spp. and Toxocara spp. in Portugal: Coprologic and Molecular Diagnosis in Canids*. Universidade Técnica de Lisboa.
- Guerra, D. *et al.*, 2012. Wild carnivores as key hosts for the maintenance of *Toxocara* spp. in Portugal. In *Toxocara 2012 ESCCAP Event, 3-5 October 2012*. Budapest, p. 1.
- Hablutz, a. *et al.*, 2003. An estimation of *Toxocara canis* prevalence in dogs, environmental egg contamination and risk of human infection in the Marche region of Italy. *Veterinary Parasitology*, 113(3-4), pp. 243-252.
- Holland, C. V. & Smith, H.V., 2006. *Toxocara: the enigmatic parasite*, Wallingford: CAB Publishing.
- Katagiri, S. & Oliveira-Siqueira, T.C.G., 2007. Zoonoses causadas por parasitas intestinais de cães e o problema do diagnóstico. *Arquivos do Instituto Biológico*, 74(2), pp. 175-184.
- Larone, D.H., 2011. *Medically Important Fungi: A Guide to Identification* 5ª ed., Washington DC.
- Lebre, F., 2011. *Rastreamento de Parasitas Gastrointestinais e seu Impacto Zoonótico em Cães de Camil da Cidade de Lisboa*. Universidade Técnica de Lisboa.
- Madeira de Carvalho, L.M., Pereira da Fonseca, I.M., *et al.*, 2005. Dermatoses parasitárias em pequenos animais. Casuística de 1999-2004 do Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV. In *XXIX Jornadas Médicas-Veterinárias da FMV, Oncologia, Dermatologia e Oftalmologia em Pequenos Animais. 15-17 Abril 2005, FMV/UTL*. p. 3.
- Madeira de Carvalho, L.M., 2009. *Relatório de Atividades de Monitorização das Amostras Fecais de Cães na Cidade de Lisboa no Biénio 2007-2008 para avaliação do Parasitismo Gastrointestinal e do risco de contaminação de espaços públicos ao abrigo do Protocolo FMV/CML*, Lisboa.
- Madeira de Carvalho, L.M., Carreira, M.C.P., *et al.*, 2005. *Toxocarose/Larva Migrante Yfoceral - Um problema de Saúde Pública urbano? Situação epidemiológica na área da Grande Lisboa*, Lisboa.
- Malagón, J.A., 2014. *Posibilidades de Control de Helminthozoonosis por Ascáridos Mediante el Uso de Hongos Teléricos - Tese de Mestrado em Medicina Veterinária*. Universidade de Santiago de Compostela.
- Martinez-Barbosa, I. *et al.*, 2003. The prevalence of *Toxocara cati* in domestic cats in Mexico City. *Veterinary Parasitology*, 114, pp. 43-49.
- Martinez-Moreno, F.J. *et al.*, 2007. Estimation of canine intestinal parasites in Córdoba (Spain) and their risk to public health. *Veterinary parasitology*, 143(1), pp. 7-13.
- Martins, S., Sousa, S. & Portugal, M., 2005. Estudo parasitológico dos canídeos recolhidos pelo canil municipal de Coimbra. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, (Suplemento), pp. 8-9.
- Matsuo, J. & Nakashio, S., 2005. Prevalence of fecal contamination in sandpits in public parks in Sapporo City, Japan. *Veterinary parasitology*, 128(1-2), pp. 115-9.
- Neves, D. *et al.*, 2014. Frequency of intestinal parasites in pet dogs from an urban area (Greater Oporto, northern Portugal). *Veterinary parasitology*, 200(3-4), pp. 295-8.
- Njisse, R. *et al.*, 2014. Coprophagy in dogs interferes in the diagnosis of parasitic infections by faecal examination. *Veterinary Parasitology*, 204(3-4), pp. 304-309.
- Otero, D. *et al.*, 2014. Prevalência de ovos de *Toxocara* spp. no solo de parques públicos da área da Grande Lisboa, Portugal - resultados preliminares. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 20(1/2), pp. 47-50.
- Overgaauw, P.A., 1997. Aspects of *Toxocara* epidemiology, toxocarosis in dogs and cats. *Critical reviews in microbiology*, 23(3), pp. 233-51.
- Overgaauw, P.A.M. & van Knapen, F., 2013. Veterinary and public health aspects of *Toxocara* spp. *Veterinary Parasitology*, 193(4), pp. 398-403.
- Paul, a. J., Todd, K.S. & Dipietro, J. a., 1988. Environmental contamination by eggs of *Toxocara* species. *Veterinary Parasitology*, 26(3-4), pp. 339-342.
- Reperant, L.A. *et al.*, 2007. Influence of urbanization on the epidemiology of intestinal helminths of the red fox (*Vulpes vulpes*) in Geneva, Switzerland. *Parasitology Research*, 101(3), pp. 605-611.
- Schmidt, G. & Roberts, L., 2008. *Foundations of Parasitology* 8th ed., New York: McGraw Hill.
- Silva, M., 2010. *Rastreamento de Parasitas Gastrointestinais, Pulmonares, Cutâneos e Musculares em Canídeos Domésticos e Silvestres no Norte de Portugal*. Universidade Técnica de Lisboa.
- Sommerfeld, I.E. *et al.*, 2006. Prevalence of *Toxocara cati* and other parasites in cats' faeces collected from the open spaces of public institutions. Buenos Aires, Argentina. *Veterinary parasitology*, 140(3-4), pp. 296-301.
- Sprenger, L.K., Green, K.T. & Molento, M.B., 2014. Geohelminth contamination of public areas and epidemiological risk factors in Curitiba, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23(1), pp. 69-73.
- Strube, C., Heuer, L. & Janecek, B., 2013. *Toxocara* spp. infections in paratenic hosts. *Veterinary parasitology*, 193(4), pp. 375-89.
- Thapa, S. *et al.*, 2015. A method to evaluate relative ovicidal effects of soil microfungi on thick-shelled eggs of animal-parasitic nematodes. *Biocontrol Science and Technology*, 25(7), pp. 756-767.
- Uga, S. *et al.*, 2000. Differentiation of *Toxocara canis* and *T. cati* eggs by light and scanning electron microscopy. *Veterinary Parasitology*, 92, pp. 287-294.
- Uga, S. & Kataoka, N., 1995. Measures to control *Toxocara* egg contamination in sandpits of public parks. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 52(1), pp. 21-4.
- Uhlíkova, M. & Hübner, J., 1982. A study on the morphology of early larval stages of *Toxocara cati*. *Folia Parasitologica*, 29, pp. 165-166.
- Urquhart, G.M. *et al.*, 1996. *Veterinary Parasitology* 2nd ed., Oxford: Blackwell Science Ltd.
- Vaz, Y. *et al.*, 2005. Estudo de doenças transmissíveis em populações de gatos errantes. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, (Suplemento), pp. 9-10.
- Veríssimo, C.J., 2008. *Alternativas de Control da Verminose em Pequenos Ruminantes*, Nova Odessa.
- Zajac, A.M. & Conboy, G.A., 2012. *Veterinary Clinical Parasitology* 8th ed., Oxford: Blackwell Publishing.

### 10.3. Anexo 3 - Comunicação oral no XVII Congresso Português de Parasitologia



**Prevalência de ovos de *Toxocara* spp. no solo de parques públicos da área da Grande Lisboa – Resultados preliminares –**

David Otero<sup>1</sup>, Rolf Nijse<sup>2</sup>, Lídia Gomes<sup>1</sup>, Ana Margarida Alho<sup>1</sup>, Paul Overgaauw<sup>3</sup>, Denise Hoek<sup>4</sup>, **Luís Manuel Madeira de Carvalho<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Centro de Investigação Interdisciplinar em Saúde Animal (CISA), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Portugal  
<sup>2</sup>Departamento de Doenças Infecciosas e Imunologia, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Utrecht, Holanda;  
<sup>3</sup>Instituto de Ciências para Avaliação do Risco, Divisão de Saúde Pública Veterinária, Universidade de Utrecht, Holanda;  
<sup>4</sup>Instituto Nacional para a Saúde Pública e Ambiente (RIVM), Bilthoven, Holanda.

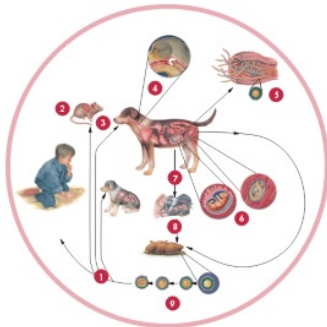
Coimbra, 21 de Novembro 2014  
XVII Congresso da SPP

#### Toxocarose: uma parasitose persistente!

- ❖ **Introdução**
- ❖ **Material e Métodos**
- ❖ **Resultados**
- ❖ **Conclusões**



#### Introdução




#### Introdução

Ano do Estudo	Prevalência Registada	Informações
1940-1980	7-93%	Parques e zonas públicas de Lisboa (fezes)
1994-2004	3,0-7,8	Serviço de Patologia das Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa
2009	50%	Relatório de monitorização das amostras fecais de canídeos em Lisboa (fezes)
2010	10,8%	População de gatos errantes na área Metropolitana de Lisboa

**Objetivos:**

- Avaliar a prevalência de ovos de *Toxocara* spp. nos parques públicos da área da Grande Lisboa;
- Comparar para cada parque, a prevalência de ovos de *Toxocara* spp. das amostras fecais com as amostras de solo;
- Investigar a viabilidade e capacidade de infecção dos ovos recolhidos

Comunicação oral que o aluno realizou para o XVII Congresso Português de Parasitologia, que decorreu em Coimbra a 20 e 21 de Novembro de 2014, e que foi apresentada pelo Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho.

# 10.4. Anexo 4 – Poster no XVIII Congresso da Sociedade Espanhola de Parasitologia

## Soil Contamination with *Toxocara* spp. eggs in public parks of Lisbon, Portugal - Preliminary results

Otero, D.<sup>1</sup>, Nijse, R.<sup>2</sup>, Gomes, L.<sup>1</sup>, Overgaauw, P.<sup>3</sup>, Hoek, D.<sup>4</sup> Alho, A.M.<sup>1</sup>, Madeira de Carvalho, L.M.<sup>1</sup>

1. CIISA/FMV/UL Lisbon, Portugal; 2. DII/FD/UU, Utrecht, The Netherlands; 3. IRAS/VPH/UU, Utrecht, The Netherlands; 4. RIVM, Bilthoven, The Netherlands

### Introduction

Patent infections with *Toxocara* spp. in pets are a major problem in Portugal, but with few prevalence studies on the last decade and low awareness concerning its risk for human infection<sup>1,2</sup>. Therefore, studies on this subject to assess the level of host prevalence and environmental contamination are crucial to understand the epidemiological situation<sup>3</sup>. This work has three objectives: to study the number of *Toxocara* spp. eggs in positive soil samples from public parks and sandpits of Lisbon; to investigate viability of the retrieved eggs; and for each location to compare the prevalence between soil and fecal samples.

### Results

For the soil samples, eggs of *Toxocara* spp. were found in 80% of parks and 60% of sandpits. For the fecal samples, eggs of *Toxocara* spp. were found in 20% of parks and 10% of sandpits. The prevalence in soil samples was 75,7% and in fecal samples 7,5%. The mean egg density per soil sample was 8,1 eggs/100 g of soil. A total of 62,1% of eggs were embryonated and viable.

Nº	Public Parks	% of positive Soil samples	% of positive Fecal samples
1	Sandpit of Alameda Keil do Amaral	100%	0%
2	Sandpit of Jardim Guerra Junqueiro (Istrela)	90%	0%
3	Sandpit of Silva Porto (Vista de Benficia)	90%	0%
4	Sandpit of Jardim Marcelino Mesquita (Amoreiras)	88%	0%
5	Sandpit of Quinta da Cabrinha (Av. de Ceuta)	88%	0%
6	Sandpit of Alameda D. Afonso Henriques	88%	0%
7	Park of Torre de Belém	80%	0%
8	Park of Campo Grande	78%	38%
9	Park of Galbenkien	78%	0%
10	Park of Bela Vista	71%	0%
11	Sandpit of Jardim Constantino	0%	0%
12	Park of Parque Eduardo VII	0%	0%
13	Park of Avenida da Liberdade	0%	0%
14	Park of Quinta das Conchas	0%	0%
15	Park of Vale do Silêncio (Olivais)	0%	0%

### Materials and methods

The soil of 5 public parks and 10 public sandpits in the urban area of Lisbon were analyzed for *Toxocara* spp. eggs. In total 103 soil samples were collected and analyzed with a sieving and centrifugation sedimentation flotation (CSF) method<sup>4,5</sup>. A total of 93 canine fecal samples were collected for each location and analyzed with CSF<sup>6</sup>.

Nº	Public Parks	Number of Soil samples	Number of Fecal samples
1	Sandpit of Alameda Keil do Amaral	8	8
2	Sandpit of Jardim Guerra Junqueiro (Istrela)	10	4
3	Sandpit of Silva Porto (Vista de Benficia)	10	4
4	Sandpit of Jardim Marcelino Mesquita (Amoreiras)	8	4
5	Sandpit of Quinta da Cabrinha (Av. de Ceuta)	8	4
6	Sandpit of Alameda D. Afonso Henriques	8	4
7	Park of Torre de Belém	10	8
8	Park of Campo Grande	9	8
9	Park of Galbenkien	9	8
10	Park of Bela Vista	7	8
11	Sandpit of Jardim Constantino	2	4
12	Park of Parque Eduardo VII	4	8
13	Park of Avenida da Liberdade	3	8
14	Park of Quinta das Conchas	3	6
15	Park of Vale do Silêncio (Olivais)	3	7

### Conclusions

According to these results, there is a high prevalence of *Toxocara* spp. eggs in the Lisbon urban area, with a soil prevalence ten times bigger than fecal prevalence, which represents a high exposure risk for animals and humans. Public parks and sandpits play a major role in the perpetuation of the infection, but not necessarily associated only with dog feces contamination. New studies are needed to assess the importance of cats in the distribution of *Toxocara* eggs, as well as, alerting municipal authorities to undertake appropriate actions.

### Bibliography

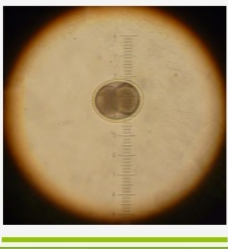

[1] Madeira de Carvalho, L.M., Carreira, M.C.P., Santos, S.G., Pereira da Fonseca, I.M.S., Afonso-Roque, M.M., Fazendeiro, M.I. (2005) Toxocarose/LMV – Um problema de saúde pública urbano? Instituto Ricardo Jorge. [2] Madeira de Carvalho, L.M. (2009) Relatório de Atividades de Monitorização das Amostras Fecais de Cães da Cidade de Lisboa no Bêrrio 2007-2008, para avaliação do Parasitismo Gastrointestinal e do risco de contaminação de espaços públicos ao abrigo do Protocolo FMV/CML. [3] Overgaauw, P.A.M., van Knapen, F. (2013) Veterinary and public health aspects of *Toxocara* spp. *Veterinary Parasitology* 398-403. [4] Rosa Xavier, IG., Ramos, BC., Santarém, VA. (2010) Recovery threshold of *Toxocara canis* eggs from soil. *Veterinary Parasitology* 77-80. [5] Ruiz de Ybáñez, MR., Garjón, M., Goyena, M., Alonso, FD. (2000) Improved methods for recovering eggs of *Toxocara canis* from soil. *Journal of Helminthology* 349-353. [6] Urquhart, GM., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, AM., Jennings, FW. (1996) *Veterinary Parasitology*, Blackwell Publishing, 2<sup>nd</sup> Edition.

Poster realizado pelo aluno com os resultados preliminares dos trabalhos desta Dissertação de Mestrado, para o XVIII Congresso da Sociedade Espanhola de Parasitologia que decorreu na ilha da Grande Canária de 17 a 20 de Setembro de 2013, e que foi apresentado pelo Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho.

**10.5. Anexo 5 - Comunicação oral no XVIII Congresso da Sociedade Espanhola de Parasitologia**

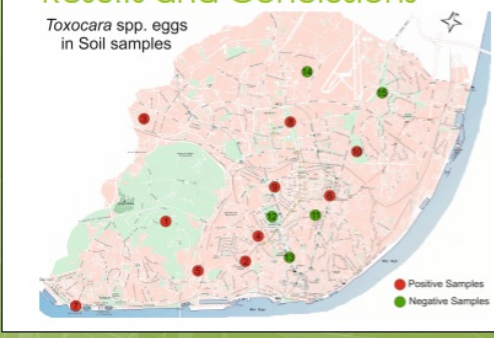
**Soil Contamination with *Toxocara* spp. eggs in public parks of Lisbon, Portugal - Preliminary results**

Otero, D.; Nijse, R.; Gomes, L.; Overgaauw, P.; Hoek, D.; Alho, A.M.; Madeira de Carvalho, L.M.

**Results and Conclusions**

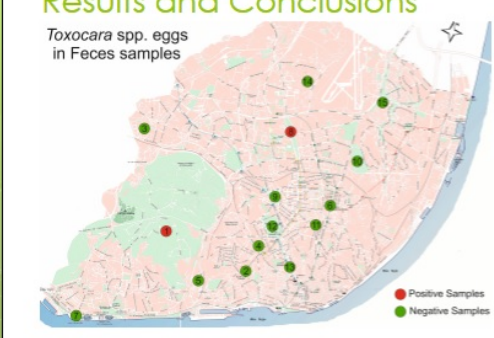
*Toxocara* spp. eggs in Soil samples



● Positive Samples  
● Negative Samples

**Results and Conclusions**

*Toxocara* spp. eggs in Feces samples



● Positive Samples  
● Negative Samples

**Results and Conclusions**

N <sup>o</sup>	Public Parks	% of positive Soil samples	% of positive Fecal samples
1	Sandpit of Alameda Keil do Amaral	100%	50%
2	Sandpit of Jardim Guerra Junqueiro (Estrela)	90%	0%
3	Sandpit of Silva Porto (Mata de Benfica)	90%	0%
4	Sandpit of Jardim Marcelino Mesquita (Amoreiras)	88%	0%
5	Sandpit of Quinta da Cabrinha (Av. de Ceuta)	88%	0%
6	Sandpit of Alameda D. Afonso Henriques	88%	0%
7	Park of Torre de Belém	80%	0%
8	Park of Campo Grande	78%	38%
9	Park of Gulbenkian	78%	0%
10	Park of Bela Vista	71%	0%
11	Sandpit of Jardim Constantino	0%	0%
12	Park of Parque Eduardo VII	0%	0%
13	Park of Avenida da Liberdade	0%	0%
14	Park of Quinta das Conchas	0%	0%
15	Park of Vale do Silêncio (Olivais)	0%	0%

Comunicação oral que o aluno realizou para o XVIII Congresso da Sociedade Espanhola de Parasitologia que decorreu na ilha da Grande Canária de 17 a 20 de Setembro de 2013, e que foi apresentada pelo Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho. Esta comunicação foi conjunta com outras da nossa faculdade e apresentada como uma única comunicação intitulada “*Some emerging canine vector borne diseases and antiparasitic control measures in companion animals in Portugal – recent updates*”.

## 10.6. Anexo 6 – Prémio Academia Lx 2013

Em Julho de 2013, numa reunião entre o aluno, o Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho e a Doutora Ana Margarida Alho, surgiu a ideia de apresentar uma candidatura ao Prémio Academia Lx 2013 da Câmara Municipal de Lisboa, com uma proposta que englobasse em parte os resultados e experiência dos três no que toca a saúde pública ligada à parasitologia veterinária.

Surgiu desta forma a ideia de criar o projeto “Velhos Problemas, Novas Soluções: Lisboa Modelo de Cidadania e Inovação na Valorização dos Espaços Públicos” para dar resposta à problemática dos dejetos caninos espalhados pela cidade, ao mesmo tempo que incentiva à cidadania e premiava a participação da comunidade local.

O projeto é centrado na figura do “Cãotentor”, um contentor tecnológico para deposição dos dejetos caninos que premeia os habitantes mais participativos, e ainda no programa “Bandeira Verde no Parque” que irá premiar os parques públicos com qualidade higio-sanitária dentro de parâmetros pré-determinados.

Mais do que uma candidatura, este projeto pretendeu elevar o nome da nossa Faculdade como instituição de investigação científica e incubadora de empreendedorismo e projetos tecnológicos.

O vídeo de apresentação do projeto pode ser visualizado em: <http://goo.gl/XLYFOI>

**CÃTENTOR**

**10.7. Anexo 7 – Resultados completos da análise das amostras de solo e viabilidade dos ovos de *Toxocara* spp. recuperados**

Locais	Amostra #	Resultado	Ovos recuperados	Ovos viáveis ao fim de 60 dias
Parque Infantil da Alameda Keil do Amaral	S001	+	10	6
	S002	+	4	1
	S003	+	8	2
	S004	+	16	12
	S005	+	9	7
	S006	+	2	0
	S007	+	12	10
	S008	+	6	6
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>67</b>	<b>65,7%</b>
Parque Infantil do Jardim Guerra Junqueiro (Estrela)	S009	+	3	2
	S010	+	12	7
	S011	+	20	13
	S012	-	0	0
	S013	+	5	3
	S014	+	9	5
	S015	+	12	8
	S016	+	6	4
	S017	+	10	6
	S018	+	4	2
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>81</b>	<b>61,7%</b>
Parque Infantil Silva Porto (Mata de Benfica)	S019	+	9	4
	S020	+	10	3
	S021	+	6	3
	S022	+	7	5
	S023	+	12	3
	S024	+	8	5
	S025	-	0	0
	S026	+	6	1
	S027	+	12	3
	S028	+	7	4
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>77</b>	<b>40,3%</b>
Parque Infantil do Jardim Marcelino Mesquita (Amoreiras)	S029	-	0	0
	S030	+	2	0
	S031	+	4	1
	S032	+	3	0
	S033	+	6	5
	S034	+	4	3
	S035	+	7	1
	S036	+	5	4
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>31</b>	<b>45,2%</b>
	S037	+	6	3
	S038	+	8	6

Parque Infantil da Quinta da Cabrinha (Av. de Ceuta)	S039	+	12	8
	S040	-	0	0
	S041	+	13	3
	S042	+	9	8
	S043	+	4	2
	S044	+	8	6
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>60</b>	<b>60,0%</b>
Parque Infantil da Alameda D. Afonso Henriques	S045	+	3	1
	S046	+	2	0
	S047	+	5	0
	S048	+	4	2
	S049	+	6	1
	S050	+	2	1
	S051	+	1	0
	S052	-	0	0
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>23</b>	<b>21,7%</b>
Jardim da Torre de Belém	S053	+	3	2
	S054	+	5	4
	S055	-	0	0
	S056	-	0	0
	S057	+	3	3
	S058	+	6	3
	S059	+	5	2
	S060	+	4	2
	S061	+	7	5
	S062	+	4	3
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>10</b>	<b>8</b>	<b>37</b>	<b>64,9%</b>
Jardim do Campo Grande	S063	+	4	3
	S064	+	6	2
	S065	+	8	3
	S066	-	0	0
	S067	+	4	2
	S068	+	7	4
	S069	+	3	1
	S070	+	8	4
	S071	-	0	0
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>9</b>	<b>7</b>	<b>40</b>	<b>47,5%</b>
Jardim da Gulbenkian	S072	+	2	0
	S073	+	2	0
	S074	+	4	0
	S075	+	5	2
	S076	+	3	2
	S077	+	2	2
	S078	+	3	2
	S079	-	0	0
	S080	-	0	0

<b>SUB-TOTAL</b>	<b>9</b>	<b>7</b>	<b>21</b>	<b>38,1%</b>
<b>Jardim do Parque da Bela Vista</b>	S081	+	4	2
	S082	-	0	0
	S083	+	8	7
	S084	+	12	10
	S085	+	9	4
	S086	-	0	0
	S087	+	11	6
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>44</b>	<b>65,9%</b>
<b>Parque Urbano de Queluz</b>	S088	+	16	10
	S089	-	0	0
	S090	-	0	0
	S091	-	0	0
	S092	-	0	0
	S093	-	0	0
	S094	+	12	11
	S095	-	0	0
	S096	-	0	0
	S097	-	0	0
	S098	-	0	0
	S099	-	0	0
	S100	+	21	8
	S101	+	17	15
	S102	-	0	0
	S103	-	0	0
	S104	-	0	0
S105	-	0	0	
S106	-	0	0	
S107	+	19	14	
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>5</b>	<b>85</b>	<b>68,2%</b>
<b>Parque Urbano da Quinta de Santo António</b>	S108	-	0	0
	S109	-	0	0
	S110	+	4	1
	S111	-	0	0
	S112	-	0	0
	S113	-	0	0
	S114	-	0	0
	S115	-	0	0
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>25,0%</b>
<b>Parque Infantil do Jardim Constantino</b>	S116	-	0	0
	S117	-	0	0
	S118	-	0	0
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
<b>Jardim do Parque Eduardo VII</b>	S119	-	0	0
	S120	-	0	0
	S121	-	0	0

	S122	-	0	0
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
<b>Jardim da Avenida da Liberdade</b>	S123	-	0	0
	S124	-	0	0
	S125	-	0	0
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
<b>Parque da Quinta das Conchas</b>	S126	-	0	0
	S127	-	0	0
	S128	-	0	0
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
<b>Parque do Vale do Silêncio (Olivais)</b>	S129	-	0	0
	S130	-	0	0
	S131	-	0	0
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
<b>Parque canino de Miraflores (R. Quinta da Formiga)</b>	S132	-	0	0
	S133	-	0	0
	S134	-	0	0
	S135	-	0	0
	S136	-	0	0
	S137	-	0	0
	S138	-	0	0
	S139	-	0	0
	S140	-	0	0
	S141	-	0	0
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
<b>Parque Urbano de Miraflores</b>	S142	-	0	0
	S143	-	0	0
	S144	-	0	0
	S145	-	0	0
	S146	-	0	0
	S147	-	0	0
	S148	-	0	0
	S149	-	0	0
	S150	-	0	0
	S151	-	0	0
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
<b>TOTAL</b>	<b>151</b>	<b>80</b>	<b>570</b>	<b>31,8%</b>

**10.8. Anexo 8 – Resultados completos da análise das amostras fecais para *Toxocara* spp.**

<b>Locais</b>	<b>Amostra #</b>	<b>Resultado</b>
<b>Parque Infantil da Alameda Keil do Amaral</b>	F001	-
	F002	+
	F003	-
	F004	+
	F005	+
	F006	-
	F007	-
	F008	+
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>4</b>
<b>Parque Infantil do Jardim Guerra Junqueiro (Estrela)</b>	F009	-
	F010	-
	F011	-
	F012	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>4</b>	<b>0</b>
<b>Parque Infantil Silva Porto (Mata de Benfica)</b>	F013	-
	F014	-
	F015	-
	F016	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>4</b>	<b>0</b>
<b>Parque Infantil do Jardim Marcelino Mesquita (Amoreiras)</b>	F017	-
	F018	-
	F019	-
	F020	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>4</b>	<b>0</b>
<b>Parque Infantil da Quinta da Cabrinha (Av. de Ceuta)</b>	F021	-
	F022	-
	F023	-
	F024	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>4</b>	<b>0</b>
<b>Parque Infantil da Alameda D. Afonso Henriques</b>	F025	-
	F026	-
	F027	-
	F028	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>4</b>	<b>0</b>
<b>Jardim da Torre de Belém</b>	F029	-
	F030	-
	F031	-
	F032	-
	F033	-
	F034	-
	F035	-
	F036	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>0</b>

<b>Jardim do Campo Grande</b>	F037	-
	F038	+
	F039	+
	F040	-
	F041	-
	F042	-
	F043	+
	F044	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>3</b>
<b>Jardim da Gulbenkian</b>	F045	-
	F046	-
	F047	-
	F048	-
	F049	-
	F050	-
	F051	-
	F052	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>0</b>
<b>Jardim do Parque da Bela Vista</b>	F053	-
	F054	-
	F055	-
	F056	-
	F057	-
	F058	-
	F059	-
	F060	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>0</b>
<b>Parque Urbano de Queluz</b>	F061	-
	F062	-
	F063	-
	F064	-
	F065	-
	F066	-
	F067	-
	F068	-
	F069	-
	F070	+
	F071	-
	F072	-
	F073	-
	F074	-
F075	-	
F076	-	
F077	-	
F078	-	
F079	-	

	F080	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>1</b>
<b>Parque Urbano da Quinta de Santo António</b>	F081	-
	F082	-
	F083	-
	F084	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>4</b>	<b>0</b>
<b>Parque Infantil do Jardim Constantino</b>	F085	-
	F086	-
	F087	-
	F088	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>4</b>	<b>0</b>
<b>Jardim do Parque Eduardo VII</b>	F089	-
	F090	-
	F091	-
	F092	-
	F093	-
	F094	-
	F095	-
	F096	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>0</b>
<b>Jardim da Avenida da Liberdade</b>	F097	-
	F098	-
	F099	-
	F100	-
	F101	-
	F102	-
	F103	-
	F104	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>0</b>
<b>Parque da Quinta das Conchas</b>	F105	-
	F106	-
	F107	-
	F108	-
	F109	-
	F110	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>6</b>	<b>0</b>
<b>Parque do Vale do Silêncio (Olivais)</b>	F111	-
	F112	-
	F113	-
	F114	-
	F115	-
	F116	-
	F117	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>7</b>	<b>0</b>
	F118	-

<b>Parque canino de Miraflores (R. Quinta da Formiga)</b>	F119	-
	F120	-
	F121	-
	F122	-
	F123	-
	F124	-
	F125	-
	F126	-
	F127	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>10</b>	<b>0</b>
<b>Parque Urbano de Miraflores</b>	F128	-
	F129	-
	F130	-
	F131	-
	F132	-
	F133	-
	F134	-
	F135	-
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>0</b>
<b>TOTAL</b>	<b>135</b>	<b>8</b>

**10.9. Anexo 9 – Resultados completos das medições aos ovos de *Toxocara* spp.**

<b>Parque Público</b>	<b># Ovo</b>	<b>Diâmetro maior (µm)</b>	<b>Diâmetro menor (µm)</b>	<b>Classificação</b>
<b>Parque Infantil da Alameda Keil do Amaral</b>	1	92	89	<i>T. canis</i>
	2	76	65	Indefinido
	3	71	65	<i>T. cati</i>
	4	69	61	<i>T. cati</i>
	5	82	70	Indefinido
	6	78	66	Indefinido
	7	72	64	<i>T. cati</i>
	8	77	65	Indefinido
	9	82	67	Indefinido
	10	75	65	<i>T. cati</i>
<b>Parque Infantil do Jardim Guerra Junqueiro (Estrela)</b>	11	61	70	Indefinido
	12	70	63	<i>T. cati</i>
	13	75	63	<i>T. cati</i>
	14	70	63	<i>T. cati</i>
	15	88	67	Indefinido
	16	73	65	<i>T. cati</i>
	17	88	67	Indefinido
	18	90	75	<i>T. canis</i>
	19	74	61	<i>T. cati</i>
	20	81	69	Indefinido
<b>Parque Infantil Silva Porto (Mata de Benfica)</b>	21	85	71	Indefinido
	22	71	63	<i>T. cati</i>
	23	82	70	Indefinido
	24	80	66	Indefinido
	25	83	74	<i>T. canis</i>
	26	91	70	Indefinido
	27	78	66	Indefinido
	28	75	62	<i>T. cati</i>
	29	72	65	<i>T. cati</i>
	30	70	61	<i>T. cati</i>
<b>Parque Infantil do Jardim Marcelino Mesquita (Amoreiras)</b>	31	87	69	Indefinido
	32	81	69	Indefinido
	33	61	70	Indefinido
	34	74	65	<i>T. cati</i>
	35	76	61	Indefinido
	36	79	69	Indefinido
	37	71	64	<i>T. cati</i>
	38	77	65	Indefinido
	39	77	65	Indefinido
	40	73	63	<i>T. cati</i>
	41	84	70	Indefinido
	42	88	82	<i>T. canis</i>

<b>Parque Infantil da Quinta da Cabrinha (Av. de Ceuta)</b>	43	85	65	Indefinido
	44	88	69	Indefinido
	45	74	64	<i>T. cati</i>
	46	79	68	Indefinido
	47	81	69	Indefinido
	48	72	62	<i>T. cati</i>
	49	76	68	Indefinido
	50	79	69	Indefinido
<b>Parque Infantil da Alameda D. Afonso Henriques</b>	51	84	72	<i>T. canis</i>
	52	81	65	Indefinido
	53	72	61	<i>T. cati</i>
	54	88	67	Indefinido
	55	82	67	Indefinido
	56	73	62	<i>T. cati</i>
	57	80	74	Indefinido
	58	74	63	<i>T. cati</i>
	59	78	61	Indefinido
	60	70	63	<i>T. cati</i>
<b>Jardim da Torre de Belém</b>	61	80	61	Indefinido
	62	69	61	<i>T. cati</i>
	63	77	68	Indefinido
	64	91	76	<i>T. canis</i>
	65	79	69	Indefinido
	66	72	61	<i>T. cati</i>
	67	74	62	<i>T. cati</i>
	68	79	73	Indefinido
	69	85	69	Indefinido
	70	85	66	Indefinido
<b>Jardim do Campo Grande</b>	71	86	75	<i>T. canis</i>
	72	82	75	Indefinido
	73	80	66	Indefinido
	74	75	65	<i>T. cati</i>
	75	78	69	Indefinido
	76	70	62	<i>T. cati</i>
	77	81	73	Indefinido
	78	75	61	<i>T. cati</i>
	79	92	76	<i>T. canis</i>
	80	76	73	Indefinido
<b>Jardim da Gulbenkian</b>	81	71	61	<i>T. cati</i>
	82	90	71	Indefinido
	83	61	70	Indefinido
	84	71	63	<i>T. cati</i>
	85	80	62	Indefinido
	86	81	73	Indefinido
	87	72	70	Indefinido
	88	73	68	Indefinido

	89	75	61	<i>T. cati</i>
	90	70	62	<i>T. cati</i>
<b>Jardim do Parque da Bela Vista</b>	91	84	68	Indefinido
	92	80	69	Indefinido
	93	86	70	Indefinido
	94	75	63	<i>T. cati</i>
	95	71	62	<i>T. cati</i>
	96	73	65	<i>T. cati</i>
	97	89	71	Indefinido
	98	88	67	Indefinido
	99	71	64	<i>T. cati</i>
	100	77	65	Indefinido
<b>Parque Urbano de Queluz</b>	101	75	65	<i>T. cati</i>
	102	73	61	<i>T. cati</i>
	103	74	62	<i>T. cati</i>
	104	69	61	<i>T. cati</i>
	105	75	63	<i>T. cati</i>
	106	71	58	<i>T. cati</i>
	107	74	61	<i>T. cati</i>
	108	73	63	<i>T. cati</i>
	109	75	63	<i>T. cati</i>
	110	71	62	<i>T. cati</i>
<b>Parque Urbano da Quinta de Santo António</b>	111	87	69	Indefinido
	112	72	61	<i>T. cati</i>
	113	80	66	Indefinido
	114	75	61	<i>T. cati</i>
	115	82	65	Indefinido
	116	88	71	Indefinido
	117	74	62	<i>T. cati</i>
	118	76	61	Indefinido
	119	73	63	<i>T. cati</i>
	120	89	72	<i>T. canis</i>

**10.10. Anexo 10 – Resultados dos testes estatísticos realizados com o software SPSS  
Statistics 20**

**A) PREVALÊNCIA DE *TOXOCARA***

**1) Positividade x Tipo de Parque para amostras de Solo**

Count **Positividade \* TipoParque Crosstabulation**

		TipoParque		Total
		PI	PU	
Positividade	Negativo	8	63	71
	Positivo	47	33	80
Total		55	96	151

**Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	36,623 <sup>a</sup>	1	,000		
Continuity Correction <sup>b</sup>	34,601	1	,000		
Likelihood Ratio	39,622	1	,000		
<b>Fisher's Exact Test</b>				<b>,000</b>	<b>,000</b>
N of Valid Cases	151				

**2) Positividade x Tipo de Parque para amostras Fecais**

Count **Positividade \* TipoParque Crosstabulation**

		TipoParque		Total
		PI	PU	
Positividade	Negativo	28	99	127
	Positivo	4	4	8
Total		32	103	135

**Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3,252 <sup>a</sup>	1	,071		
Continuity Correction <sup>b</sup>	1,890	1	,169		
Likelihood Ratio	2,786	1	,095		
<b>Fisher's Exact Test</b>				<b>,090</b>	<b>,090</b>
N of Valid Cases	135				

### 3) Positividade x N° Colheitas de Solo

Count		Positividade * Namostras Crosstabulation		
		Namostras		Total
		1a8	9mais	
Positividade	0a50	6	3	9
	51a100	5	5	10
Total		11	8	19

#### Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,540 <sup>a</sup>	1	,463		
Continuity Correction <sup>b</sup>	,073	1	,788		
Likelihood Ratio	,544	1	,461		
<b>Fisher's Exact Test</b>				<b>,650</b>	<b>,395</b>
N of Valid Cases	19				

### 4) Positividade x N° Colheitas Fecais

Count		Positividade * Namostras Crosstabulation		
		Namostras		Total
		1a7	8mais	
Positividade	0a50	9	9	18
	51a100	0	1	1
Total		9	10	19

#### Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,950 <sup>a</sup>	1	,330		
Continuity Correction <sup>b</sup>	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	1,334	1	,248		
<b>Fisher's Exact Test</b>				<b>1,000</b>	<b>,526</b>
N of Valid Cases	19				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,47.

b. Computed only for a 2x2 table

## B) VIABILIDADE DOS OVOS RECOLHIDOS

### 1) % Ovos viáveis x Ovos Recuperados

#### Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
<b>Interval by Interval</b> <b>Pearson's R</b>	<b>,647</b>	<b>,054</b>	<b>7,500</b>	<b>,000<sup>c</sup></b>
Ordinal by Ordinal    Spearman Correlation	,739	,063	9,676	,000 <sup>c</sup>
N of Valid Cases	80			

### 2) Ovos recuperados x N° Colheitas de Solo

#### Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
<b>Interval by Interval</b> <b>Pearson's R</b>	<b>,654</b>	<b>,117</b>	<b>3,562</b>	<b>,002<sup>c</sup></b>
Ordinal by Ordinal    Spearman Correlation	,552	,211	2,731	,014 <sup>c</sup>
N of Valid Cases	19			

### 3) Ovos viáveis x N° Colheitas de Solo

#### Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
<b>Interval by Interval</b> <b>Pearson's R</b>	<b>,666</b>	<b>,136</b>	<b>3,677</b>	<b>,002<sup>c</sup></b>
Ordinal by Ordinal    Spearman Correlation	,539	,211	2,641	,017 <sup>c</sup>
N of Valid Cases	19			

### 4) Ovos recuperados x Tipo de Parque

#### Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
<b>Interval by Interval</b> <b>Pearson's R</b>	<b>,377</b>	<b>,081</b>	<b>4,968</b>	<b>,000<sup>c</sup></b>
Ordinal by Ordinal    Spearman Correlation	,482	,069	6,706	,000 <sup>c</sup>
N of Valid Cases	151			

### 5) Ovos viáveis x Tipo de Parque

#### Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
<b>Interval by Interval</b> <b>Pearson's R</b>	<b>,275</b>	<b>,084</b>	<b>3,492</b>	<b>,001<sup>c</sup></b>
Ordinal by Ordinal    Spearman Correlation	,398	,075	5,303	,000 <sup>c</sup>
N of Valid Cases	151			

## 6) Ovos recuperados x N° do Parque

### Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
<b>Interval by Interval</b>	<b>Pearson's R</b>	<b>,172</b>	<b>,058</b>	<b>2,130</b>	<b>,035<sup>c</sup></b>
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	,233	,075	2,922	,004 <sup>c</sup>
N of Valid Cases		151			

## 7) Ovos viáveis x N° do Parque

### Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
<b>Interval by Interval</b>	<b>Pearson's R</b>	<b>,118</b>	<b>,059</b>	<b>1,447</b>	<b>,150<sup>c</sup></b>
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	,156	,080	1,933	,055 <sup>c</sup>
N of Valid Cases		151			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

c. Based on normal approximation.

## C) SAZONALIDADE INFECÇÃO SOLO

### 1) Ovos recuperados x ovos viáveis

#### Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
<b>Interval by Interval</b>	<b>Pearson's R</b>	<b>-,049</b>	<b>,311</b>	<b>-,157</b>	<b>,879<sup>c</sup></b>
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	-,086	,320	-,272	,791 <sup>c</sup>
N of Valid Cases		12			

### 2) Ovos recuperados x Temperatura

#### Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
<b>Interval by Interval</b>	<b>Pearson's R</b>	<b>-,152</b>	<b>,254</b>	<b>-,485</b>	<b>,638<sup>c</sup></b>
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	-,097	,318	-,307	,765 <sup>c</sup>
N of Valid Cases		12			

### 3) Ovos recuperados x Precipitação

#### Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
<b>Interval by Interval</b>	<b>Pearson's R</b>	<b>,083</b>	<b>,306</b>	<b>,262</b>	<b>,798<sup>c</sup></b>
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	-,084	,322	-,268	,794 <sup>c</sup>
N of Valid Cases		12			

### 4) Ovos recuperados x Mês Colheita

#### Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
<b>Interval by Interval</b>	<b>Pearson's R</b>	<b>,542</b>	<b>,176</b>	<b>2,039</b>	<b>,069<sup>c</sup></b>
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	,605	,177	2,403	,037 <sup>c</sup>
N of Valid Cases		12			

### 5) Ovos viáveis x Temperatura

#### Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
<b>Interval by Interval</b>	<b>Pearson's R</b>	<b>,015</b>	<b>,301</b>	<b>,047</b>	<b>,963<sup>c</sup></b>
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	,032	,321	,102	,920 <sup>c</sup>
N of Valid Cases		12			

### 6) Ovos viáveis x Precipitação

#### Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
<b>Interval by Interval</b>	<b>Pearson's R</b>	<b>-,186</b>	<b>,279</b>	<b>-,600</b>	<b>,562<sup>c</sup></b>
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	-,320	,300	-1,066	,311 <sup>c</sup>
N of Valid Cases		12			

### 7) Ovos viáveis x Mês colheita

#### Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
<b>Interval by Interval</b>	<b>Pearson's R</b>	<b>-,101</b>	<b>,271</b>	<b>-,320</b>	<b>,756<sup>c</sup></b>
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	-,086	,284	-,273	,791 <sup>c</sup>
N of Valid Cases		12			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

c. Based on normal approximation.