

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Fagner D'ambroso Fernandes

**ANCILOSTOMÍDEOS DO TRATO GASTROINTESTINAL DE CÃES:
OCORRÊNCIA, FATORES DE RISCO E MULTIRRESISTÊNCIA AOS
ANTIPARASITÁRIOS**

Santa Maria, RS

2022

Fagner D'ambroso Fernandes

**ANCILOSTOMÍDEOS DO TRATO GASTROINTESTINAL DE CÃES:
OCORRÊNCIA, FATORES DE RISCO E MULTIRRESISTÊNCIA AOS
ANTIPARASITÁRIOS**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Sanidade e Reprodução Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Orientadora: Prof^a Dr^a Fernanda Silveira Flores Vogel

Santa Maria, RS
2022

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Fernandes, Fagner D'ambroso

Ancilostomídeos do trato gastrointestinal de cães: ocorrência, fatores de risco e multirresistência aos antiparasitários / Fagner D'ambroso Fernandes.- 2022.
46 p.; 30 cm

Orientador: Fernanda Silveira Flores Vogel
Coorientador: Juliana Felipetto Cargnelutti
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, RS, 2022

1. Tratamento 2. Antiparasitários 3. Coproparasitológico 4. Fatores de risco 5. Saúde pública
I. Silveira Flores Vogel , Fernanda II. Felipetto Cargnelutti, Juliana III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

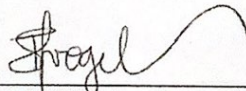
Declaro, FAGNER D'AMBROSO FERNANDES, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Fagner D'ambroso Fernandes

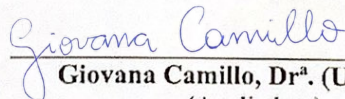
**ANCILOSTOMÍDEOS DO TRATO GASTROINTESTINAL DE CÃES:
OCORRÊNCIA, FATORES DE RISCO E MULTIRRESISTÊNCIA AOS
ANTIPARASITÁRIOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Sanidade e Reprodução Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**.

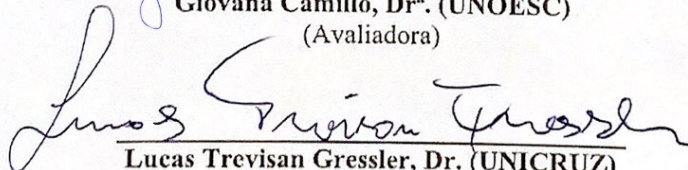
Aprovado em 21 de fevereiro de 2022.



Fernanda Silveira Flores Vogel, Dr^a. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



Giovana Camillo, Dr^a. (UNOESC)
(Avaliadora)



Lucas Trevisan Gressler, Dr. (UNICRUZ)
(Avaliador)

Santa Maria, RS

2022

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à minha família pelo apoio as minhas decisões e compreensão quando não pude me fazer presente em momentos de convívio.

Também gostaria de agradecer à minha professora orientadora, Dr^a Fernanda Silveira Flores Vogel, por todas as oportunidades e direcionamentos a mim oferecidos. Ao professor Dr^o Luis Antonio Sangioni, por todo o incentivo e orientações ao decorrer da minha graduação e durante o mestrado. Saio deste capítulo com uma carga de experiência profissional e pessoal inigualável, onde pude aprender com cada particularidade encontrada neste caminho sob a orientação desses dois professores.

Agradeço também à minha coorientadora, professora Dr^a Juliana Felipetto Cargnelutti, pelos direcionamentos para a execução deste trabalho.

A todos os integrantes que passaram ou estão no Laboratório de Doenças Parasitárias (LADOPAR), da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Alunos de iniciação científica, mestrado, doutorado e residência multiprofissional, obrigado pelo apoio e pelas trocas de experiências ao decorrer deste período.

À Universidade Federal de Santa Maria pela possibilidade de realização da minha graduação e do meu mestrado em uma universidade de ensino de qualidade. Além disso, agradeço-a por propiciar a minha permanência nestes cursos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), da UFSM.

Por fim, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro, os quais possibilitaram a compra de materiais de consumo para as pesquisas, bem como o auxílio financeiro para os estudantes conseguirem conciliar a realização dos cursos.

Obrigado!

RESUMO

ANCILOSTOMÍDEOS DO TRATO GASTROINTESTINAL DE CÃES: OCORRÊNCIA, FATORES DE RISCO E MULTIRRESISTÊNCIA AOS ANTIPARASITÁRIOS

AUTOR: Fagner D'ambroso Fernandes
ORIENTADORA: Fernanda Silveira Flores Vogel

Cães são comumente infectados por parasitas gastrointestinais, mas nem sempre apresentam sinais clínicos. Estes animais são hospedeiros definitivos de inúmeros parasitas do trato gastrointestinal e propiciam a manutenção do ciclo biológico, uma vez que excretam nas fezes ovos de helmintos e cistos ou oocistos de protozoário, favorecendo, desse modo, a contaminação do ambiente e a propagação de parasitas para outros animais. Ademais, o estreitamento do convívio entre os animais de companhia e o homem intensifica a exposição humana à parasitas com potencial zoonótico. Diante disso, o presente trabalho objetivou avaliar a ocorrência de helmintos gastrointestinais de 38 cães naturalmente infectados, a eficácia anti-helmíntica de Canex Composto[®] (pamoato de pirantel + praziquantel), Fenzol Pet[®] (fembendazol) e Milbemax C[®] (milbemicina oxima + praziquantel), por meio das técnicas coproparasitológicas qualitativas (Willis e Sedimentação Simples) e quantitativas (McMaster). Além disso, os fatores de risco associados à infecção destes helmintos a partir de um questionário aplicado por meio do *Google Forms*. Esse questionário buscou, através de 17 questões, avaliar o número de tratamentos para endoparasitos e ectoparasitos por ano, acesso à rua, predominância de ambiente, raça, utilização de coleiras antiparasitárias, frequência de consultas veterinárias, presença de outros animais no mesmo ambiente, perfil alimentar dos cães, renda familiar e grau de escolaridade dos tutores. Dos animais avaliados, 22/38 (57,89%) apresentaram resultado negativo e 16/38 (42,71%) resultado positivo para *Ancylostoma caninum*. Para avaliar a eficácia dos antiparasitários, 12/16 (75%) foram suscetíveis ao pamoato de pirantel com praziquantel, 3/4 (75%) ao fembendazol e 1/1 (100%) à milbemicina oxima com praziquantel. Além disso, constatou-se que as chances de infecção em cães que habitam um ambiente contendo solo ou grama são 6,67 vezes maiores do que em cães que habitavam ambientes impermeáveis. Cães sem raça definida (SRD) apresentaram 6,54 vezes mais propensão para serem infectados do que cães com raças definidas. Ainda, *A. caninum* resistente ao pamoato de pirantel com praziquantel (4/16, 25%) e fembendazol (1/4–25%) foram detectados nos animais submetidos aos tratamentos. A partir do estudo, ressalta-se, portanto, a importância do acompanhamento coproparasitológico pelos profissionais antes e após o tratamento de endoparasitos, a fim de avaliar a eficácia dos medicamentos antiparasitários e garantir a saúde e o bem-estar animal. Por fim, os resultados obtidos neste estudo sugerem a importância da realização de exames coproparasitológicos prévios à prescrição de anti-helmínticos, além de minimizar a exposição dos animais aos fatores de risco.

Palavras-Chave: Resistência. Antiparasitários. Helmintos. Coproparasitológico. Fatores de Risco. Saúde Pública.

ABSTRACT

HOOKWORMS IN THE GASTROINTESTINAL TRACT OF DOGS: OCCURRENCE, RISK FACTORS AND MULTI-RESISTANCE TO ANTIPARASITES

AUTHOR: Fagner D'ambroso Fernandes
ADVISOR: Fernanda Silveira Flores Vogel

Dogs are commonly infected with gastrointestinal parasites, but do not always show clinical signs. These animals are definitive hosts of numerous parasites of the gastrointestinal tract and provide the maintenance of the biological cycle, since they excrete helminth eggs and protozoan cysts or oocysts in the feces, thus favoring the contamination of the environment and the propagation of parasites to other organisms. other animals. In addition, the closer relationship between companion animals and humans intensifies human exposure to parasites with zoonotic potential. Therefore, the present study aimed to evaluate the occurrence of gastrointestinal helminths in 38 naturally infected dogs, the anthelmintic efficacy of Canex Composto® (pyrantel pamoate + praziquantel), Fenzol Pet® (phenbendazole) and Milbemax C® (milbemycin oxime + praziquantel), through qualitative (Willis and Simple Sedimentation) and quantitative (McMaster) coproparasitological techniques. In addition, the risk factors associated with the infection of these helminths from a questionnaire applied through Google Forms. This questionnaire sought, through 17 questions, to evaluate the number of treatments for endoparasites and ectoparasites per year, access to the street, predominance of environment, race, use of antiparasitic collars, frequency of veterinary consultations, presence of other animals in the same environment, profile food for dogs, family income and tutors' level of education. Of the animals evaluated, 22/38 (57.89%) were negative and 16/38 (42.71%) were positive for *Ancylostoma caninum*. To assess the effectiveness of antiparasitics, 12/16 (75%) were susceptible to pyrantel pamoate with praziquantel, 3/4 (75%) to phenbendazole and 1/1 (100%) to milbemycin oxime with praziquantel. Furthermore, it was found that the chances of infection in dogs inhabiting an environment containing soil or grass are 6.67 times greater than in dogs inhabiting impermeable environments. Mixed-breed dogs (SRD) were 6.54 times more likely to be infected than mixed-breed dogs. Furthermore, *A. caninum* resistant to pyrantel pamoate with praziquantel (4/16, 25%) and fenbendazole (1/4–25%) were detected in the animals submitted to the treatments. Based on the study, therefore, the importance of coproparasitological monitoring by professionals before and after the treatment of endoparasites is highlighted, in order to assess the effectiveness of antiparasitic drugs and ensure animal health and welfare. Finally, the results obtained in this study suggest the importance of performing coproparasitological tests prior to prescribing anthelmintics, in addition to minimizing the exposure of animals to risk factors.

Key words: Resistance. Antiparasitic. Helminths. Coproparasitological. Risk Factors. Public Health.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

| | |
|---|----|
| Figura 1- Ciclo biológico do <i>Ancylostoma caninum</i> e <i>Ancylostoma braziliense</i> | 14 |
| Figura 2- Aspecto clínico de lesões dermatológicas ocasionada por <i>Ancylostoma</i> spp..... | 15 |
| Figura 3- Imagens representativas dos 4 conjuntos de ovos mensurados, mostrando um ovo próximo ao comprimento médio de cada grupo..... | 17 |
| Tabela 1- Principais fármacos comerciais utilizados para o tratamento de <i>Ancylostoma caninum</i> em cães..... | 18 |

LISTA DE APÊNDICES

| | |
|--|----|
| APÊNDICE 1 – Questionário epidemiológico aplicado aos tutores..... | 43 |
|--|----|

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 11 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 12 |
| 2.1 ETIOLOGIA..... | 12 |
| 2.2 EPIDEMIOLOGIA..... | 12 |
| 2.2.1 Ciclo de vida e transmissão..... | 12 |
| 2.2.2 Hospedeiros..... | 13 |
| 2.2.2.1 <i>Caninos</i> | 13 |
| 2.2.2.2 <i>Humanos</i> | 14 |
| 2.3 DIAGNÓSTICO..... | 15 |
| 2.4 TRATAMENTOS E RESISTÊNCIA PARASITÁRIA..... | 16 |
| 2.5 MECANISMO DE AÇÃO DOS FÁRMACOS | 19 |
| 2.5.1 Pamoato de Pirantel..... | 19 |
| 2.5.2 Praziquantel..... | 19 |
| 2.5.3 Fembendazol..... | 19 |
| 2.5.4 Milbemicina Oxima..... | 20 |
| 2.6 PREVENÇÃO E CONTROLE..... | 20 |
| 3 ARTIGO CIENTÍFICO..... | 21 |
| 3.1 Artigo submetido ao periódico Parasitology Research..... | 21 |
| 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 38 |
| REFERÊNCIAS..... | 39 |
| APÊNDICES..... | 43 |
| APÊNDICE 1 – Questionário epidemiológico aplicado aos tutores..... | 43 |

1 INTRODUÇÃO

Caninos e felinos podem infectar-se por endoparasitas gastrointestinais, podendo apresentar curso subclínico ou clínico (NEVES et al., 2014). Em especial, cães são hospedeiros de diversos parasitas e alguns destes possuem potencial zoonótico, proporcionando risco à saúde humana (SILVA et al., 2001).

Diante disso, os cães podem apresentar a excreção de ovos de helmintos e/ou cistos e oocistos de protozoários nas fezes, possibilitando a infecção de outros cães que compartilham o mesmo ambiente (DANTAS-TORRES & OTRANTO, 2014). Para Andresiuk et al. (2003), a constância de animais eliminando formas parasitárias que podem se tornar infectantes favorece a contaminação ambiental, a manutenção do ciclo parasitário e propicia, com isso, a elevação da prevalência das doenças, de acordo com cada região.

Além disso, embora os animais de companhia possam proporcionar benefícios para os seres humanos, deve-se conhecer os agentes infecciosos que possuem potencial zoonótico, principalmente para os tutores. Isso porque, com o estreito convívio entre humanos e animais pets, o controle das parasitoses torna-se indispensável para evitar ou minimizar as possibilidades de transmissão para homens e animais, bem como para a contaminação ambiental (CHOMEL & SUN, 2011; ROBERTSON et al., 2000).

Nesse sentido, sabe-se que tratamentos prévios para endoparasitoses de cães compõem medidas profiláticas para o controle de parasitas que apresentam potencial zoonótico, porém, há relatos de resistência aos tratamentos antiparasitários utilizados (JIMENEZ CASTRO et al., 2020). Assim sendo, a implementação de tratamentos antiparasitários para endoparasitas, neste caso, pode proporcionar condições benéficas para a seleção de parasitas resistentes a determinados grupos de fármacos (RIDLEY, 1994).

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi investigar a ocorrência de helmintos gastrointestinais de 38 cães, por meio das técnicas coproparasitológicas qualitativas de Willis e da Sedimentação Simples e da técnica quantitativa de McMaster. Adicionalmente, avaliou-se a eficácia de três fármacos comerciais: Canex Composto[®] (pamoato de pirantel + praziquantel), Fenzol Pet[®] (fembendazol) e Milbemax C[®] (milbemicina oxima + praziquantel).

Para tanto, todos os animais que foram submetidos às técnicas coproparasitológicas também foram submetidos a um questionário epidemiológico, para ter-se a avaliação dos fatores de risco associados à infecção por helmintos. Desse modo, a presente dissertação é composta por uma revisão de literatura que aborda os principais ancilostomídeos de cães, principalmente aspectos relacionados à resistência antiparasitária aos fármacos comerciais. E,

na sequência, é apresentado um artigo científico que tem por objetivo relatar a ocorrência de *Ancylostoma caninum*, a resistência múltipla à fármacos, assim como a correlação dos fatores de risco para a ocorrência da infecção por helmintos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ETIOLOGIA

Os ancilostomídeos são parasitas gastrointestinais localizados no intestino delgado, podendo infectar cães e outros mamíferos. Nesse viés, *Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma braziliense*, *Ancylostoma ceylanicum* e *Uncinaria stenocephala* são os principais ancilostomídeos que podem acometer os cães (PROVIC, 1998). Além disso, cabe salientar que esses parasitas também podem infectar humanos, caracterizando uma zoonose, sendo as espécies *A. caninum* e *A. braziliense* os principais responsáveis (BOWMAN et al., 2010; NUNES et al., 2000).

2.2 EPIDEMIOLOGIA

2.2.1 Ciclo de vida e transmissão

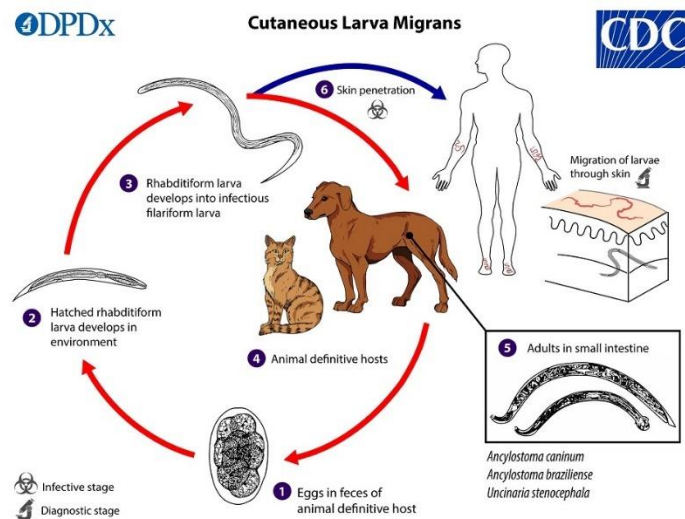
Em relação aos animais parasitados, sabe-se que eles eliminam ovos no ambiente, através das fezes. Assim, esses ovos são eliminados na forma não embrionada e tornam-se embrionados em condições adequadas de temperatura e umidade, processo esse que pode ocorrer entre 24 e 48 horas para a larva L1 (rabditiformes). Com isso, as larvas L1 progridem para o estágio L3 (filariformes), tornando-se infectantes para os hospedeiros. Cabe salientar, ainda, que neste estágio as larvas podem sobreviver de 3 a 4 semanas no ambiente, desde que as condições de umidade e temperatura sejam favoráveis para a sua manutenção (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2019; NEMZEK et al., 2015).

Além disso, as larvas podem penetrar por via percutânea, uma vez que migram pela microcirculação e podem ser transportadas até o coração e depois aos pulmões. Nos alvéolos pulmonares, por exemplo, elas migram até a faringe e são deglutidas. Em seguida, essas larvas deslocam-se até o intestino delgado, local no qual permanecem até tornarem-se adultas após fixadas na parede intestinal (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2019; NEMZEK et al., 2015).

Ainda, quando as cadelas estão gestantes, pode ocorrer de algumas larvas não migrarem até o intestino delgado, ficando presas na musculatura esquelética. Com isso, a passagem destas larvas ocorre por via transplacentária, mais frequentemente, via transmamária (Centers for Disease Control and Prevention, 2019). No entanto, esta via é menos frequente (CURY & LIMA 2002).

Em relação à infecção de humanos, estes podem infectar-se por via percutânea, através de larvas filariformes. Nesse caso, ocorre a migração larval percutânea, porém, essas larvas são autolimitantes e não atingem o estágio adulto (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2019; NEMZEK et al., 2015), como pode ser observado na Figura 1, a partir do ciclo do parasita *A. caninum* e *A. braziliense*:

Figura 1- Ciclo biológico do *Ancylostoma caninum* e *Ancylostoma braziliense*



Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

2.2.2 Hospedeiros

2.2.2.1 Caninos

O *A. caninum* é o ancilostomídeo mais comum em cães e também o mais patogênico, resultando em sinais clínicos. Diante disso, os sinais clínicos comumente encontrados em

infecções ocasionadas por ancilostomídeos em cães são: anemia, diarreia sanguinolenta ou melena. Sinais menos comuns incluem letargia, anorexia, vômitos, desidratação e diminuição no ganho de peso desses animais. Ademais, filhotes podem apresentar esses sinais clínicos de maneira mais acentuada quando comparados à cães adultos (NEMZEK et al., 2015).

2.2.2.2 Humanos

Com o crescente número de caninos pertencentes às famílias brasileiras, o risco de infecção para humanos tem crescido consideravelmente (GUIMARÃES et al., 2005). Ainda, de acordo com Provic & Croese (1996), *A. caninum* é a principal causa de enterite eosinofílica humana. Para os autores, a enterite transcorre com frequentes dores abdominais e eosinofilia sanguínea, podendo também apresentar-se como uma infecção subclínica. No entanto, Bowman et al. (2010) descrevem o *A. brasiliense* como o principal responsável por lesões dermatológicas, enquanto o *A. caninum* é comumente relacionado à enterite eosinofílica.

Assim sendo, a lesão dermatológica é caracterizada pela migração da larva em tecido subcutâneo – Larva migrans cutânea –, proporcionando porta de entrada para a ocorrência de infecções secundárias (KWON et al., 2003). Além disso, a ocorrência da larva migrans cutânea ocorre mundialmente, ainda que apresente um número maior de casos em regiões tropicais ou subtropicais, como sudeste dos EUA, América Central, América do Sul e África (KWON et al., 2003). A lesão característica pode ser observada na Figura 2.:

Figura 2- Aspecto clínico de lesões dermatológicas ocasionada por *Ancylostoma* spp.



Fonte: Macias et al. (2013), adaptado.

As lesões dermatológicas comumente desenvolvem-se nos membros inferiores, principalmente nos pés e nas nádegas, ocorrendo com maior frequência em crianças,

possivelmente pelo maior contato com ambientes contaminados (KWON et al., 2003; SANTARÉM et al., 2004). Adicionalmente, o risco de infecção em crianças tem aumentado nas últimas décadas, sobretudo após o crescente número de cães domiciliados, peridomiciliados e errantes que vagueiam nos locais de lazer (GUIMARÃES et al., 2005).

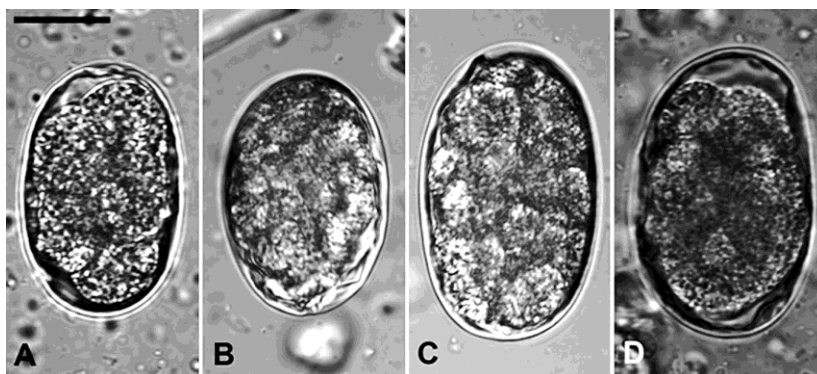
2.3 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico dos ancilostomídeos é baseado em técnicas coproparasitológicas, assim como no exame post-mortem dos animais (PALMER et al., 2006). Entretanto, o diagnóstico com a finalidade de identificação das respectivas espécies de ancilostomatídeo pode ser realizado com técnicas moleculares, como a RFLP-PCR da região ITS1 de rDNA (E SILVA et al., 2006). Ademais, a realização de técnicas coproparasitológicas também é uma forma de diagnóstico que possui baixo custo para sua execução.

Ribeiro et al. (2012) recomendam a associação de duas técnicas coproparasitológicas, sendo a utilização da técnica de Willis e a Sedimentação Simples as técnicas recomendadas. A técnica de Willis é realizada a partir de solução saturada de cloreto de sódio (densidade de 1,182), de acordo com Willis (1921), e a técnica de Sedimentação Simples pode ser realizada apenas com água (HOFFMAN et al., 1934). A técnica de McMaster também pode ser realizada para diagnóstico, com finalidade qualitativa, utilizando solução saturada de sal ou açúcar (GORDON & WHITLOCK, 1939). No entanto, o diagnóstico muitas vezes é realizado apenas para o gênero *Ancylostoma*.

Além disso, teóricos como Lucio-Foster et al. (2012) buscaram realizar a comparação morfológica de *A. caninum*, *A. tubaeforme* e *A. braziliense* a partir de amostras fecais de caninos e felinos. Para a confirmação, foi realizada RFLP-PCR com a utilização das enzimas de restrição HinfI e RsaI. Como resultado, pode-se verificar que ovos de *A. braziliense* eram significativamente menores que ovos de *A. caninum* e *A. tubaeforme*, sendo as espécies em microscopia, desse modo, facilmente distinguíveis, como pode-se observar na Figura 3:

Figura 3 - Imagens representativas dos 4 conjuntos de ovos mensurados, mostrando um ovo próximo ao comprimento médio de cada grupo.



Fonte: Lucio-Foster et al. (2012).

Legenda: barra (canto superior esquerdo) = 20 μ m, todas as imagens são ampliadas na mesma escala.

Diante da Figura 3, pode-se observar que a imagem A representa um Ovo de *Ancylostoma braziliense* de um cão infectado com um isolado canino; a imagem B um Ovo de *Ancylostoma braziliense* de um gato infectado com um isolado felino; a imagem C um Ovo de *Ancylostoma caninum* de um cão; e, por fim, a imagem D representa um Ovo de *Ancylostoma tubaeforme* de um gato.

2.4 TRATAMENTOS E RESISTÊNCIA PARASITÁRIA

Caninos são frequentemente tratados com antihelmínticos. Estes tratamentos são, muitas vezes, realizados de forma empírica, baseando-se apenas em períodos mensais. Normalmente os períodos são de três meses para cães que estão dentro de apartamentos/casas e que possuem acesso à rua, e de seis meses para cães que estão no pátio e que possuem acesso à rua (TAMPONI et al., 2017). Esses tratamentos realizados, dessa forma, podem predispor a seleção de parasitas resistentes aos fármacos mais utilizados. Associado à isso, não ocorre o monitoramento da eficácia desses tratamentos.

Quanto aos tratamentos, o antiparasitário mais utilizado é o pamoato de pirantel, por apresentar maior segurança farmacológica em animais jovens doentes. Adicionalmente, outros tratamentos, como a administração de milbemicina ou ivermectina associada ao pirantel, podem ser recomendados. Ainda, os tratamentos realizados nos filhotes normalmente acontecem em uma periodicidade de 2 semanas, sendo o primeiro tratamento realizado na segunda semana à

16ª semanas de idade dos filhotes (NEMZEK et al., 2015). A seguir, na Tabela 1, tem-se os principais fármacos comerciais utilizados para o tratamento de *Ancylostoma caninum* em cães:

Tabela 1 - Principais fármacos comerciais utilizados para o tratamento de *Ancylostoma caninum* em cães.

| Nome comercial | Princípios ativos |
|--|--|
| Canex Original [®] (Ceva) | Pamoato de Pirantel 145mg |
| Canex Composto [®] (Ceva) | Pamoato de Pirantel 145mg + Praziquantel 50,5mg |
| Canex Plus 3 [®] (Ceva) | Praziquantel 50mg + Pamoato de Pirantel 144mg + Febantel 150mg |
| Canex Premium [®] (Ceva) | Praziquantel 25mg + Pamoato de Pirantel 72mg + Febantel 75mg + Ivermectina 0,03mg |
| Drontal Puppy [®] (Elanco) | Pamoato de Pirantel 1,44g + Febantel 1,50g |
| Drontal Plus [®] (Elanco) | Praziquantel 50mg + Pamoato de Pirantel 144mg + Febantel 150mg |
| Endal Plus [®] (MSD) | Praziquantel 50mg + Pamoato de Pirantel 144mg + Febantel 150mg |
| Endogard [®] (Virbac) | Febantel 37,5mg + Pamoato de Pirantel 36mg + Praziquantel 12,5mg + Ivermectina 0,015mg |
| Helfine Plus [®] (Agener União) | Praziquantel 50mg + Pamoato de Pirantel 144mg + Febantel 150mg |
| Mectimax [®] (Agener União) | Ivermectina 3mg |
| Milbemax C [®] (Elanco) | Milbemicina Oxima 2,5mg + Praziquantel 25mg Milbemicina Oxima 12,5mg + Praziquantel 125mg |
| Panacur 10% [®] (MSD) | Fembendazol 100mg |
| Petzi Plus [®] (Ceva) | Praziquantel 25mg + Pamoato de Pirantel 72,5mg + Pamoato de Oxantel 190mg |
| Revolution [®] (Zoetis) | Selamectina 60mg |
| Chemital [®] (Chemitec) | Praziquantel 50mg + Pamoato de Pirantel 144mg |
| Chemital Plus [®] (Chemitec) | Praziquantel 50mg + Pamoato de Pirantel 144mg + Febantel 150mg |
| Fenzol Pet [®] (Agener União) | Fembendazol 500mg |

Fonte: Autor (2022).

Ademais, a resistência do helminto *Ancylostoma* spp. já é relatada e é um problema para a implementação de tratamentos anti-helmínticos. A exemplo, Kopp et al. (2008) detectaram cepas de *A. caninum* resistente ao princípio pamoato de pirantel em 28% e 71% em dois isolados distintos. Ainda, a exposição dos helmintos à fármacos antihelmínticos podem propiciar a pressão seletiva para gerar populações de helmintos resistentes.

Nesse contexto, Kitchen et al. (2019) descrevem cepas resistentes aos princípios ativos fembendazol (dose 50mg/kg por 3 dias) e ivermectina. De acordo com os autores, relatou-se uma mutação de par de bases no aminoácido 167 do gene isotipo 1 de b-tubulina, e usando CRISPR/Cas9 foi demonstrado que, quando introduzida esta mutação no aminoácido correspondente, confere um nível semelhante de resistência ao tiabendazol. Ainda, os autores também descrevem a resistência à Lactona Macroclíca Ivermectina, sendo esta é a primeira descrição de *A. caninum* multirresistentes.

Castro et al. (2021) também objetivaram, em seu estudo, avaliar o fenótipo e o genótipo de populações de *A. caninum* que infectam galgos. Para isso, amostras de fezes foram coletadas sendo realizada a contagem de ovos em 219 amostras fecais, sendo que a resistência à benzimidazóis e Lactonas Macroclícas foi avaliada a partir do ensaio de eclosão de ovo, e o ensaio de desenvolvimento larval para amostras de 54 animais. Com isso, os tratamentos com albendazol, moxidectina ou a combinação de febantel-pirantel-moxidectina apresentaram 349, 33, 385 OPG para amostras que foram avaliadas com >10 dias pós tratamento, respectivamente.

Sobre isso, cabe ressaltar que cães da raça Galgo são frequentemente expostos à tratamentos antihelmínticos. Isso deve-se ao fato de as corridas exigirem um esforço físico destes animais, sendo a infecção por *A. caninum* um fator que pode limitar o seu desempenho. Associado a isso, os tratamentos antihelmínticos são implementados sem avaliação coproparasitológica prévia, ou sem acompanhamento por um Médico Veterinário. Castro et al. (2019) realizaram um estudo baseado no teste de eclodibilidade de ovos (TEO) e no teste de desenvolvimento larval (TDL) a partir de amostras encaminhadas ao laboratório. O TEO foi utilizado para avaliação da eficácia de benzimidazol e TDL para lactona macroclíca. Este estudo apresentou resistência múltipla em isolados independentes de *A. caninum*, sugerindo que esta parasitose pode ser um problema nos EUA. Adicionalmente, os autores sugerem que cepas resistentes de *A. caninum* podem ser oriundas de locais onde são criados cães galgos.

Hess et al. (2019), em outro estudo, avaliaram 8 galgos que apresentavam eliminação de ovos nas fezes mesmo após tratamento anti-helmíntico. Foram administrados moxidectina tópica, seguido de pirantel/febantel/praziquantel em 24 horas. Após a realização do experimento, obteve-se que a combinação de moxidectina tópica associada à pirantel, febantel e praziquantel é uma associação recomendada para os cães que apresentaram uma infecção crônica por *A. caninum*, uma vez que nenhum tratamento anterior com fármaco comercial apresentou eficácia satisfatória. Este estudo, portanto, destaca a importância da realização de exames coproparasitológicos após a administração de anti-helmínticos, confirmando se o

tratamento eliminou completamente o parasita, diminuindo, desse modo, o risco de cães continuarem infectados e oferecendo risco aos proprietários por contaminação ambiental.

2.5 MECANISMO DE AÇÃO DOS FÁRMACOS

2.5.1 Pamoato de Pirantel

Fármacos comerciais que apresentem em suas formulações a associação com pamoato de pirantel possuem ação bloqueadora neuromuscular despolarizante, proporcionando um bloqueio excitatório que atua como receptor nicotínico de acetilcolina (nAChR). Esse mecanismo suscita em uma grande estimulação da musculatura dos nematóides, além de contração espástica e paralisia (COURTNEY & ROBERTSON, 1995).

2.5.2 Praziquantel

O mecanismo de ação do praziquantel está relacionado ao influxo de íons de Ca^{2+} e subsequente, paralisia muscular imediata do parasita. Também está relacionado à vacuolização em estruturas tegumentares de alguns parasitas de estágio adulto, expondo os antígenos de superfície do parasita ao reconhecimento pelo sistema imunológico do hospedeiro (CUPIT & CUNNINGHAM 2015; XIAO et al., 2009).

2.5.3 Fembendazol

O fembendazol é um fármaco anti-helmíntico muito utilizado na medicina veterinária pelo fato de apresentar amplo espectro. Pertencente à classe dos benzimidazóis, esse fármaco tem como principal mecanismo de ação a inibição da captação de glicogênio do parasita, ocasionando a destruição microtubular no epitélio intestinal (SHORT et al., 1988). Adicionalmente, os metabólitos desse fármaco ligam-se em um local específico da molécula β -tubulina, interrompendo as funções associadas aos microtúbulos. Esse mecanismo proporciona a inibição da divisão celular e a inibição da absorção de nutrientes por meio do transporte de vesículas (LACEY 1990).

2.5.4 Milbemicina Oxima

O mecanismo de ação da milbemicina oxima está relacionado à atividade neurotransmissora. Assim, as milbemicinas, em especial a milbemicina oxima, são indutoras da liberação do neurotransmissor gama ácido butírico (GABA), interferindo diretamente na transmissão neuronal dos parasitas. Adicionalmente, as milbemicinas possuem efeito mediado por receptores de canais iônicos controlados por glutamato, sendo muito utilizadas como nematicidas (FENG et al., 2002).

2.6 PREVENÇÃO E CONTROLE

Sabendo que cães podem excretar ovos de helmintos nas fezes, a contaminação ambiental por ovos de helmintos com potencial zoonótico pode ocorrer. Dessa forma, diversos estudos são realizados para avaliar a ocorrência desses helmintos.

Guimarães et al. (2005), por exemplo, verificaram a contaminação ambiental de amostras de solos de praças públicas do município de Lavras, Minas Gerais. Foram detectados ovos de *Toxocara* spp., *Ancylostoma* spp. De acordo com os autores, as praças públicas são as áreas que possuem maior risco para infecção de *Toxocara* spp. e *Ancylostoma* spp. Em outro estudo, Gallina et al. (2011) verificaram a presença de ovos de nematóides em 62% das amostras analisadas do campus universitário de Pelotas, no Rio Grande do Sul. Os principais helmintos detectados foram *Toxocara* spp. e ancilostomatídeos. Além disso, larvas de Ancilostomídeos (77,62%), ovos de *Toxocara* spp. (13,43%) *Taenia* spp. (5,97%) e de Ancilostomídeos (2,98%) foram detectados em amostras de areia de praças públicas no município de São Mateus, no Espírito Santo (MACIEL et al. 2016).

A partir desses estudos, portanto, torna-se necessária a implementação de ações de manejo com ambientes em que estes animais possam defecar, associado à limpeza destes locais, bem como à educação de tutores que frequentam tais locais, para ter-se, desse modo, a coleta das fezes dos cães e realizar o destino correto deste material.

Ademais, os tratamentos das parasitoses gastrointestinais de cães devem ser realizados com duração e intervalos adequados, com acompanhamento do médico veterinário, preferencialmente com a realização de diagnóstico prévio à intervenção terapêutica (FERREIRA et al. 2013).

3 ARTIGO CIENTÍFICO

3.1 Artigo submetido ao periódico Parasitology Research

ANCYLOSTOMIDES IN THE GASTROINTESTINAL TRACT OF DOGS: OCCURRENCE, RISK FACTORS AND MULTIPLE ANTIPARASITIC DRUG RESISTANCE

Fagner D'ambroso Fernandes^a, Renata Rojas Guerra^b, Ananda Segabinazzi Ries^c, Juliana Felipetto Cargnelutti^d, Luis Antonio Sangioni^e, Fernanda Silveira Flores Vogel^f

^aLaboratório de Doenças Parasitárias (LADOPAR), Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Av. Roraima, nº 1000, Prédio 63C, Bairro Camobi. CEP: 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2591-2327>. E-mail: fagner.fernandes@acad.ufsm.br.

^bDepartamento de Estatística, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Av. Roraima, nº 1000, Prédio 13, sala 1206, Bairro Camobi. CEP: 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6476-8276>. E-mail: renata.r.guerra@ufsm.br.

^cLaboratório de Doenças Parasitárias (LADOPAR), Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Av. Roraima, nº 1000, Prédio 63C, Bairro Camobi. CEP: 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7648-9269>. E-mail: ananda.ries@acad.ufsm.br.

^dLaboratório de Bacteriologia (LABAC), Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Av. Roraima, nº1000, Prédio 63C, Bairro Camobi. CEP: 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3160-3643>. E-mail: juliana.cargnelutti@ufsm.br.

^eLaboratório de Doenças Parasitárias (LADOPAR), Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Av. Roraima, nº 1000, Prédio 63C, Bairro Camobi. CEP: 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2364-1084>. E-mail: lasangioni@gmail.com.

^fLaboratório de Doenças Parasitárias (LADOPAR), Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Av. Roraima, nº 1000, Prédio 63C, Bairro Camobi. CEP: 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil. ORCID: <https://orcid.org/>

0000-0003-1351-9912. E-mail: fernanda.vogel@ufsm.br.

Corresponding author: Fagner D'ambroso Fernandes

Endereço: Av. Roraima, nº 1000, Prédio 63C, Bairro Camobi. CEP: 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

Telephone: +55 (55) 999865156

E-mail: fagner.fernandes@acad.ufsm.br

ANCYLOSTOMIDES IN THE GASTROINTESTINAL TRACT OF DOGS: OCCURRENCE, RISK FACTORS AND MULTIPLE ANTIPARASITIC DRUG RESISTANCE

ABSTRACT

Helminth infections are detrimental to the overall health of dogs; therefore, this study aimed to detect a population of antiparasitic resistant helminths and evaluate the infection rate in canines as well as the risk factors for parasitism. For this purpose, a parasitological evaluation of 38 randomly selected animals was performed, followed by the evaluation of the anthelmintic efficacy of three drugs: pyrantel pamoate with praziquantel (Canex Composto®), fenbendazole (Fenzol Pet®), and milbemycin oxime with praziquantel (Milbemax C®). Of the evaluated animals, 22/38 (57.89%) tested negative and 16/38 (42.71%) tested positive for *Ancylostoma caninum*. To evaluate the efficacy of antiparasitic drugs, 12/16 (75%) were susceptible to pyrantel pamoate with praziquantel, 3/4 (75%) to fenbendazole, and 1/1 (100%) to milbemycin oxime with praziquantel. The odds ratio of infection in dogs that inhabit an environment containing soil or grass is 6.67 times higher than those who inhabited impermeable environments. Mixed breed dogs (SRD) were 6.54 times more likely to be infected than dogs with pure breeds. *Ancylostoma caninum* resistant to pyrantel pamoate with praziquantel (4/16, 25%) and fenbendazole (1/4–25%) were detected. The results in this study the importance of coproparasitological monitoring by professionals before and after treatments is highlighted, in order to assess the effectiveness of antiparasitic drugs and ensure animal health and welfare, as well as unique health, as well as minimizing exposure of animals to risk factors.

Keywords: Dog; Coproparasitological; Resistance; Risk factors; Public health; Brazil.

INTRODUCTION

The interaction between dogs and humans has increased considerably in recent decades, considering the belonging of these animals as members of family groups, in addition to emotional bond (Schad 1994; Macpherson 2005). However, dogs can be infected by endo and ectoparasites, and some of them are considered to have zoonotic potential (Schimmel et al. 2009; Dantas-Torres and Otranto 2014). Thus, the correct identification of parasites is important, as it enables the planning of treatments and the implementation of prophylactic measures (Schad 1994; Traversa et al. 2014; Alves et al. 2018; La Torre et al. 2018).

Some studies in Brazil have been conducted to assess the occurrence of parasites. Klimpel et al. (2010) evaluated the presence of endo and ectoparasites in stray dogs from Fortaleza. In this study, the parasites found in

the necropsy were *Ancylostoma caninum* and *Dipylidium caninum*, with a prevalence of 95.7% (2337/3162) and 45.7% (805/3162), respectively. Additionally, in coproparasitological examinations, *Giardia* spp. and *A. caninum* were the most commonly found parasites. Alves et al. (2018) also identified *Ancylostoma* spp. in 36.7% (47/128), *Giardia* spp. in 4.6% (6/128), *Cystoisospora* spp., *Taenia* spp., and *Toxocara canis* in 3.1% (4/128), *Trichuris* spp. in 1.5% (2/128), and *D. caninum* in 0.7% (1/128), may have zoonotic potential. Furthermore, other studies carried out with dogs, detected the prevalence of *T. canis*, *Dirofilaria immitis*, and *Acanthocheilonema reconditum* (Klimpel et al. 2005; Dantas-Torres 2008).

Gastrointestinal parasites in dogs cause a variety of gastrointestinal clinical signs, such as diarrhea, hematochezia, and perianal itching, which may vary depending on the age of the affected animals (Epe 2009; Riggio et al. 2013). Respiratory signs can also occur, especially when related to larval migration (Overgaauw 1997), such as in *T. canis* and *A. caninum*. Puppies with acute *A. caninum* infection can present with all these signs, along with anemia, which can aggravate and trigger developmental delay, apathy, and opaque hairs, including the death of an animal (Reinemeyer 2016). However, in adult animals, some helminths are hardly related to the presence of clinical signs (Payne-Johnson et al. 2000).

The main risk factors for the occurrence of infection in humans with dog helminths occur when animals are not treated with effective or adequate anthelmintics, as well as the absence of periodic monitoring by parasitological examinations (Schad 1994; Sager et al. 2006). Hence, it is evident that the use of coproparasitological techniques is essential to provide a diagnosis of parasitism by helminths (Tamponi et al. 2017), considering that infections can have a subclinical nature (Thompson et al. 2000).

However, coproparasitological examinations are not frequently performed by veterinarians, and the control of these endoparasites is generally carried out by professionals and tutors through the administration of anthelmintics at predetermined intervals (three–six months), without proper evaluation of the efficacy of antiparasitic drugs (Epe 2009; Tamponi et al. 2017). However, these treatments, when performed empirically, may predispose to selection pressure for resistant parasites. Commonly, the main groups of drugs used for the treatment of helminths in dogs belong to the class of benzimidazoles (fenbendazole, febantel), tetrahydropyrimidines (pyrantel), isothiocyanates (nitroscanate), macrocyclic lactones (ivermectin, milbemycin oxime, selamectin, moxidectin, and octaptin (emodepside) (Epe 2009).

The resistance of *A. caninum* to anthelmintics has been reported primarily for pyrantel pamoate (Kopp et al. 2008a) in terms of prophylactic use, constituting the main aggravating factor for pressure selection of resistant populations of helminths (Thompson et al. 2000). Jimenez Castro et al. (2020) reported that some veterinarians

empirically reported the refractoriness of hookworms to anthelmintics commonly used in the United States. Castro et al. (2019) detected three isolates that were multiresistant to benzimidazoles, macrocyclic lactones, and tetrahydropyrimidines. Furthermore, the association of helminth resistance to drugs used with a high frequency of treatments was verified. Another factor that contributes to parasitic resistance is the suppressive use of macrocyclic lactones for infection by *D. immitis* microfilariae (Bowman and Atkins 2009), which favors the establishment and development of resistance (Bourguinat et al. 2011).

Therefore, the objective of this study was to evaluate the efficacy of pyrantel pamoate with praziquantel, fenbendazole, and milbemycin oxime with praziquantel against helminth populations of naturally infected dogs, as well as to determine the risk factors for the selection of resistant helminth populations.

MATERIALS AND METHODS

Selection of animals

To conduct this study, 38 naturally infected animals that had not been treated with antiparasitic drugs for at least one month prior to the beginning of this study were selected, in the city of Santa Maria, Rio Grande do Sul. First, stool samples were collected and subjected to qualitative coproparasitological analysis, and samples that tested positive for some helminths were subjected to quantitative analysis. To determine the effectiveness of the antiparasitic drugs, samples that presented at least 50 helminth eggs per gram of feces were used.

Coproparasitological exams

With the aid of latex gloves, dog stool samples were collected immediately after defecation, placed in isothermal boxes, and sent to the Laboratory of Parasitic Diseases at the Federal University of Santa Maria. Stool samples were kept refrigerated until processing by qualitative (Willis 1921; Hoffman et al. 1934) and quantitative (Gordon, H. M.; Whitlock 1939) coproparasitological techniques.

First, the qualitative floating technique according to Willis-Mollay (Willis 1921) was performed to assess the presence of helminth eggs. For the evaluation of heavy eggs, the simple Hoffman sedimentation technique (Hoffman et al. 1934) was used with modifications. In samples where some helminth eggs were identified, the quantitative McMaster technique was performed (Gordon and Whitlock 1939). *Ancylostoma* spp. eggs were identified according to Lucio-Foster et al. (2012). The samples were then observed under a Zeiss Primo Star 3 optical microscope at 100 and 400X magnification.

Treatments

To carry out the treatments, the animals that presented egg excretion for some helminths were submitted to the treatment protocol on day zero (D0) using pyrantel pamoate 145 mg with praziquantel 50 mg (Canex Compound® CEVA), following the manufacturer's recommendations. On day seven (D7), helminths that still excreted eggs in their feces were submitted to the second treatment with 500 mg of fenbendazole (Fenzol Pet® Agener União Saúde Animal). On day 14, after the first treatment (D14), the animals that still had eggs in their feces underwent the third treatment using milbemycin oxime (2.5 mg) with praziquantel 25 mg (Milbemax C® Elanco). Seven days after the last treatment (D21), another fecal collection was performed to assess the presence of egg excretion.

Efficacy test

To establish the effectiveness of antiparasitic treatments, comparisons of egg excretion rates before and after 7 days of treatment were performed according to the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. To evaluate the effectiveness, the Faecal Egg Count Reduction Test (FECRT) was performed. This study considered the parameter of anthelmintic efficacy below 90% as resistant, according to VICH GL19 Effectiveness of Anthelmintic and Overall Guidelines: Specific Recommendation for Canines (June 2001).

Questionnaire

To determine the risk factors, an epidemiological inquiry was carried out through the application of a questionnaire on D0, directed to all tutors who participated in this work. The variables analyzed were as follows: i) access to the street, ii) number of treatments for ectoparasites per year; iii) number of treatments for endoparasites; iv) use of antiparasitic collars; v) frequency of veterinary appointments per year; vi) predominance of environment, that is, where the animals spend most of their time; vii) presence of other animals in the same environment; viii) dog food profile; ix) breed of dogs; x) education of the individual who studied the most in the family; xi) and monthly family income (Table 2). The questionnaire was conducted using Google Forms.

Statistical analysis

Chi-square tests were used, and when the observed frequency was <5 , Fisher's exact test was applied. When the p-value is smaller than 5%, we reject the null hypothesis of no association and conclude that there is evidence based on the result of the analysis on D0, which is associated with at least one category of the variables,

considering a significance level of 5%. The odds ratio of dogs with a defined breed and those who inhabited a waterproof environment was calculated by adjusting a logistic regression model and using the stepwise technique to select the variables (Agresti, 2007). Additionally, a multiple logistic regression model was performed for the animals with no defined breed (SRD) and the test result on D0.

This study was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA) under n° 9214111120 and the Ethics and Research with Human Beings Committee (CEP) under n° 40337720.7.0000.5346 of the Federal University of Santa Maria.

RESULTS

In this study, the occurrence of *A. caninum* was observed in 16/38 (42.11%) of the animals evaluated. In contrast, animals that showed shedding of *A. caninum* eggs in the analyzed samples were included in the efficacy analysis.

After the first treatment using pyrantel pamoate with praziquantel, 12 (12/16) animals had a negative result with an efficacy of 75%, indicating the resistance of this genus to pyrantel pamoate with praziquantel. Of the four animals that received the second treatment with fenbendazole, three showed negative results, indicating an efficacy of 75%. The animal that maintained *A. caninum* infection, even after two treatments, first pyrantel pamoate associated with praziquantel and fenbendazole, was submitted to the third treatment using milbemycin oxime with praziquantel, who consequently had a negative result. Therefore, these data demonstrated that the population of *A. caninum* resistant to pyrantel pamoate when combined with praziquantel, and fenbendazole was susceptible to milbemycin oxime with praziquantel, at 100% efficacy (Table 1).

The efficacy of using pyrantel pamoate with praziquantel on D0 against populations of *A. caninum* in animals 7, 8, 10, and 15 were 50%, 94.12%, 0%, and 77.78%, respectively. The efficacy of treatment with fenbendazole on D7 was 100% for animals 8, 10, and 15. However, in animal 7, the efficacy was 0%. Therefore, this animal was included in the efficacy test using milbemycin oxime with praziquantel, wherein 100% efficacy was verified.

As for the assessment of risk factors, Table 2 presents the contingencies for the frequencies of the profile variables, according to the assessment of the presence of eggs excreted on the first day of analysis.

Regarding the risk factors for the occurrence of helminth infection in dogs, in this study, 23.68% (9/38) of these animals received at least three treatments per year to control helminths. Of the positive dogs, 18.42% (7/38) performed one treatment per year for endoparasites, 36.84% (14/38) had controlled access to the street,

36.84% (14/38) were predominantly in an environment of lawn or earth. Flea control was not performed in 5.26% (2/38) of the animals, while 34.21% (13/38) used an antiparasitic collar, evaluating dogs that tested negative. Most dogs did not cohabit with other animals (15/38) and showed egg excretion (15/38 p-value 0.1056).

Most of the animals that inhabited the waterproofed environment had a negative result. Animals that had a defined breed and that lived in an impermeable environment were 6.67 times less likely to be infected when compared to an SRD and that were in a lawn or earth environment. Additionally, SRD dogs, adjusted for the environment, presented 6.54 times greater chances of infection when compared to the defined breed, when analyzed by the logistic regression model.

Animals from tutors who received 3 to 5 minimum wages had a higher prevalence of *A. caninum* infection, although family income did not show a significant association ($p = 0.0292$). Dogs from tutors with higher or postgraduate education also showed a higher prevalence

DISCUSSION

Ancylostoma caninum is a helminth that greatly affects public health, with the dog as the main transmitting host causing infection in humans, especially among children, through close contact with infected animals and/or contaminated environments (Epe 2009; Dantas-Torres and Otranto 2014). Therefore, the detection of dog nematode eggs by coproparasitological techniques found in this study, especially *A. caninum*, corroborates with the results found by Klimpel et al. (2010) and Campos et al. (2016), in which they found a large occurrence of this helminth in the states of Ceará and Espírito Santo, respectively. In addition, *A. caninum* has a cosmopolitan distribution, with the majority occurring in dogs, among the main endoparasites (McCarthy and Moore 2000).

In this study, 42.11% (16/38) of the animals needed treatment, reinforcing the importance of using anthelmintics to ensure animal welfare and human health, and avoid environmental contamination. Furthermore, the identification of parasites can contribute to both the clinical diagnosis and reduction of the risk of transmission. Schad (1994), Dracz et al. (2014), and Alves et al. (2018) observed the importance of correctly identifying helminths in order to provide proper treatment. However, in this study, 57.89% (22/38) of the dogs did not present with helminth egg excretion in feces.

The parasitosis caused by *A. caninum* has a significant deleterious effect on animal health, being one of the main causes of neonatal death. Additionally, this can provide economic loss for dog breeders and influence marketing. Furthermore, in adults, clinical signs include apathy, anorexia, anemia, weight loss, opaque coat, and

pale mucosa. This infection can alter intestinal integrity, providing a gateway for other agents, such as bacteria and viruses (Epe 2009; Pesavento and Murphy 2014).

It should be noted that the animals in this study could be receiving unnecessary antiparasitic treatments. However, studies carried out by Campos et al. (2016) contradict these findings, which observed that most animals were subjected to antiparasitic treatments at regular intervals, namely, less than 6 months in 25%, every 6 months in 44%, and once a year in 25% of the evaluated dogs. Traversa (2012) and La Torre et al. (2018) highlighted the importance of requesting complementary parasitological tests for diagnosis and the use of specific antiparasitic drugs, especially in the case of species with zoonotic potential. Furthermore, constant epidemiological surveillance and control measures carried out by veterinarians, as well as appropriate control measures, are essential to prevent infection in animals, humans, and environmental contamination (La Torre et al. 2018).

It was observed that 75% (12/16) and 6.25% (3/4) of the animals had populations of *A. caninum* that were multiresistant to pyrantel pamoate with praziquantel and fenbendazole, respectively. Kopp et al. (2008a, b) also found populations of *A. caninum* resistant to pyrantel pamoate. However, a study carried out by Becker et al. (2012) did not show populations of *A. caninum* and *T. canis* resistant to fenbendazole and pyrantel pamoate. Moreover, they found 100% efficacy in the populations evaluated. It is noteworthy that in the biological cycle of *A. caninum*, in young animals, the larvae that reach the lungs evade the musculature (histiotrophic phase), making the action of certain antiparasitic drugs more difficult. In addition, frequent treatments, in over or under dosages, multiple rotations of active principles, and preventive therapy against *D. immitis* infection may favor selection pressure for resistant helminth populations (Epe 2009).

Robertson et al. (2000) highlighted the importance of being cautious in the use of associated anthelmintics, as it is not a sustainable alternative and can eventually lead to a greater resistance of pharmacological classes, reinforcing the need to monitor the effectiveness of drugs through coproparasitological tests before and after treatments. It is noteworthy that, in this study, 57.89% (22/38) of the animals did not present egg excretion in the feces, reinforcing the importance of performing coproparasitological tests prior to the prescribed treatments.

In this study, no populations of *A. caninum* resistant to the milbemicina oxime + praziquantel were detected. However, continuous treatment with this drug can be a risk factor for the selection pressure of parasites resistant to this drug, especially when administered monthly as microfilaricidal therapy of *D. immitis*, since this protocol is established to control parasitosis (Bowman and Mannella 2011). In this context, Castro et al. (2019) and Kitchen et al. (2019) found isolates resistant to macrocyclic lactones, in addition to benzimidazoles.

Jesus et al. (2015) evaluated the efficacy of pyrantel pamoate and ivermectin against *A. caninum* and *Toxocara* spp. The presence of *A. caninum* populations resistant to pyrantel pamoate and populations of *Toxocara* spp. resistant to ivermectin, corroborate the results in this work related to *A. caninum*.

Risk factors can predispose animals to helminth infection, and even if they are exposed to periodic antiparasitic treatment protocols, they may continue to present excretion of eggs in feces, which can contaminate the environment, thereby affecting humans and other animals (Campos et al. 2016). In this study, antiparasitic treatments with ineffective drugs were unable to prevent the excretion of eggs, reinforcing the need for coproparasitological examinations before and after treatment. Although infection in humans by cutaneous larva migrans caused by *A. caninum* is self-limiting, individuals with transient or permanent immunosuppression factors should be more careful (Velho et al. 2003). Moreover, eosinophilic enteritis may occur (Epe 2009).

Access to the streets where the animals usually stay was one of the variables verified in this study. Regarding the chances of infection in animals that had controlled access to the street, 36.84% (14/38, p value 1) were positive (Table 2). Most animals had controlled access to the street, that is, walks monitored by the tutor, which reduced the exposure of these animals spontaneously and intermittently to potentially contaminated environments. Raza et al. (2018) reported that exposure of animals to public environments is a risk factor for the occurrence of infection, while Kopp et al. (2007) highlighted the importance of care when dogs visit public places, considering that stray dogs can favor environmental contamination. However, the results of this study verified that dogs with controlled access to the street can present with infections. This fact reinforces the significance of responsible ownership by health authorities, veterinarians, and pet tutors, in promoting the overall health of animals, especially parasitic control, and in preventing infection among humans.

Rinaldi et al. (2006) evaluated the presence of canine feces and helminth eggs in public squares in Naples, Italy. In the evaluated samples, 16.9% (70/415) had a type of egg with zoonotic potential, especially those of *A. caninum*. In Pelotas, southern Brazil, a study was also carried out to assess environmental contamination, in which 62% (124/200) of the samples had some nematode eggs with zoonotic potential (Gallina et al. 2011). These studies corroborate the environmental contamination disseminated in these places, as well as the attention given by tutors for the removal and proper disposal of feces.

In relation to the inhabited environment, most of which were in an impermeable environment, had a negative result (12/14). Although a significant environmental contamination relationship was not verified ($p = 0.008$), it can be inferred that impermeable environments favor disinfection and, consequently, reduce the chances of dogs becoming infected and contaminating these environments. However, the odds ratio between dogs that live

in a waterproof environment and those that live in grass or earth environments, adjusted for the breed, presented a value of 0.15. Additionally, animals that have defined breeds and live in impermeable environments, presented 6.67 times lower chances of infection than non-defined breed dogs, who lived in environments with soil or grass. In addition, SRD dogs and those with a defined breed, adjusted for the environment, had a chance of infection 6.54 times that of defined breed dogs. Possibly, dogs that have defined breeds and live in waterproof environments receive greater care from their tutors, and environmental disinfection is more frequently performed. In addition, the viability of eggs in environments containing grass or soil may be higher due to humidity and temperature, which are more favorable in these microclimates, thereby promoting the viability of helminth eggs.

Although *D. caninum* eggs were not detected in the fecal samples, the prescription of antiparasitic collar use is relevant, considering the possibility that these animals are infected by ectoparasites or presenting themselves as reservoirs of *Leishmania* spp. Therefore, the frequency of treatment with antiparasitic collars for fleas is indirectly related to the prevention of leishmaniasis. In this study, the use of drugs to control fleas was performed in most animals with some frequency, with only 5.26% (2/38) being guardians who did not perform any type of treatment for ectoparasites. However, 34.21% (13/38) of the animals used an antiparasitic collar (Table 2). The low adherence to this method should be discussed with tutors, mainly by evaluating the risks and costs against the non-compliance to preventive measures in order to avoid exposure to ectoparasites, the vector of *Leishmania* spp., and mainly, to avoid this zoonosis (Dantas-Torres and Otranto 2014). Thus, the need for tutors to be aware of the importance of this prevention and control alternative is highlighted.

Further, it was observed that most animal guardians visited veterinary clinics one or more than three times a year, although it was found that animals that had access to veterinary consultations had egg excretion in feces. Through routine veterinary consultations, stool tests may be requested by the veterinarian to assess the need for anthelmintic treatment and avoid unnecessary treatment. Kopp et al. (2007) stated that complementary coproparasitological examinations are essential tools for the indirect diagnosis of canine gastrointestinal endoparasite infections.

Regarding the sharing of environment with other animals, most (29/38) of the dogs evaluated in this study cohabited with other pets, and most of them had helminth egg excretion (15/29 p-value 0.1056). The presence of other animals revealed a risk factor for the occurrence of environmental contamination, as well as the spread of infection to other animals. Furthermore, a greater density of animals in an environment and inadequate sanitation can provide greater accumulation of feces and increase the rate of environmental contamination. Additionally, the

presence of stray dogs that circulate in these environments can favor the excretion of contaminated feces, which may introduce new parasitic, favoring the genetic multiplicity of parasites (Traversa et al. 2014).

In relation to family income, it can be seen that animals from tutors who received three to five minimum wages had a higher prevalence of helminth infections than that of other income groups (Table 2). Although family income did not show a significant association ($p = 0.0292$), it is noteworthy that these economic conditions may have provided a greater number of antiparasitic treatments without coproparasitological evaluation and without veterinary assistance. This may have led to the failed adoption of antiparasitic protocols, including underdosing, overdosing, anthelmintic ineffectiveness, incorrect periodicity, inadequate action of species, and parasitic stages, among others.

Regarding tutors' variable education, it was observed that there was an influence of prophylactic methodologies on the occurrence of helminth infection (p -value 0.4856). Interestingly, dogs from tutors who had completed higher education or postgraduate studies had a higher occurrence of helminth egg excretion than those who had completed high school. However, Cabral Monica et al. (2021) evaluated the same variable and observed human infection by *Toxoplasma gondii* and *T. canis*. In this study, it was found that individuals who studied for less than 8 years were 1.64 times more likely to be exposed to *T. gondii*. This fact confirmed that higher education was related to the prevention of zoonotic diseases. In addition, the occurrence of *T. canis* infection was also associated with a lower level of education. Bath et al. (2010) inferred that the educational level of individuals was positively associated with knowledge of gastrointestinal parasites, as well as prophylactic measures. It is noteworthy that individuals with a higher level of education performed a greater number of antiparasitic treatments, resulting in pressure selection of multiresistant parasites, thereby favoring greater egg excretion and environmental contamination.

CONCLUSION

Populations of *A. caninum* resistant to pyrantel pamoate with praziquantel and fenbendazole were detected. In addition, the analysis of the questionnaire's database allowed the association of variables, with greater chances of infection in dogs that received treatment for endoparasites once a year, had access to the street in a controlled manner, cohabited in a grass or earth environment, were dogs of mixed breed, had access to veterinary appointments once a year, cohabited with animals in the same environment, and received feed or food. The results obtained reinforce the importance of performing coproparasitological examinations before and after the implementation of antiparasitic treatment. Likewise, the need for coproparasitological monitoring is emphasized

to ensure the effectiveness of the treatments performed, as well as to minimize the unnecessary exposure of animals to anthelmintics.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) and the National Council for Research and Development (CNPq), Brazil, for their financial support.

FOUNDATION

This work was supported by the National Research and Development Council (CNPq).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

- Alves MEM, Martins FDC, Bräunig P, et al (2018) Molecular detection of *Cryptosporidium* spp. and the occurrence of intestinal parasites in fecal samples of naturally infected dogs and cats. *Parasitol Res* 117:3033–3038. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5986-4>
- Bath JL, Eneh PN, Bakken AJ, et al (2010) The impact of perception and knowledge on the treatment and prevention of intestinal worms in the Manikganj district of Bangladesh. *Yale J Biol Med* 83:171–184
- Becker AC, Rohen M, Epe C, Schnieder T (2012) Prevalence of endoparasites in stray and fostered dogs and cats in Northern Germany. *Parasitol Res* 111:849–857. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-2909-7>
- Bourguinat C, Keller K, Bhan A, et al (2011) Macrocyclic lactone resistance in *Dirofilaria immitis*. *Vet Parasitol* 181:388–392. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.04.012>
- Bowman DD, Atkins CE (2009) Heartworm Biology, Treatment, and Control. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract* 39:1127–1158. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2009.06.003>
- Bowman DD, Mannella C (2011) Macrocyclic lactones and dirofilaria immitis microfilariae. *Top Companion Anim Med* 26:160–172. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2011.07.001>
- Cabral Monica T, Evers F, de Souza Lima Nino B, et al (2021) Socioeconomic factors associated with infection by *Toxoplasma gondii* and *Toxocara canis* in children. *Transbound Emerg Dis* 1–7. <https://doi.org/10.1111/tbed.14129>
- Campos DR, Oliveira LC, De Siqueira DF, et al (2016) Prevalence and risk factors associated with endoparasitosis of dogs and cats in Espírito Santo, Brazil. *Acta Parasitol* 61:544–548. <https://doi.org/10.1515/ap-2016-0072>
- Castro PDJ, Howell SB, Schaefer JJ, et al (2019) Multiple drug resistance in the canine hookworm *Ancylostoma caninum*: An emerging threat? *Parasites and Vectors* 12:1–15. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3828-6>
- Dantas-Torres F (2008) Canine vector-borne diseases in Brazil. *Parasites and Vectors* 1:1–17. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-1-25>

- Dantas-Torres F, Otranto D (2014) Dogs, cats, parasites, and humans in Brazil: Opening the black box. *Parasites and Vectors* 7:1–25. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-22>
- Dracx RM, Mozzer LR, Fujiwara RT, Lima W dos S (2014) Parasitological and hematological aspects of co-infection with *Angiostrongylus vasorum* and *Ancylostoma caninum* in dogs. *Vet Parasitol* 200:111–116. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.12.003>
- Epe C (2009) Intestinal Nematodes: Biology and Control. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract* 39:1091–1107. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2009.07.002>
- Gallina T, da Silva MAMP, de Castro LLD, et al (2011) Presence of eggs of *Toxocara* spp. and hookworms in a student environment in Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 20:176–177. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612011000200016>
- Gordon, H. M.; Whitlock H V. (1939) A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J. Counc. Sci. Ind.* 12:50–52
- Hoffman WA, Pons JA, Janer JL (1934) The sedimentation-concentration method in *Schistosomiasis mansoni*. *PR J Public Health Trop Med* 9:283–291
- Jesus AP, Holsback L, Selingardi MS, et al (2015) Efficacy of pyrantel pamoate and ivermectin for the treatment of canine nematodes. *Semin Agrar* 36:3731–3740. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n6p3731>
- Jimenez Castro PD, Mansour A, Charles S, et al (2020) Efficacy evaluation of anthelmintic products against an infection with the canine hookworm (*Ancylostoma caninum*) isolate Worthy 4.1F3P in dogs. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist* 13:22–27. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2020.04.003>
- Kitchen S, Ratnappan R, Han S, et al (2019) Isolation and characterization of a naturally occurring multidrug-resistant strain of the canine hookworm, *Ancylostoma caninum*. *Int J Parasitol* 49:397–406. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2018.12.004>
- Klimpel S, Heukelbach J, Pothmann D, Rückert S (2010) Gastrointestinal and ectoparasites from urban stray dogs in Fortaleza (Brazil): High infection risk for humans? *Parasitol Res* 107:713–719. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-1926-7>
- Klimpel S, Mehlhorn H, Heukelbach J, et al (2005) Field trial of the efficacy of a combination of imidacloprid and permethrin against *Tunga penetrans* (sand flea, jigger flea) in dogs in Brazil. *Parasitol Res* 97:113–119. <https://doi.org/10.1007/s00436-005-1454-z>
- Kopp SR, Coleman GT, McCarthy JS, Kotze AC (2008a) Application of in vitro anthelmintic sensitivity assays to canine parasitology: Detecting resistance to pyrantel in *Ancylostoma caninum*. 152:284–293. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.020>
- Kopp SR, Coleman GT, McCarthy JS, Kotze AC (2008b) Phenotypic characterization of two *Ancylostoma caninum* isolates with different susceptibilities to the anthelmintic pyrantel. *Antimicrob Agents Chemother* 52:3980–3986. <https://doi.org/10.1128/AAC.00523-08>
- Kopp SR, Kotze AC, McCarthy JS, Coleman GT (2007) High-level pyrantel resistance in the hookworm *Ancylostoma caninum*. *Vet Parasitol* 143:299–304. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.08.036>
- La Torre F, Di Cesare A, Simonato G, et al (2018) Prevalence of zoonotic helminths in Italian house dogs. *J Infect Dev Ctries* 12:666–672. <https://doi.org/10.3855/JIDC.9865>
- Lucio-Forster A, Liotta JL, Yaros JP, Briggs KR, Mohammed HO, Bowman DD (2012). Morphological Differentiation of Eggs of *Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma tubaeforme*, and *Ancylostoma braziliense*

- From Dogs and Cats in the United States. *J Parasitol* 98:1041-1044. <https://doi.org/10.1645/GE-2928.1>
- Macpherson CNL (2005) Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses. *Int J Parasitol* 35:1319–1331. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.06.004>
- McCarthy J, Moore TA (2000) Emerging helminth zoonoses. *Int J Parasitol* 30:1351–1359. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(00\)00122-3](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00122-3)
- Overgaauw PAM (1997) Aspects of *Toxocara* epidemiology: Toxocarosis in dogs and cats. *Crit Rev Microbiol* 23:233–251. <https://doi.org/10.3109/10408419709115138>
- Payne-Johnson M, Maitland TP, Sherington J, et al (2000) Efficacy of selamectin administered topically to pregnant and lactating female dogs in the treatment and prevention of adult roundworm (*Toxocara canis*) infections and flea (*Ctenocephalides felis felis*) infestations in the dams and their pups. *Vet Parasitol* 91:347–358. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00304-6](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00304-6)
- Pesavento PA, Murphy BG (2014) Common and Emerging Infectious Diseases in the Animal Shelter. *Vet Pathol* 51:478–491. <https://doi.org/10.1177/0300985813511129>
- Raza A, Rand J, Qamar AG, et al (2018) Gastrointestinal parasites in shelter dogs: Occurrence, pathology, treatment and risk to shelter workers. *Animals* 8:. <https://doi.org/10.3390/ani8070108>
- Reinemeyer CR (2016) Formulations and Clinical Uses of Pyrimidine Compounds in Domestic Animals. Elsevier Inc.
- Riggio F, Mannella R, Ariti G, Perrucci S (2013) Intestinal and lung parasites in owned dogs and cats from central Italy. *Vet Parasitol* 193:78–84. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.11.026>
- Rinaldi L, Biggeri A, Carbone S, et al (2006) Canine faecal contamination and parasitic risk in the city of Naples (southern Italy). *BMC Vet Res* 2:1–6. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-2-29>
- Robertson ID, Irwin PJ, Lymbery RCA, Thompson RCA (2000) The role of companion animals in the spread of zoonoses of parasitic origin. *Int J Parasitol* 30:1369–1377. <https://doi.org/10.20506/rst.10.3.571>
- Sager H, Moret CS, Grimm F, et al (2006) Coprological study on intestinal helminths in Swiss dogs: Temporal aspects of anthelmintic treatment. *Parasitol Res* 98:333–338. <https://doi.org/10.1007/s00436-005-0093-8>
- Schad GA (1994) Hookworms: Pets to humans. *Ann Intern Med* 120:434–435. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-120-5-199403010-00013>
- Schimmel A, Altreuther G, Schroeder I, et al (2009) Efficacy of emodepside plus praziquantel tablets (profender® tablets for dogs) against mature and immature adult *Ancylostoma caninum* and *Uncinaria stenocephala* infections in dogs. *Parasitol Res* 105:9–16. <https://doi.org/10.1007/s00436-009-1490-1>
- Tamponi C, Varcasia A, Pinna S, et al (2017) Endoparasites detected in faecal samples from dogs and cats referred for routine clinical visit in Sardinia, Italy. *Vet Parasitol Reg Stud Reports* 10:13–17. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2017.07.001>
- Thompson RCA, Hopkins RM, Homan WL (2000) Nomenclature and genetic groupings of *Giardia* infecting mammals. *Parasitol Today* 16:210–213. [https://doi.org/10.1016/S0169-4758\(99\)01624-5](https://doi.org/10.1016/S0169-4758(99)01624-5)
- Traversa D (2012) Pet roundworms and hookworms: A continuing need for global worming. *Parasites and Vectors* 5:1–19. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-91>
- Traversa D, Frangipane Di Regalbono A, Di Cesare A, et al (2014) Environmental contamination by canine geohelminths. *Parasites and Vectors* 7:1–9. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-67>
- Velho PENF, Faria AV, Cintra ML, et al (2003) Larva migrans: A case report and review. *Rev Inst Med Trop Sao*

Paulo 45:167–171. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652003000300010>

VICH GL19 effectiveness of anthelmintic: overall guidelines: specific recommendations for canines (June 2001).

<https://www.ema.europa.eu/en/vich-gl19-efficacy-anthelmintics-specific-recommendations-canines>.

Accessed 08 Nov 2021.

Willis HH (1921) A Simple Levitation Method for the Detection of Hookworm Ova. *Med J Aust* 2:375–376.

<https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1921.tb60654.x>

Table 1: Excretion of *Ancylostoma caninum* eggs per animal on each day of treatment and Fecal Egg Count

| | Reduction Test (FECRT) | | | |
|-----------|------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| | Day 0 | Day 7 (FECRT%) | Day 14 (FECRT%) | Day 21 (FECRT%) |
| Animal 1 | 150 | 0 (100%) | unvalued | unvalued |
| Animal 2 | 150 | 0 (100%) | unvalued | unvalued |
| Animal 3 | 300 | 0 (100%) | unvalued | unvalued |
| Animal 4 | 50 | 0 (100%) | unvalued | unvalued |
| Animal 5 | 750 | 0 (100%) | unvalued | unvalued |
| Animal 6 | 100 | 0 (100%) | unvalued | unvalued |
| Animal 7 | 100 | 50 (50%) | 200 (0%) | 0 (100%) |
| Animal 8 | 1700 | 100 (94,12%) | 0 (100%) | unvalued |
| Animal 9 | 950 | 0 (100%) | unvalued | unvalued |
| Animal 10 | 100 | 250 (0%) | 0 (100%) | unvalued |
| Animal 11 | 1000 | 0 (100%) | unvalued | unvalued |
| Animal 12 | 50 | 0 (100%) | unvalued | unvalued |
| Animal 13 | 350 | 0 (100%) | unvalued | unvalued |
| Animal 14 | 150 | 0 (100%) | unvalued | unvalued |
| Animal 15 | 450 | 100 (77,78%) | 0 (100%) | unvalued |
| Animal 16 | 150 | 0 (100%) | unvalued | unvalued |

Table 2: Frequency of analyzed variables according to the first day of analysis.

| VARIABLES | NEGATIVE | POSITIVE | <i>p-value</i> |
|--|-----------------|-----------------|-----------------------|
| Treatment for endoparasites | | | |
| 0 treatments per year | 0 | 0,00% | |
| 1 treatments per year | 15,79% (6/38) | 18,42% (7/38) | 0,4913 |
| 2 treatments per year | 18,42% (7/38) | 13,16% (5/38) | |
| 3 or more treatments a year | 23,68% (9/38) | 10,53% (4/38) | |
| Treatment for ectoparasites | | | |
| 0 treatments per year | 5,26% (2/38) | 0,00% | |
| 1 treatments per year | 5,26% (2/38) | 15,79% (6/38) | 0,0447* |
| 2 treatments per year | 18,42% (7/38) | 2,63% (1/38) | |
| 3 or more treatments a year | 28,95% (11/38) | 23,68% (9/38) | |
| Street access | | | |
| Controlled | 52,63% (20/38) | 36,84% (14/38) | 1 |
| Unimpeded | 5,26% (2/38) | 5,26% (2/38) | |
| Predominance of environment | | | |
| Lawn or earth | 26,32% (10/38) | 36,84% (14/38) | 0,008 |
| waterproofed | 31,58% (12/38) | 5,26% (2/38) | |
| Breed | | | |
| Defined breed | 42,11% (16/38) | 10,53% (4/38) | 0,0036* |
| No defined breed | 15,79% (6/38) | 31,58% (12/38) | |
| Use of antiparasitic collars | | | |
| No | 34,21% (13/38) | 31,58% (12/38) | 0,3074 |
| Yes | 23,68% (9/38) | 10,53% (4/38) | |
| Veterinary consultation frequencies | | | |
| 0 appointments per year | 5,26% (2/38) | 13,16% (5/38) | |
| 1 appointments per year | 39,47% (15/38) | 23,68% (9/38) | 0,3402 |
| 2 appointments per year | 5,26% (2/38) | 0,00 | |
| 3 or more appointments per year | 7,89% (3/38) | 5,26% (2/38) | |

Presence of other animals in the same environment

| | | | |
|--------------|----------------|----------------|--------|
| Sporadically | 2,63% (1/38) | 0,00 | |
| No | 18,42% (7/38) | 2,63% (1/38) | 0,1056 |
| Yes | 36,84% (14/38) | 39,47% (15/38) | |

Dog food profile

| | | | |
|-----------------|----------------|---------------|---------|
| Exclusive food | 10,53% (4/38) | 0,00 | |
| Scrap leftovers | 2,63% (1/38) | 0,00 | 0,0342* |
| Feed or food | 10,53% (4/38) | 23,68% (9/38) | |
| Just feed | 34,21% (13/38) | 18,42% (7/38) | |

Family income

| | | | |
|-----------------------------|----------------|---------------|---------|
| 1 to 3 minimum salary | 15,79% (6/38) | 0,00 | |
| 3 to 5 minimum salary | 26,32% (10/38) | 23,68% (9/38) | 0,0292* |
| 5 to 10 minimum salary | 15,79% (6/38) | 10,53% (4/38) | |
| More than 10 minimum salary | 0,00% | 7,89% (3/38) | |

Tutors' education

| | | | |
|-----------------------------|----------------|---------------|--------|
| Complete high school | 5,26% (2/38) | 0,00 | |
| Complete higher education | 28,95% (11/38) | 18,42% (7/38) | 0,4856 |
| Incomplete higher education | 2,63% (1/38) | 0,00 | |
| Postgraduate studies | 21,05% (8/38) | 23,68% (9/38) | |

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como resultado do presente estudo, utilizando as técnicas de Willis, Sedimentação Simples e McMaster, foi possível realizar a detecção de *Ancylostoma caninum* em amostras fecais de cães. Cabe salientar que este parasita possui potencial zoonótico, podendo ser considerado um problema de saúde pública.

Adicionalmente, verificou-se a eficácia de três fármacos comerciais para o tratamento de *A. caninum*, sendo Canex Composto® (pamoato de pirantel + praziquantel), Fenzol Pet® (fembendazol) e Milbemax C® (milbemicina oxima + praziquantel) os fármacos utilizados.

Diante disso, pode-se verificar a resistência ao pamoato de pirantel com praziquantel e fembendazol. Além disso, o banco de dados permitiu avaliar a associação de variáveis, sendo as maiores chances de infecção em cães que recebiam tratamento para endoparasitos uma vez ao ano, que tinham acesso à rua de forma controlada, que conviviam em ambiente de grama ou terra. Esses eram cães sem raça definida, tinham acesso a consultas veterinárias uma vez ao ano e recebiam ração ou comida como fonte alimentar.

Por fim, os resultados obtidos neste estudo também proporcionaram a divulgação da importância de realização de exames coproparasitológicos prévios e posteriores à prescrição de tratamentos antiparasitários, a fim de garantir-se a eficácia dos fármacos utilizados, bem como minimizar a exposições dos animais aos anti-helmínticos.

REFERÊNCIAS

BOWMAN, D. D. et al. Hookworms of dogs and cats as agents of cutaneous larva migrans. **Trends Parasitol.**, v. 26, n. 4, p. 162–167, Feb. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20189454/>>. Acesso em: 18 nov. 2021. DOI: 10.1016/j.pt.2010.01.005.

CASTRO, P. D. J. et al. Multiple drug resistance in hookworms infecting greyhound dogs in the USA. **Int. J. Parasitol.: Drugs Drug Resist.**, v. 17, p. 107-117, Set. 2021. Disponível em <https://www.researchgate.net/publication/354337520_Multiple_drug_resistance_in_hookworms_infecting_greyhound_dogs_in_the_USA>. Acesso em: 03 jan. 2022. DOI:10.1016/j.ijpddr.2021.08.005.

CASTRO, P. D. J. et al. Multiple drug resistance in the canine hookworm *Ancylostoma caninum*: an emerging threat? **Parasit. Vectors**, v. 12, p. 576, Dec 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31818311/>>. Acesso em: 15 dez. 2021. DOI:10.1186/s13071-019-3828-6.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Parasites – Zoonotic Hookworm (September 2019). Atlanta, GA: U.S. **Department of Health and Human Services**, Centers for Disease Control and Prevention. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/parasites/zoonotichookworm/biology.html>>.

CHOMEL, B. B.; SUN, B. Zoonoses in the bedroom. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 17, n. 2, p. 167-172, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3298380/>>. Acesso em: 20 dec. 2021. DOI: 10.3201/eid1702.101070.

COURTNEY, C. H.; ROBERSON, E. L. **Chemotherapy of parasitic diseases**. In: Adams, HR (ed). Veterinary pharmacology and therapeutics. Ames, IA: Iowa State University Press, 1995, pp 904-908.

CUPIT, P. M.; CUNNINGHAM, C. What is the mechanism of action of praziquantel and how might resistance strike? **Future Med. Chem.**, v. 7, p. 701-705, May. 2015. Disponível em: <<https://www.future-science.com/doi/10.4155/fmc.15.11>>. Acesso em: 15 jan. 2022. DOI: 10.4155/fmc.15.11.

CURY, M. C.; LIMA, W. S. Helminthos de cães e gatos. **Cad. Téc. Vet. Zootec.**, n. 39, p. 12-35, 2002.

E SILVA, L. M. et al. Differential diagnosis of dog hookworms based on PCR-RFLP from the ITS region of their rDNA. **Vet. Parasitol.**, v. 10, p. 373-7, Sep. 2006. Disponível em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16713096/>>. Acesso em: 10 jan. 2022. DOI: 10.1016/j.vetpar.2006.04.012.

FENG, X. P. et al. Study of the nematode putative GABA type-Areceptor subunits: evidence for modulation by ivermectin. **J. Neurochem.**, v. 83, p. 870-878, Nov. 2002. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12421359/>>. Acesso em: 15 jan. 2022. DOI: 10.1046/j.1471-4159.2002.01199.x.

FERREIRA, F. P. et al. Frequência de parasitas gastrointestinais em cães e gatos do município de Londrina, PR, com enfoque em saúde pública. **Semin. Cienc. Agrar.** v. 34, p. 3851-3858, Dec. 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/273985928_Frequencia_de_parasitas_gastrointestinais_em_caes_e_gatos_do_municipio_de_Londrina_PR_com_enfoque_em_saude_publica>. Acesso em: 22 fev. 2022. DOI: 10.5433/1679-0359.2013v34n6Supl2p3851.

GALLINA, T. et al. Presence of eggs of *Toxocara* spp. and hookworms in a student environment in Rio Grande do Sul, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 20, p. 176-177. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/51460851_Presence_of_eggs_of_Toxocara_spp_and_hookworms_in_a_student_environment_in_Rio_Grande_do_Sul_Brazil>. Acesso em: 22 fev. 2022. DOI: 10.1590/s1984-29612011000200016.

GORDON, H. M. C. L.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep feces. **J. Counc. Sci. Ind. Res.**, v. 12, p. 50-52, 1939.

GUIMARÃES, A. M. et al. Ovos de *Toxocara* sp. e larvas de *Ancylostoma* sp. em praça pública de Lavras, MG. **Rev. Saúde Pública.**, v. 39, p. 293- 295, Abr. 2005. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rsp/a/WgdLHvg6Q7fkjDJDZTjg8MH/?lang=pt>>. Acesso em: 10 jan. 2022. DOI:10.1590/S0034-89102005000200022.

HESS, L. B. et al. Combination anthelmintic treatment for persistent *Ancylostoma caninum* ova shedding in Greyhounds. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, v. 55, p. 160-166, Jun. 2019. Acesso em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30870603/DOI:10.5326/jaaha-ms-6904>>. Acesso em: 15 dec. 2021. DOI: 10.5326/JAAHA-MS-6904.

HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation-concentration method in *Schistosomiasis mansoni*. **Puerto Rico J. Publ. Health Trop. Med.**, v. 9, p. 283-298, 1934.

KITCHEN, S. et al. Isolation and characterization of a naturally occurring multidrug-resistant strain of the canine hookworm, *Ancylostoma caninum*. **Int. J. Parasitol.**, v. 49, p. 397-406,

Apr. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30771359/>>. Acesso em: 25 Jan. 2022. DOI:10.1016/j.ijpara.2018.12.004.

KOPP, S. R. et al. Application of in vitro anthelmintic sensitivity assays to canine parasitology: Detecting resistance to pyrantel in *Ancylostoma caninum*. **Vet. Parasitol.**, v. 152, p. 284–293, Apr. 2008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18242867/>>. Acesso em: 18 Jan. 2022. DOI:10.1016/j.vetpar.2007.12.020.

KWON, I. H. et al. A serologically diagnosed human case of cutaneous larva migrans caused by *Ancylostoma caninum*. **Korean J. Parasitol.**, v. 41, p. 233–237, Dec. 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2717515/>>. Acesso em: 18 Jan. 2022. DOI:10.3347/kjp.2003.41.4.233.

LACEY, E. Mode of action of benzimidazoles. **Parasitol. Today**, v. 6, p. 112-115, Apr. 1990. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15463312/>>. Acesso em 19 Jan. 2022. DOI: 10.1016/0169-4758(90)90227-u.

LUCIO-FORSTER A. et al. Morphological differentiation of eggs of *Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma tubaeforme*, and *Ancylostoma braziliense* from dogs and cats in the United States. **J. Parasitol.**, v. 98, p. 1041-1044, Oct. 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22394087/>>. Acesso em: 17 Jan. 2022. DOI:10.1645/GE-2928.1.

MACIAS, V. C. et al. Cutaneous Larva Migrans – a case report. **J. Port. Soc, Dermatol. Venereol.**, v. 71, p. 93-96, Jan. 2013. Disponível em: <<https://revista.spdv.com.pt/index.php/spdv/article/view/130>>. Acesso em 20 Jan. 2022. DOI: 10.29021/spdv.71.1.130.

MACIEL, J. S.; ESTEVES, R. G.; SOUZA, M. A. A. Prevalência de helmintos em areias de praças públicas do município de São Mateus, Espírito Santo, Brasil. **Nat. online**, v. 14, p. 15-22, Jun. 2016. Disponível em: <<http://naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/NOL20150806.pdf>>. Acesso em: 22 Fev. 2022.

NEMZEK, J. A. et al. Biology and Diseases of Dogs. **Lab. Animal Med.**, p. 511 – 554, Jul. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7149401/>>. Acesso em 20 Jan. 2022. DOI: 10.1016/B978-0-12-409527-4.00012-2.

NUNES, C. M. et al. Ocorrência de larva migrans na areia de áreas de lazer das escolas municipais de ensino infantil, Araçatuba, SP, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 34, p. 656-658, Dec. 2000. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rsp/a/6MR3dxSxnyjs6ZzTwdg3ZsN/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 18 Jan. 2022. DOI:10.1590/S0034-89102000000600015.

PALMER, C. S. et al. The veterinary and public health significance of hookworm in dogs and cats in Australia and the status of *A. ceylanicum*. **Vet. Parasitol.**, v. 145, p. 304–313, Apr. 2007. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17276602/>>. Acesso em: 10 Jan. 2022. DOI:10.1016/j.vetpar.2006.12.018.

PROVIC P. (1998) **Zoonotic hookworm infections (Ancylostomosis)**. In Zoonoses (1st edn)

(Palmer, et al., eds), pp. 803-822, Oxford Medical Publications.

PROVIC, P.; CROESE, J. Human enteric infection with *Ancylostoma caninum*: hookworms reappraised in the light of a “new” zoonosis. **Acta Trop.**, v. 62, p. 23–44, Sep. 1996. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8971276/>>. Acesso em: 10 Jan. 2022. DOI:10.1016/S0001-706X(96)00016-2.

QUADROS, R. M. et al. *Ancylostoma* spp. em cães de rua de Lages, Santa Catarina: variáveis epidemiológicas e coinfeção parasitária. **PUBVET, Londrina**, v. 8, Out. 2014. Disponível em: <<http://www.pubvet.com.br/uploads/6540acf9fa17b3033dd198a1403c3233.pdf>>. Acesso em: 05 Jan. 2022.

RIBEIRO, E. S. et al. Diagnosis of gastrointestinal parasites in cats: a comparison of different methodologies. **Acta Vet. Bras.**, v. 9, p. 381-385, 2015. Disponível em: <[https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/acta-veterinaria-brasilica/9-\(2015\)-4/diagnosis-of-gastrointestinal-parasites-in-cats-a-comparison-of-differ/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/acta-veterinaria-brasilica/9-(2015)-4/diagnosis-of-gastrointestinal-parasites-in-cats-a-comparison-of-differ/)>. Acesso em 05 jan. 2022.

SANTARÉM, V. A.; GIUFFRIDA, R.; ZANIN, G. A. Larva Migrans Cutânea: Ocorrência de Casos Humanos e Identificação de Larvas de *Ancylostoma* spp em Parque Público do Município de Taciba, São Paulo. **Ver. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 37, p. 179-181, Mar. 2004. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/6tNJm79b5ML94RycS3Csfhc/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 11 Jan. 2022. DOI:10.1590/S0037-86822004000200014.

SHORT, C. R.; FLORY, W.; HSIEH, L C.; BARKER, S. A. The oxidative metabolism of fenbendazole: a comparative study. **J. Vet. Pharmacol. Ther.**, v. 11, p. 50-55, Mar. 1998. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3379664/>>. Acesso em: 12 Jan. 2022. DOI:10.1111/j.1365-2885.1988.tb00120.x.

SILVA, H. C. et al. Fauna helmíntica de cães e gatos provenientes de alguns municípios do Estado de São Paulo. **Semin Cienc Agrar**, v. 22, p. 67-71, Jun. 2001. Disponível em: <[https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/semina-ciencias-agrarias/22-\(2001\)-1/fauna-helmintica-de-caes-e-gatos-provenientes-de-alguns-municipios-do-/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/semina-ciencias-agrarias/22-(2001)-1/fauna-helmintica-de-caes-e-gatos-provenientes-de-alguns-municipios-do-/)>. Acesso em: 15 Jan. 2022. DOI:10.5433/1679-0359.2001V22N1P67.

WILLIS, H. H. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. **Med. J. Australia**, v. 8, p. 375-376, Oct. 1921. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.5694/j.1326-5377.1921.tb60654.x>>. Acesso em: 05 Jan. 2022.

XIAO, S. H.; MEI, J. Y.; JIAO, P. Y. The in vitro effect of mefloquine and praziquantel against juvenile and adult *Schistosoma japonicum*. **Parasitol. Res.** v. 106, p. 237-246, Dec. 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19851783/>>. Acesso em: 08 Jan. 2022. DOI: 10.1007/s00436-009-1656-x.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 – Questionário epidemiológico aplicado aos tutores

Formulário de pesquisa

Olá,

Venho através deste formulário solicitar algumas informações referente as amostras dos animais que foram doadores das fezes para esta pesquisa. Este formulário deverá ser preenchido para um único animal. Se foram coletadas fezes de mais de um animal na mesma residência, deverá ser enviado a resposta em dois momentos distintos.

*Obrigatório

1. Nome do tutor *

2. Endereço da residência * 0 pontos

3. Qual a raça do seu cachorro? *

Marcar apenas uma oval.

SRD (sem raça definida)

Buldogue Francês

Buldogue Inglês

Labrador

Pinscher

Outro:

4. Qual o tipo de alimentação que o cachorro recebe? *

Marcar apenas uma oval.

- Somente Ração
- Somente comida (arroz+carne) feita exclusivamente para ele
- Somente comida (sobras das refeições realizadas na residência)
- Ração ou comida (sobras das refeições realizadas na residência)

5. Com relação ao acesso à rua: *

Marcar apenas uma oval.

- Cão sem acesso à rua (não realiza passeios)
- Cão com acesso à rua (passeios/acesso a rua controlado)
- Cão com acesso à rua (de forma livre)

6. Qual a frequência de tratamentos para pulgas (pó, comprimidos, injetável, spot on) *

Marcar apenas uma oval.

- 1 vez ao ano ou menos
- 2 vezes ao ano
- 3 vezes ao ano ou mais
- não realiza

7. Se realiza tratamento para pulgas, responda qual o nome do medicamento mais utilizado nos últimos tratamentos

8. Qual a frequência de tratamentos para vermes (injetável, comprimidos) *

Marcar apenas uma oval.

- 1 vez ao ano ou menos
- 2 vezes ao ano
- 3 vezes ao ano ou mais
- não realiza

9. Se realiza tratamento para vermes, responda qual o nome do medicamento mais utilizado nos últimos tratamentos

10. Qual o ambiente em que o animal passa a maior parte do tempo? *

Marcar apenas uma oval.

- Ambiente impermeabilizado
 Ambiente de grama/terra

11. Escolaridade do indivíduo que mais estudou na família? *

Marcar apenas uma oval.

- Ensino fundamental incompleto
 Ensino fundamental completo
 Ensino médio incompleto
 Ensino médio completo
 Ensino superior incompleto
 Ensino superior completo
 Pós-Graduação

12. Qual a renda mensal familiar? *

Marcar apenas uma oval.

- Até um salário mínimo
 De 1 a 3 salários mínimos
 De 3 a 5 salários mínimos
 De 5 a 10 salários mínimos
 Acima de 10 salários mínimos

13. Presença de outros animais no mesmo ambiente

Marcar apenas uma oval.

- Há presença de outros animais no mesmo ambiente
 Não há presença de outros animais no mesmo ambiente

14. Se houver mais algum animal, quantos?
-

15. O animal possui alguma doença prévia, como Parvovirose por exemplo.

-
16. O cachorro usa coleira antiparasitária

Marcar apenas uma oval.

sim

não

17. Qual a frequência que o animal é avaliado por médico veterinário

Marcar apenas uma oval.

1 vez ao ano ou menos

2 vezes ao ano

3 vezes ao ano

nenhuma vez

Este conteúdo não foi criado nem aprovado pelo Google.

Google Formulários