

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA

DISSERTAÇÃO

COMPARAÇÃO ENTRE DUAS TÉCNICAS COPROLÓGICAS PARA O
DIAGNÓSTICO DE HABRONEMOSE GÁSTRICA DOS EQUÍDEOS

MARILENE ÁLVARES

2001



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

**COMPARAÇÃO ENTRE DUAS TÉCNICAS COPROLÓGICAS PARA O
DIAGNÓSTICO DE HABRONEMOSE GÁSTRICA DOS EQUÍDEOS**

MARILENE ÁLVARES

Sob a Orientação do Professor

Dr. Fábio Barbour Scott

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

Seropédica, RJ
2001

636.1089633

A473c

T

Álvares, Marilene, 1975-

Comparação entre duas técnicas coprológicas para o diagnóstico de habronemose gástrica dos eqüídeos/ Marilene Álvares. - 2010.

47f. : il.

Orientação: Fábio Barbour Scott.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

Bibliografia: f. 28-35.

1. Eqüideo - Parasito- Teses. 2. Estômago - Doenças - Diagnóstico - Teses. 3. Mosca como transmissora de doenças - Teses. 4. Habronema - Teses. I. Scott, Fábio Barbour. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

MARILENE ÁLVARES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM __/__/____.

Fábio Barbour Scott (Ph.D) - UFRRJ

Maria de Lurdes de A. Rodrigues (Ph.D) - UFRRJ

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

*Ao maior, ao meu pai **Oxalá**, aos meus **orixás**
e **guias** protetores pela luz e Inspiração
recebidas, eu agradeço*

*Aos meus pais, **Orlando e Nilza**, e minha irmã,
Elaine que me apoiaram e me compreenderam
deixo aqui a minha gratidão.*

*Ao meu amor, **Marcus Vinícius**, pela paz
e felicidade provocados pela sua presença...*

Minha gratidão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao professor FÁBIO BABOUR SCOTT, pelo voto de confiança e por me mostrar que o melhor aprendizado quem nos dá é a vida.

A amiga VALÉRIA DA SILVA CARNEIRO, por sua incansável paciência e alegria contagiante.

Ao colega e incentivador SÁVIO AMADO DA SILVA, pela orientação e dedicação, sem a qual esse trabalho não poderia ser realizado.

Ao professor JOSÉ LUIS F. LUQUE ALEJOS, pela co-orientação e pelo estímulo ao conhecimento e prática da parasitologia veterinária.

Ao engenheiro civil MARCOS VINÍCIUS DE CARVALHO, pelo apoio na elaboração da parte estatística deste trabalho.

Aos laboratoristas IVAN, JOSEMAR, ADILSON e CLAUDIO, pelo apoio técnico e amizade dedicada.

Aos amigos ELIANE, THAÍS, CLARISSA, HELCILÉIA, PATRÍCIA, GABRIELA, CLAYTON, FLÁVIO, JÚLIO, EDUARDO, ISABELLA, MICHELE e IAN, que me ajudaram de alguma forma nesses dois anos.

Aos amigos EDSON, RICARDO, MIGUEL, KLEBER, CATARINA e FELIPE, pelo companheirismo e alegria demonstrados.

A CAPES, pelo apoio financeiro.

BIOGRAFIA

MARILENE ÁLVARES, nascida em primeiro de março de 1975, natural do Rio de Janeiro, filha de Orlando Álvares e Nilza de Azevedo Pinto, concluiu o segundo grau no Instituto Guanabara em 1993.

Aprovada no concurso de vestibular para o curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, realizado em janeiro de 1994. Durante o curso de graduação foi monitora da disciplina de Virologia Veterinária. Foi estagiária no Departamento de Parasitologia Animal em 1996, sob a orientação do Professor Fábio Barbour Scott e tendo colado grau em maio de 1999. No mesmo ano ingressou no curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária – Parasitologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no nível de mestrado, como bolsista da CAPES.

RESUMO

ÁLVARES, Marilene. Projeto “Comparação entre duas técnicas coprológicas para o diagnóstico de habronemose gástrica dos eqüídeos.” 2001. 35 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Instituto de veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2001.

A biologia das Habronematíneos e suas patogenias já foi bem estudada. No entanto, nenhuma técnica coproscópica eficiente foi desenvolvida e rotineiramente testada para o diagnóstico da habronemose gástrica em eqüídeos. Foi proposta a comparação de duas técnicas: a técnica de UENO (1968) e UENO & GUTIERRES (1983) modificada e a técnica do xenodiagnóstico. Na técnica de Ueno (modificada) para recuperação da larva de primeiro estágio, foi utilizado amostras contendo 3g e 5g de fezes, com três repartições para cada amostra de fezes. De cada amostra foi retirado 0,3 ml de sedimento, dividindo em três lâminas sendo levado ao microscópio ótico para contagem do número de larvas de *Habronema* spp. ou *Drashia megastoma*. Para o xenodiagnóstico, larvas de *Musca domestica* e *Stomoxys calcitrans* (Muscidae: Diptera) foram inoculadas nas fezes dos eqüídeos e mantidos em laboratório. Os muscídeos adultos foram dissecados e as formas de terceiro estágio dos nematóides recuperados e contados. Os nematóides adultos foram coletados do estômago de 35 eqüídeos, fixados em AFA e conservados em álcool a 70%, para posterior identificação. A análise comparativa foi baseada na regressão linear. A comparação dos índices de determinação indicaram não haver diferença significativa na recuperação de larvas na técnica de Ueno (modificada), com os dois diferentes pesos de amostras de fezes e a técnica do xenodiagnóstico. A técnica de Ueno (modificada) utilizando 3g e 5g de fezes obteve o mesmo índice de determinação 73%. A análise do teste *t* demonstrou não existir diferença significativa entre as três lâminas na leitura da técnica de sedimentação. Enquanto a técnica do xenodiagnóstico obteve o índice de determinação de 79,1% quando utilizado apenas *M. domestica* para realização desta, e as duas espécies de fêmeas de *Habronema* spp. e o índice de determinação de 81,3% quando utilizado *M. domestica* e fêmeas de *Habronema muscae* como base da regressão linear.

Palavras-chave: habronemose, diagnóstico laboratorial, parasitas.

ABSTRACT

ÁLVARES, Marilene. **Project “Comparison between two coprological tools for the diagnosis of gastric habronemiasis in horses.”** Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2001.

The habronematids biology and their pathogenies have already been well studied. But not an efficient technique has been developed, or periodically tested for the diagnosis of the gastric habronemiasis in equidae. Has been proposed the comparison of two techniques: the UENO (1986) technique and UENO & GUTIERRES (1983), modified and the xenodiagnostic technique. On the Ueno (modified) technique to recuperate first stage larvae, has been used fecal examples of 3g and 5g, with 3 repetitions for each. From each example has been taken 0,3 ml of the sediment, divided in three microscope slides and then the slides were observed through the light microscope for counting the larvae number of *Habronema* spp. or *Drashia megastoma*. To the xenodiagnostic, larvae of *Musca domestica* and *Stomoxys calcitrans* (Muscidae: Diptera) were inoculated in the equidae feces and then were kept in the laboratory. The adults muscoids were dissected and the third stage larvae of the nematodes were saved and counted. The adults nematodes were collected from the stomach of 35 equidae then fixed in AFA and preserved in alcohol 70% for later identification. The comparative analysis were based on the linear correlation. The comparison of the determination rates indicated that there weren't significant difference on the recuperation of larvae on the Ueno (modified) technique, with the two different examples weights and the xenodiagnostic technique. The Ueno (modified) technique utilizing 3g and 5g of feces had the same index of determination, 73%. The test *t* analysis showed no significant difference between the three slides on the Ueno technique observation. While the xenodiagnostic technique got a determination rate of 79,1%, when utilizing only *M. domestica* and the two species of females of *Habronema* spp. And the determination index of 81,3% when utilizing *M. domestica* and females of *Habronema muscae* based on the linear correlation.

Key Words: habronemiasis, laboratorial diagnosis, parasites.

LISTA DE TABELAS

| | Pags. |
|--|-------|
| TABELA 1. Dados referentes ao número de larvas recuperadas de <i>Habronema</i> spp. e <i>D. megastoma</i> pelas técnicas de Ueno (modificada) e xenodiagnóstico, e também, da recuperação de fêmeas de Habronematíneos a necropsia..... | 18 |
| TABELA 2. Média das três lâminas obtidas das repetições da técnica de Ueno (modificada) utilizando 3g..... | 23 |
| TABELA 3. Médias das três lâminas obtidas das repetições da técnica de Ueno (modificada) utilizando 5g..... | 24 |

LISTA DE FIGURAS

| | Págs. |
|--|-------|
| FIGURA 1. Regressão linear entre o número médio de larvas recuperadas pela técnica de Ueno 3g e o número de fêmeas de Habronematíneos recuperados em necropsias de eqüídeos..... | 21 |
| FIGURA 2. Regressão linear entre o número médio de larvas recuperadas pela técnica de Ueno 5g e o número de fêmeas de Habronematíneos recuperados em necropsias de eqüídeos..... | 21 |
| FIGURA 3. Regressão linear entre a intensidade média de infecção do muscídeo (<i>M. domestica</i>) e o número de fêmeas de Habronematíneos recuperados em necropsias de eqüídeos (<i>H. muscae</i> e <i>H. microstoma</i>)..... | 25 |
| FIGURA 4. Regressão linear entre a intensidade média de infecção do muscídeo (<i>M. domestica</i>) e o número de fêmeas de <i>H. Muscae</i> recuperados em necropsias de eqüídeos..... | 26 |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| INTRODUÇÃO | 1 |
| 1 REVISÃO DE LITERATURA | 3 |
| 1.1 Posição taxonômica..... | 3 |
| 1.2 Distribuição geográfica..... | 3 |
| 1.3 Ciclo biológico..... | 4 |
| 1.4 Morfologia dos Habronematinae..... | 5 |
| 1.5 Alterações gástricas causadas por Habronematinae..... | 6 |
| 1.6 Diagnóstico..... | 8 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS | 10 |
| 2.1 Animais utilizados..... | 10 |
| 2.2 Local do experimento..... | 10 |
| 2.3 Técnicas coprológicas..... | 10 |
| 2.3.1 Formação de colônia de <i>Stomoxys calcitrans</i> | 10 |
| 2.3.1.1 Procedência dos dípteros..... | 10 |
| 2.3.1.2 Manutenção da colônia..... | 11 |
| 2.3.1.3 Obtenção de ovos..... | 11 |
| 2.3.1.4 Obtenção de larvas..... | 11 |
| 2.3.2 Formação da colônia de <i>Musca domestica</i> | 11 |
| 2.3.2.1 Procedência de dípteros..... | 11 |
| 2.3.2.2 Manutenção da colônia..... | 12 |
| 2.3.2.3 Obtenção de ovos e larvas..... | 12 |
| 2.3.3 Técnica de xenodiagnóstico..... | 12 |
| 2.3.4 Técnica de UENO (modificada)..... | 13 |
| 2.4 Coleta das formas adultas de <i>Habronema spp.</i> e <i>D. megastoma</i> | 13 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 16 |
| 3.1 Comparação entre duas técnicas coprológicas para o diagnóstico de habronemose gástrica causada por <i>Habronema spp.</i> e <i>D. megastoma</i> | 16 |
| 4 CONCLUSÕES | 27 |
| 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 28 |

INTRODUÇÃO

Entre os animais domésticos, os eqüídeos são hospedeiros de várias espécies de nematóides gastrointestinais (LICHTENFELS, 1975); alguns causadores de lesões leves nas mucosas gástrica ou intestinal, outros muito patogênicos. No estômago dos eqüídeos três espécies de Habronematíneos e uma espécie da Família Trichostrongylidae são responsáveis por casos de lesão gástrica e má absorção de alimentos.

Musca domestica Linnaeus, 1758 e *Stomoxys calcitrans* Geoffroy, 1762 (Diptera: Muscidae) respectivamente, são hospedeiros intermediários de *Habronema muscae* Carter, 1861 (Diesing, 1861), *Habronema megastoma* Rudolphi, 1819 e *Habronema majus* Ransom, 1911. O desenvolvimento larvar destes nematóides ocorre no interior destes muscídeos (RANSOM, 1913; HILL, 1918). As larvas de terceiro estágio desses nematóides são infectantes para eqüídeos e quando ingeridas completam o desenvolvimento no estômago desses animais (BULL, 1919).

Além da lesão gástrica provocada pela forma adulta dos Habronematíneos, a forma larvar destes nematóides provoca peribronquite nodular, lesões cutâneas nos membros, também conhecidas como “ferida de verão” ou “esponja” e conjuntivite parasitária, quando depositadas em ferimentos da pele ou nos olhos dos eqüídeos. Ambas as patogenias são conseqüências da migração errática de sua forma larvar descritas por MELLO & CUOCOLO (1943a).

Apesar da habronemose gástrica ser uma doença subclínica, a importância de diagnosticar o nematóide adulto no estômago persiste. Devido ao fato de animais portadores de habronemose gástrica terem possibilidade de desenvolver as outras formas da doença ou ainda serem o reservatório. Pois estes animais podem vir a contaminar pastagens com a forma larvar de *Habronema sp.* eliminada junto com as fezes (PAIVA, 1988).

O método adotado para diagnosticar em laboratório a forma imatura nas fezes sempre foi motivo de discordância entre os autores, conforme relatado por PAIVA (1988). A dificuldade de se elaborar uma técnica de diagnóstico para habronemose gástrica é explicada pelo ciclo biológico deste nematóide. A técnica de diagnóstico coprológico mais usada para habronemose gástrica foi a do xenodiagnóstico, mesmo sendo muito trabalhosa, requerendo manutenção da colônia de muscídeos em laboratório e certo grau de treino para a sua execução (PAIVA, 1988). Esta técnica foi modificada por alguns autores no decorrer dos anos, mas a modificação feita por AMADO (1997) simplificou e viabilizou o uso do xenodiagnóstico.

PAIVA (1988) propôs o uso da técnica de sedimentação de Baermann modificada por UENO (1968) e UENO & GUTIERRES (1983) para diagnosticar larvas de *Habronema* spp. nas fezes de eqüídeos, com a finalidade de definir uma técnica mais simples para o diagnóstico da habronemose gástrica.

O presente estudo teve como objetivo avaliar duas técnicas comparativamente visando a eficácia do diagnóstico da habronemose gástrica em eqüídeos, Ueno (modificada) e xenodiagnóstico.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Posição taxonômica

Os nematóides *Habronema* spp. e *Draschia megastoma* (Rudolphi, 1819) provenientes da Ordem Spirurida, Subordem Spirurina, Família Spiruridae, Subfamília Habronematinae e causam duas formas de habronemose: cutânea e gástrica. Existem duas espécies de *Habronema* que parasitam eqüídeos domésticos. *Habronema muscae* Diesing, 1861 e *Habronema microstoma* (Schneider, 1866), entretanto os taxonomistas mais recentes consideram essa espécie como *Habronema majus* (Creplin, 1849) Ransom, 1911.

1.2 Distribuição geográfica

Os Habronematíneos têm ampla distribuição geográfica. No Brasil, há relatos da presença de *Habronema* spp. e de *D. megastoma* na Bahia (PINTO & ALMEIDA, 1945), Goiás (CARNEIRO *et al.*, 1980), Mato Grosso (COSTA *et al.*, 1986), Mato Grosso do Sul (PAIVA, 1988), Minas Gerais (FREITAS, 1957), Paraná (GIOVANNONI & KUBIAK, 1947), Rio Grande do Sul (COSTA *et al.*, 1986), Pernambuco (FERNANDES & TRAVASSOS, 1976), Rio de Janeiro (DUARTE, 1981) e São Paulo (COSTA *et al.*, 1986).

O estudo da prevalência desses nematóides gastrointestinais de eqüídeos foi bem descrito nos Estados Unidos da América (WADDEL, 1969; LYONS *et al.*, 1983; REINEMEYER *et al.*, 1984; TOLLIVER *et al.*, 1987; MFITILODZE & HUCHINSON, 1989). Foram realizados estudos no Panamá, Chile, Venezuela, México, Brasil, Argentina e Costa Rica (FOSTER, 1936; DIAZ-UNGRIA, 1979; ALCAÍNO *et al.*, 1980; ALFARO, 1982; COSTA, 1986).

Na Europa e Ásia há relatos sobre ocorrência de *Habronema* sp. na Itália, Alemanha, Suécia, Polônia, França e na antiga U.R.S.S. (ROUBAUD & DESCAZEUX, 1922a,b;

IVASHKIN *et al.*, 1984; BAUER, 1986; GAWOR, 1995; CIRAK *et al.*, 1997; RICCI & SABATINI, 1992).

No continente Africano e na Oceania os Habronematíneos foram encontrados em Marrocos, Austrália, Índia, Zâmbia e África do Sul (GAUR & REDDY, 1978; SHAMSUL, 1985; KRECEK, 1989; PANDEY & CABARET, 1993; BUCKELL *et al.*, 1995)

1.3 Ciclo biológico

CARTER (1861) descreveu um nematóide encontrado na dissecação de um muscídeo. Pela primeira vez se estabeleceu a participação de um hospedeiro intermediário no ciclo biológico de *H. muscae*.

RANSOM (1911) e HILL (1918) descrevem o ciclo de *H. muscae*; enquanto HILL (1918); BULL (1919) e ROUBAUD & DESCAZEAUX (1922a) descrevem o ciclo de *H. microstoma* e *D. megastoma*.

RANSOM (1911, 1913), descreveu o ciclo de *H. muscae* relacionando este nematóide gastrointestinal a um hospedeiro intermediário, o muscídeo *M. domestica*.

O ciclo de *H. muscae* com seis estágios larvares, estes encontrados em *M. domestica*, e o adulto se localizando no estômago dos equídeos onde produz embriões que alcançam o exterior junto com as fezes, é descrito por RANSOM (1913) e confirmado por BULL (1919). Estudos mais completos foram feitos por HILL (1918) descrevendo todo o ciclo biológico de *H. muscae*, *H. microstoma* e *D. megastoma* baseando-se na nomenclatura anteriormente estabelecida por RANSOM (1913).

A definição de 3 estágios larvares desses nematóides enquanto presentes no interior dos muscídeos foi descrito alguns anos mais tarde por ROUBAUD & DESCAZEAUX (1921, 1922b), contrariando assim os 6 estágios larvares descritos por RANSOM (1913).

Em relação aos hospedeiros intermediários, vários estudos relatam a especificidade destes helmintos. As larvas de *H. muscae* e *D. megastoma* se desenvolvem em *M. domestica* e de *H. microstoma* em *S. calcitrans* (JOHNSTON & BANCROFT, 1920; MELLO & CUOCOLO, 1943a,b) elucidam a susceptibilidade das larvas dos muscídeos a infecção passiva com larvas de *H. muscae*, principalmente no 2° e 3° dias de vida larvar destes muscídeos.

O ciclo biológico de *H. muscae*, *H. microstoma* e *D. megastoma* é descrito por ROUBAUD & DESCAZEUX (1922a,b), baseando-se em RANSOM (1913) e HILL(1918), ocorrendo da seguinte forma: os embriões do nematóide saem junto com as fezes dos eqüídeos, uma vez no exterior estes embriões são capturados por larvas *M. domestica* ou *S. calcitrans*. Dentro do muscídeo ocorre o desenvolvimento larvar do nematóide até o terceiro estágio larvar. Nesta fase a larva do helminto migra para a cabeça do muscídeo.

Os autores concluíram que a infecção do hospedeiro definitivo ocorria através da ingestão natural do muscídeo ou do escape da forma larvar deste helminto no momento que os dípteros freqüentam a região peri-oral, peri-nasal ou feridas (HILL, 1918; ROUBAUD & DESCAZEUX, 1922; SILKIN, 1956).

Após a ingestão das larvas de 3° estágio dos Habronematíneos pelos eqüídeos, estas atingem o estômago fazendo ecdises até a forma adulta (HILL, 1918).

1.4 Morfologia dos Habronematinae

A definição e caracterização da forma morfológica do embrião, eliminada pelas fêmeas dos nematóides junto às fezes dos eqüídeos, foi descrita por PAIVA (1988): uma larva alongada revestida por uma fina membrana, contrariando autores que considera a forma do embrião como o ovo (DESCAZEUX & MOREL, 1933b; PIRES, 1938; DRUDGE, 1956; SILKIN, 1956; MARBAK, 1963 e 1975; WADDEL, 1969; LICHTENFELS, 1975; GEORGI, 1980).

Quanto ao desenvolvimento larvar dos Habronematíneos, foi esclarecido que o segundo estágio larvar não demonstra características distintas do primeiro estágio larvar. No terceiro estágio larvar se dá o início da evolução, as larvas apresentam esôfago, cápsula bucal e intestino. O quarto estágio larvar (L4) se apresenta mais robusto que o estágio anterior, mas ainda não possui aparelho reprodutor. A cutícula rudimentar e o aparelho reprodutor imaturo são encontrados na forma jovem, este, apresenta grande semelhança com a forma adulta. Estas duas últimas formas são encontradas no estômago dos equídeos (PAIVA, 1988).

A forma adulta de *H. muscae* e *H. microstoma* têm a cápsula bucal semelhantes, tendo uma grande diferença na forma do aparelho genital tanto os machos quanto as fêmeas. A fêmea de *H. muscae* possui a vulva alongada e delgada cortando dorsolateralmente próximo à metade do corpo desse nematóide. Enquanto que a fêmea de *H. microstoma* possui a vulva mais robusta numa forma oval que se localiza no terço médio do corpo desse nematóide. O macho de *H. muscae* se diferencia do macho de *H. microstoma* por possuir um par de espículos um sendo delgado e longo e o outro menos delgado e mais curto, enquanto o macho de *H. microstoma* possui um par de espículos ambos curtos de tamanhos diferentes e menos delgados do que os espículos de *H. muscae* (RANSOM, 1913).

A forma adulta de *D megastoma* apresenta a cápsula bem distinta das espécies de *Habronema* spp., onde esta possui as paredes laterais mais inclinadas e robustas (RANSOM, 1913).

1.5 Alterações gástricas causadas por Habronematinae

Os Habronematíneos são nematóides heteróxeos, tendo como hospedeiro intermediário muscídeos coprófagos cosmopolitas. Possibilitando a ampla disseminação das larvas infectantes desses nematóides.

Os nematóides podem causar cólicas, queda de pêlo, depressão do apetite e debilidade (MARBACH, 1963 e 1975). Em casos de grandes infecções JESUS (1963) constatou mortes por gastrite aguda provocadas por *H. muscae*.

A gastrite difusa, gastrite ulcerativa e os nódulos granulomatosos são alterações anatomopatológicas freqüentemente encontradas no estômago dos eqüídeos. Tendo sua apresentação em função da espécie de habronematíneo envolvida.

Habronema muscae e *H. microstoma* vivem sobre a mucosa gástrica, provocando gastrite catarral com secreção de muco, no caso de altas infecções. *Habronema muscae* nestes casos viabiliza hemorragias e úlceras (REDDY *et al.*, 1976; ARUNDEL, 1985).

Nódulos adenomatosos na mucosa gástrica é conseqüência da penetração das formas infectantes de *D. megastoma* (MELLO & CUOCOLO, 1943a). REDDY *et al.* (1976) descreveram lesões provocadas por *D. megastoma* no fígado, rins, baço, linfonodos mesentéricos e estômago. SALLES & JANSEN (1945) também descrevem nódulos, às vezes calcificados, no fígado e no intestino em eqüídeos portadores de habronemose cutânea, lesões sugestivas de localização errática de *Habronema* sp. ou *D. megastoma*.

A “ferida de verão”, “dermite granulosa” ou “esponja” são nomes dados a uma lesão cutânea provocada por larvas de Habronematíneos na pele caracterizada por lesões do tipo granulomatosa ulcerativa com focos de necrose coagulativa, como relatada originalmente por BOULEY (1850).

A habronemose cutânea tem sua ocorrência relacionada a três fatores: a predisposição do hospedeiro, a presença de ferimento na pele do animal e ao número de larvas colocadas na ferida, suficiente para iniciar lesão na pele (PEREIRA & MELLO, 1948).

MELLO & CUOCOLO (1943a) descrevem a peribronquite nodular e a conjuntivite parasitária como conseqüência da localização errática de formas imaturas de *Habronema* sp.

Os mesmos autores comentam a dificuldade encontrada em se tratar a habronemose cutânea, sendo a doença mais grave provocada por esses nematóides.

1.6 Diagnóstico

A dificuldade do diagnóstico da habronemose gástrica dos eqüídeos é uma constante nas poucas publicações sobre esse assunto.

Tentativas frustradas de diagnóstico ocorriam devido à divergência na definição do embrião eliminado junto às fezes dos eqüídeos. Primeiramente sendo considerado o embrião como o ovo, DRUDGE (1956) utilizou fezes de eqüídeos parasitados por *Habronema* sp. com alto nível de infecção, a técnica de flutuação. Posteriormente REBHUN *et al.*, (1981) justificaram o fracasso dos autores anteriores.

A impossibilidade de recuperação das larvas de *Habronema* spp. nas fezes de eqüídeos foi relatada por PALLAREZ *et al.*, 1971; GEORGI, 1980.

DESCAZEUX & MOREL (1933) propuseram o uso da técnica do xenodiagnóstico para diagnóstico da habronemose gástrica. A técnica consistia na repetição do ciclo evolutivo do hospedeiro intermediário, realizado em laboratório, obtendo as larvas de 3º estágio dos Habronematíneos pela dissecação do muscídeo adulto. Modificações com a finalidade de simplificar e viabilizar esta técnica foram propostas por MELLO & CUOCOLO (1943a); MARTINS & FREITAS (1949); AMADO (1997).

OLIVEIRA *et al.*, (1988) compararam as técnicas de Willis, centrifugação Água-Éter e sedimentação por Baermann, para diagnóstico de habronemose gástrica. Apenas a sedimentação e Baermann foi considerada adequada à pesquisa de *Habronema* sp.

A técnica de UENO & GUTIERRES (1983) testada por PAIVA (1988) em Mato Grosso do Sul, demonstrou uma boa eficiência, 76,5% em 17 animais estudados. Neste estudo, houve

correlação de larvas de 1º estágio recuperadas através da técnica, com o número de fêmeas recuperadas no estômago dos equídeos após as necropsias.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Animais utilizados

Foram utilizados 35 eqüídeos, com idade variável entre 2 e 13 anos (idade estimada com base na dentição), sem raça definida, portadores da infecção parasitária naturalmente adquirida. Todos os animais foram provenientes de áreas da Região Metropolitana do Rio de Janeiro, oriundos e apreensão. Os animais foram doados pelo curral de apreensão convênio UFRRJ/Polícia Rodoviária Federal.

2.2 Local do experimento

O trabalho foi realizado nos laboratórios do Departamento de Parasitologia Animal localizados no Convênio EMBRAPA – Sanidade Animal/ UFRRJ e Estação para Pesquisa Parasitológica W. O. Neitz do Departamento de Parasitologia Animal da UFRRJ, situado no Município de Seropédica, Rio de Janeiro.

2.3 Técnicas coprológicas

Para a realização das técnicas coprológicas, foi necessário montar colônias de duas espécies de muscídeos. *Stomoxys calcitrans* e *Musca domestica*, e coletar fezes dos animais direto da ampola retal durante as respectivas necropsias.

2.3.1 Formação de colônia de *S. calcitrans*

2.3.1.1 Procedência dos dípteros

Para montar a colônia de *S. calcitrans* foram utilizadas pupas, provenientes da terceira geração, dos muscídeos coletados nos estábulos da Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz, cedidas pela Dra. Eliane M. V. Milward de Azeveo.

2.3.1.2 Manutenção da colônia

As pupas foram mantidas em placas de Petri com vermiculita, dentro de gaiolas de madeiras, revestidas lateralmente por tela de *nylon* (28,5 cm de altura x 27,5 cm de largura x 32 cm de profundidade) em temperatura ambiente. Os dípteros recém emergidos do pupário foram alimentados com sangue bovino acrescido de citrato de sódio e água destilada, ambos os recipientes plásticos (5,0 cm de diâmetro e 2,0 cm de altura) revestidos com tela de *nylon* servindo como substrato para pouso. Esta dieta foi renovada em dias alternados.

2.3.1.3 Obtenção de ovos

Para a postura de ovos foi oferecido aos dípteros, em placa de Petri (5,0 cm de diâmetro e 1,0 cm de altura), uma dieta artificial constituída de farelo de trigo, farinha de peixe e levedo de cerveja na proporção de 4:2:1 e umedecido com água destilada. Estas placas contendo a dieta foram introduzidas nas gaiolas e retiradas após o período de 6 horas, uma vez ao dia.

2.3.1.4 Obtenção de larvas

Logo após a postura, os ovos foram transferidos para recipientes maiores (44,0 cm de diâmetro x 12,0 cm de largura) revestidos com tecido vedante na sua cobertura, sendo acrescentada maior quantidade da dieta artificial anteriormente citada. As larvas foram mantidas nestes recipientes em câmaras climatizadas à temperatura de 27° e umidade relativa de 70% até o estágio de pupa. Após a ecdise, as pupas foram transferidas para recipientes menores (27,0 cm de diâmetro x 10,0 cm de altura) acrescida de vermiculita e introduzidas em gaiolas de madeiras.

2.3.2 Formação da colônia de *Musca domestica*

2.3.2.1 Procedência de dípteros

Para formação da colônia de *M. domestica* foram utilizadas pupas cedidas pela Dra. Eliane M. V. Milward de Azevedo, da Estação Experimental para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz.

2.3.2.2 Manutenção da colônia

Foi realizado o mesmo processo adotado com as pupas de *S. calcitrans*, apenas alterando a dieta oferecida aos dípteros recém emergidos do pupário. Foi oferecido mel de abelha acrescido de água destilada em um recipiente, e em outro apenas água destilada, ambos recipientes plásticos (5,0 cm de diâmetro x 2,0 cm de altura) revestidos com tela “nylon” servindo como substrato para pouso. Esta dieta foi renovada em dias alternados.

2.3.2.3 Obtenção de ovos e larvas

Nesta fase do experimento também foram adotados o mesmo procedimento e dieta utilizados para a obtenção de ovos e larvas de *S. calcitrans*, descrito anteriormente nos itens 2.3.1.3 e 2.3.1.4.

2.3.3 Técnica de xenodiagnóstico

Foi adotada a modificação do xenodiagnóstico feita por SALLES & JANSEN (1945) e usada por AMADO (1997) por ser um modelo mais simples. O modelo consiste de dois copos cilíndricos, onde o menor de volume de 150 ml, contendo as fezes frescas e vinte larvas de um dia de idade se encaixa dentro de outro maior de 1.500 ml de capacidade volumétrica, contendo no seu interior vermiculita e tecido vedante na sua cobertura. No primeiro recipiente foram colocadas sessenta gramas de fezes. As larvas desenvolvidas nesse meio foram colocadas em geladeira à temperatura de 0°C, por cinco minutos, deixando-as imóveis permitindo dissecação individual. Dessa forma, com auxílio de pinças finas, estiletos e

microscópio estereoscópio, quantificou-se o número de larvas de *Habronema* sp. recuperadas. Para cada animal foram realizadas três repetições do xenodiagnóstico.

2.3.4 Técnica de Ueno (modificada)

A técnica de Baermann modificada por UENO (1968) e UENO & GUTIRRES (1983), usada por PAIVA (1988) foi adotada para observar formas larvares de *H. muscae*, *H. microstoma* e *D. megastoma* e eliminada nas fezes dos eqüídeos. Nesta técnica os autores citados utilizaram 3g de fezes. No presente trabalho foram utilizadas amostras contendo 3g e 5g de fezes.

A amostra de fezes foi envolvida por um pedaço de gaze, formando com grampo de metal ou plástico uma pequena bolsa, depois introduzida em um tubo de centrífuga. O volume de água foi completado até a imersão total da amostra. Evitou-se o excesso de gaze livre na extremidade da bolsa, a fim de evitar a evaporação d'água e conseqüentemente diminuição de líquido no interior do tubo, garantindo assim a execução correta do exame.

O tubo de ensaio contendo o material de exame foi deixado em repouso por 24 horas à temperatura ambiente. Após este período a bolsa foi retirada e o sedimento aspirado com uma pipeta Pasteur até o volume de 0,3 ml, este sendo transferido e dividido em três lâminas de microscopia cobertas com lamínulas, e posteriormente observado e contado o número de larvas de *Habronema* spp. ou *D. megastoma* no microscópio ótico.

Como na técnica de xenodiagnóstico descrita anteriormente, na técnica de Ueno (modificada) também foi adotada, para cada animal, três repetições utilizando os dois tipos de amostra de fezes (3g e 5g).

2.4 Coleta das formas adultas de *Habronema* spp. e *D. megastoma*

Os animais foram sacrificados e posteriormente necropsiados. O estômago foi coletado e encaminhado para o laboratório, onde este foi aberto no sentido longitudinal da curvatura maior e o conteúdo transferido para uma bandeja, assim como o material proveniente do raspado e o lavado da mucosa gástrica. O conteúdo foi homogeneizado, e retirou-se uma alíquota de 10% do volume total. O material foi fixado com solução AFA (álcool 70° GL, formalina comercial e ácido acético glacial na proporção de 93:5:2) aquecido a 70°C, colocado em vidros fechados e devidamente identificados, com etiquetas contendo o número do animal e data da necropsia. Posteriormente este material sofreu uma lavagem, com água corrente, em uma peneira com aberturas de 25 µm de diâmetros. O material depois de lavado e peneirado foi examinado em microscópio estereoscópio. Os espécimes de *Habronema* spp., *D. megastoma* e *Trichostrongylus* sp. coletados e contados foram conservados em álcool 70° GL para sua posterior identificação até espécie.

Para identificação dos espécimes adultos coletados de *Habronema* spp., *D. megastoma* e *Trichostrongylus* sp., estes foram clarificados com fenol álcool na proporção de 90 partes de álcool e 10 partes de fenol, em lâmina (50 x 75 mm) e lamínula de tamanho compatível, e examinados com auxílio de microscópio ótico. A caracterização dos espécimes de Habronematíneos e sexo foram realizados segundo as descrições de RANSOM (1913), HILL (1918), RUOBAUD & DESCAZEUX (1921, 1922b) e PAIVA (1988). A caracterização das espécies de *Trichostrongylus* sp. foi segundo LICHTENFELS (1975).

Os estudos taxonômicos foram baseados nos trabalhos de LICHTENFELS (1975), e a nomenclatura utilizada na morfologia foi a mesma adotada por ANDERSON *et al.* (1974).

A análise estatística empregada foi a da regressão linear para a comparação das duas técnicas coprológicas. Onde a equação $y = bx + a$ é aplicada considerando: x sendo a variável independente e y sendo a variável dependente (ZAR, 1996).

A média das três repetições da técnica do xenodiagnóstico foi estabelecida pela soma da intensidade média de infecção (I_m) de cada repetição dividido por três, onde a intensidade de infecção (I_m) corresponde ao número de larvas recuperadas no imago dos muscídeos, dividido pelo número de espécimes de muscídeos dissecados.

As médias da técnica de sedimentação de UENO (1968) e UENO & GUTIERRES (1983) foi baseada na soma das três médias, obtidas do número de larvas encontrado nas primeiras, segundas e terceiras lâminas das três repetições, dividido por três. Este método foi adotado para as amostras e 3g e 5g de fezes. Também foi utilizado a teste t para comparar as médias das três lâminas, nas três repetições da técnica de Ueno (modificada).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Comparação entre duas técnicas coprológicas para o diagnóstico de habronemose gástrica causada por *Habronema spp.* e *D. megastoma*

Os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 1, onde se demonstra a identificação de trinta e cinco eqüídeos, dos quais quatro animais apresentaram resultados negativos para ambas as técnicas (n° 10, 99, 270 e 608), entre esses dois (n° 10 e 99) não foram encontrados nematóides adultos no estômago. Em apenas dois eqüídeos não foram recuperadas larvas através das técnicas, ou seja, 5,7% da amostra.

Desconsiderando os animais n° 10, 99, 270, e 608 por motivos relatados no parágrafo anterior, constatamos dentre os eqüídeos submetidos às técnicas coprológicas de diagnóstico, apenas dois animais (n° 602 e 853) apresentaram resultados negativos na aplicação da técnica de UENO (1968) e UENO & GUTIERRES (1983), utilizando amostras de 3g e 5g de fezes, e cinco animais (n° 2, 82, 355, 810 e 888) apresentaram resultados negativos na aplicação da técnica do xenodiagnóstico.

Avaliando a técnica de UENO (1968) e UENO & GUTIERRES (1983) com 3g e 5g de fezes (Tabela 1), obtemos 82,8% das médias das três repetições, positivas na recuperação de larvas. Enquanto, quando observamos as médias das três repetições da técnica do xenodiagnóstico observamos 71,4% dos animais positivos.

Se considerarmos os parágrafos anteriores podemos afirmar independentemente da análise estatística, a segurança das duas técnicas para o diagnóstico das Habronematíneos gástrico de eqüídeos.

Em apenas seis animais foi possível a realização da técnica de xenodiagnóstico, com as duas espécies de muscídeos, devido à dificuldade de sincronizar as colônias e a alcançar a maturidade reprodutiva da colônia de *S. calcitrans*. A dificuldade de associar o

desenvolvimento das colônias com o experimento (necropsias) foi um dos problemas enfrentados para a realização desta técnica.

Na Tabela 1 podemos observar que das fezes dos 35 eqüídeos submetidas ao xenodiagnóstico com três repetições, 25 apresentaram pelo menos uma das repetições positivas e 10 eqüídeos apresentaram resultados negativos nas três repetições, ou seja, 71,4% dos animais foram positivos e 28,6% apresentaram resultados negativos. Em apenas 33 eqüídeos foram possíveis recuperar fêmeas da *Habronema* spp. e *D. megastoma* SALES & JANSEN (1945) obtiveram índices mais elevados, das fezes dos 87 eqüídeos submetidos ao xenodiagnóstico, 96,6% apresentaram xenodiagnóstico positivo e 2,2% negativos.

Tabela 1. Dados referentes à recuperação de larvas de *Habronema* spp. e *D. megastoma* pelas técnicas de Ueno (modificada) e xenodiagnóstico nas fezes de 35 eqüídeos, e também da recuperação de fêmeas de Habronematíneos em necropsias.

| Nº do Animal | Nº de Larvas recuperadas nas Técnicas Coprológicas | | | | Fêmeas Recuperadas na necrópsia | | | |
|--------------|--|-----------------|----------------------------|-----------------------|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|-------|
| | Técnica de Ueno (modificada) | | Técnica de Xenodiagnóstico | | <i>H. m</i> ⁵ | <i>H. m</i> ⁶ | <i>D. m</i> ⁷ | Total |
| | 3g ¹ | 5g ² | <i>M</i> ³ | <i>S</i> ⁴ | | | | |
| 2 | 2,5 | 2,7 | 0 | - | 0 | 200 | 0 | 200 |
| 3 | 0,4 | 1,7 | 0,9 | - | 20 | 10 | 0 | 30 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | - | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24 | 4,4 | 4 | 0,4 | - | 100 | 100 | 0 | 200 |
| 25 | 24,5 | 24,4 | 18,6 | - | 100 | 300 | 0 | 400 |
| 47 | 6,8 | 13,6 | 2,2 | - | 0 | 400 | 0 | 400 |
| 79 | 1,8 | 2,9 | 4,1 | - | 160 | 3 | 0 | 163 |
| 82 | 0 | 0,3 | 0 | - | 11 | 0 | 0 | 11 |
| 91 | 1,2 | 1,7 | 7,6 | - | 83 | 10 | 0 | 93 |
| 97 | 0,2 | 0,2 | 0 | - | 10 | 0 | 0 | 10 |
| 99 | 0 | 0 | 0 | - | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 101 | 0,2 | 0,7 | 0,6 | - | 60 | 0 | 0 | 60 |
| 136 | 41,4 | 44,4 | 42,1 | - | 6500 | 900 | 0 | 7400 |
| 270 | 0 | 0 | 0 | - | 200 | 200 | 0 | 400 |
| 355 | 0,4 | 0,3 | 0 | - | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 582 | 0,5 | 1,3 | 4 | - | 24 | 17 | 0 | 41 |
| 602 | 0 | 0 | 0,1 | 0,3 | 8 | 4 | 0 | 12 |
| 603 | 0 | 0,4 | 0,1 | - | 21 | 15 | 0 | 36 |
| 604 | 1 | 0,9 | 3,4 | 0,7 | 50 | 30 | 0 | 80 |
| 606 | 10,1 | 28,4 | 2,9 | 13,7 | 0 | 730 | 31 | 761 |
| 607 | 1,4 | 2,2 | 10,8 | 2,9 | 0 | 360 | 0 | 360 |
| 608 | 0 | 0 | 0 | 0 | 31 | 12 | 0 | 43 |
| 609 | 4,2 | 6,2 | 2,9 | 0,6 | 200 | 220 | 0 | 420 |
| 694 | 53,7 | 50,2 | 13,9 | - | 100 | 0 | 75 | 175 |
| 695 | 1,1 | 0,9 | 0,9 | - | 0 | 100 | 0 | 100 |
| 730 | 0,3 | 0,3 | 0,03 | - | 0 | 400 | 0 | 400 |
| 801 | 1,7 | 2,6 | 0,9 | - | 73 | 40 | 0 | 113 |
| 810 | 0,2 | 0 | 0 | - | 100 | 50 | 0 | 150 |
| 853 | 0 | 0 | 0,05 | - | 100 | 100 | 0 | 200 |
| 858 | 4,1 | 4,9 | 4,2 | - | 100 | 400 | 0 | 500 |
| 863 | 3,4 | 5 | 4,2 | - | 700 | 700 | 0 | 1400 |
| 888 | 0,5 | 0,9 | 0 | - | 0 | 300 | 0 | 300 |
| 915 | 0,3 | 3,1 | 3,03 | - | 100 | 300 | 0 | 400 |
| 922 | 1,7 | 1,2 | 3,9 | - | 500 | 0 | 0 | 500 |
| 978 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | - | 30 | 0 | 0 | 30 |

1- 3g de fezes empregadas; 2- 5g de fezes empregadas; 3- *M. domestica*; 4- *S. calcitrans*; 5- *H. muscae*
6- *H. microstoma*; 7- *D. megastoma*.

MELLO & CUOCOLO (1943a) não conseguiram resultados tão satisfatórios quanto os autores anteriormente citados e o presente trabalho. Das fezes de dos 138 eqüídeos submetidos a técnica de xenodiagnóstico, 54,3% apresentaram resultados positivos e 45,6% negativos. Estes autores não confirmaram o diagnóstico, pois os animais utilizados nos experimentos não foram submetidos à necropsia e recuperação de fêmeas no estômago.

Os animais n° 606 e 694 foram os únicos positivos para *D. megastoma*, apresentando um nódulo no estômago, observado na necropsia. Curiosamente estes foram os animais que apresentaram um número elevado de larvas recuperadas em ambas as técnicas.

Na análise da regressão linear utilizamos os dados de vinte e nove, dentre os trinta e cinco animais necropsiados. Não foram utilizados os seguintes eqüídeos: os n° 10 e 99 por não terem sido recuperados espécimes de Habronematíneos no estômago; os animais n° 270 e 608 devido a não recuperação de larvas em ambas as técnicas e os n° 606 e 694 foram descartados por serem positivos para *D. megastoma*.

Na figura 1 pode ser observado o coeficiente de determinação, obtidos relacionando-se o número médio de larvas recuperadas na técnica de Ueno, utilizando 3g de fezes, com o número de fêmea de *Habronema spp.* recuperadas na necropsia. Para a análise da técnica de Ueno utilizando 5g de fezes correlacionada ao número de fêmeas recuperadas, pode-se constatar na Figura 2, um coeficiente de determinação de 73,1% não indicando diferença estatisticamente significativa.

Com o auxílio do modelo matemático $y = bx + a$, podemos estimar o número de fêmeas, utilizando como referência o número de larvas recuperadas na técnica de sedimentação.

Onde:

y = ao número de larvas recuperadas através da técnica de diagnóstico usada; sendo considerada variável dependente;

x = ao número de fêmeas de *H. muscae* e *H. microstoma* recuperadas na necropsia; considerada variável independente;

a = o intercepto da reta no eixo y ;

b = o coeficiente de regressão.

Ao analisar a equação nas quatro figuras constata-se que o coeficiente de regressão é baixo e sem diferença significativa. E pela mesma equação pode-se afirmar que com uma fêmea de *Habronema* spp. encontrada, se poderá recuperar pelo menos: 1,2 larvas utilizando a técnica de Ueno (modificada) com amostras contendo 3g de fezes (figura 1); 1,3 larvas utilizando a técnica de Ueno (modificada) com amostras contendo 5g de fezes (figura 2); 1,5 larvas utilizando a técnica de xenodiagnóstico com as médias das duas espécies de *Habronema* spp. recuperadas a necropsia (figura 3); e 2 larvas utilizando a técnica do xenodiagnóstico adotando apenas a média de fêmeas de *H. muscae* recuperadas à necropsia (figura 4).

Os resultados descritos demonstram similaridade aos encontrados por PAIVA (1988), embora o autor tenha apenas trabalhado com a técnica de Ueno (modificada) utilizando 3g de fezes. E evidenciaram a superioridade da técnica de Ueno em relação às técnicas de Willis e centrifugação testadas por OLIVEIRA *et al.* (1988).

sedimentação (utilizando 3g de fezes), sete animais apresentaram resultados negativos nas médias das três lâminas, das três repetições (n° 10, 99, 270, 602, 603, 608 e 853). Esses animais não foram aproveitados na análise estatística do teste *t*. Não houve diferença significativa entre as médias do número de larvas encontrado em cada lâmina para cada uma das repetições de cada amostra de fezes examinada.

Nas Tabelas 1 e 3, temos a relação das médias das três lâminas, das três repetições feitas na técnica de sedimentação utilizando 5g de fezes. Onde os animais n° 10, 99, 270, 602, 608, 810 e 853 apresentaram resultados negativos para as três repetições, sendo excluídos da análise estatística. Com base no teste *t* para comparação de médias não houve diferença significativa entre as médias da primeira e da segunda lâminas e entre as médias da segunda e da terceira lâminas, mas houve diferença significativa das médias da primeira e da terceira lâminas, demonstrando a superioridade das médias da terceira sobre a primeira lâminas.

Tabela 2. Médias das três leituras obtidas das três repetições da técnica de Ueno 3g.

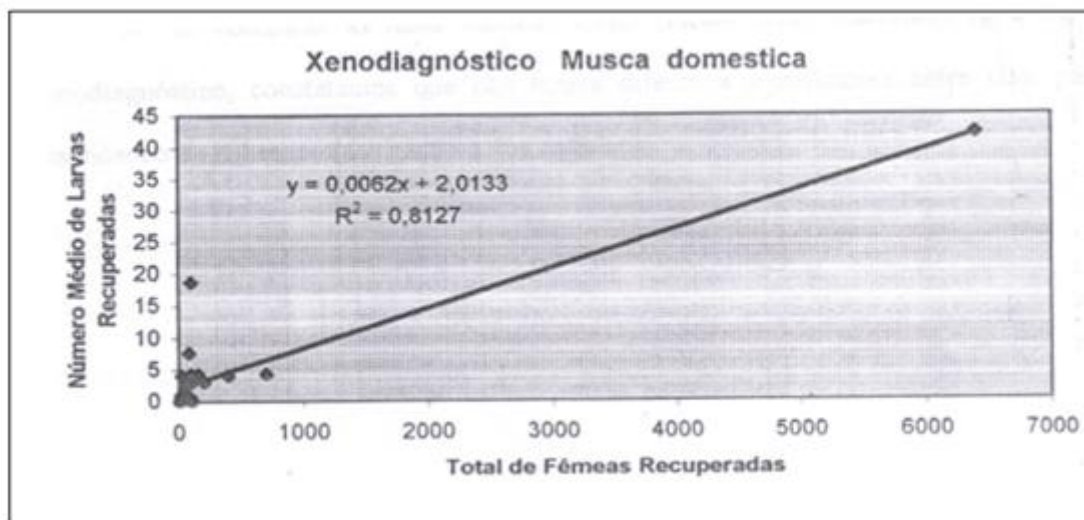
| Animal | Técnica de Ueno 3g | | | Média |
|--------|--------------------|-----------|-----------|-------|
| | 1° lâmina | 2° lâmina | 3° lâmina | |
| 2 | 2 | 3,7 | 2 | 2,5 |
| 3 | 0,7 | 0,3 | 0,3 | 0,4 |
| 24 | 1 | 5 | 7,3 | 4,4 |
| 25 | 4,7 | 21 | 48 | 24,5 |
| 47 | 0 | 3 | 17,3 | 6,8 |
| 79 | 0 | 1,3 | 4 | 1,8 |
| 82 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 91 | 0,3 | 2,3 | 1 | 1,2 |
| 97 | 0 | 0,3 | 0,3 | 0,2 |
| 101 | 0,3 | 0 | 0,3 | 0,2 |
| 136 | 30,3 | 45,7 | 48,3 | 41,4 |
| 355 | 0 | 0,3 | 1 | 0,4 |
| 582 | 0 | 0,3 | 1,3 | 0,5 |
| 604 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 606 | 10 | 1,7 | 18,7 | 10,1 |
| 607 | 0,3 | 1 | 3 | 1,4 |
| 609 | 0 | 3,3 | 9,3 | 4,2 |
| 694 | 16,3 | 44 | 100,7 | 53,7 |
| 695 | 0,3 | 1,3 | 1,7 | 1,1 |
| 730 | 0 | 0 | 1 | 0,3 |
| 801 | 0 | 1,3 | 3,7 | 1,7 |
| 810 | 0 | 0 | 0,7 | 0,2 |
| 858 | 2,3 | 6,7 | 3,3 | 4,1 |
| 863 | 2,7 | 4,7 | 3 | 3,4 |
| 888 | 0,3 | 0 | 1,3 | 0,5 |
| 915 | 0 | 0,7 | 0,3 | 0,3 |
| 922 | 0 | 2,7 | 2,3 | 1,7 |
| 978 | 0 | 0 | 0,3 | 0,1 |

Tabela 3. Médias das três leituras obtidas das três repetições da técnica de Ueno 5g.

| Animal | Técnica de Ueno 5g | | | Média |
|--------|--------------------|--------------|--------------|-------|
| | 1º lâmina âmina | 2º lâmina | 3º lâmina | |
| 2 | 1 | 3,7 | 3,3 | 2,7 |
| 3 | 0,3 | 0,7 | 4 | 1,7 |
| 24 | 2,3 | 2,7 | 7 | 4 |
| 25 | 9,3 | 34,3 | 29,7 | 24,4 |
| 47 | 0,3 | 13 | 27,3 | 13,6 |
| 79 | 1,3 | 3,7 | 3,7 | 2,9 |
| 82 | 0 | 0,7 | 0,3 | 0,3 |
| 91 | 0,3 | 3 | 1,7 | 1,7 |
| 97 | 0 | 0,7 | 0 | 0,2 |
| 101 | 0 | 0 | 2 | 0,7 |
| 136 | 17,3 | 47,7 | 68,3 | 44,4 |
| 355 | 0 | 0 | 1 | 0,3 |
| 582 | 0,3 | 1,7 | 2 | 1,3 |
| 603 | 0 | 0 | 1,3 | 0,4 |
| 604 | 0 | 1 | 1,7 | 0,9 |
| 606 | 1 | 15,7 | 68,7 | 28,4 |
| 607 | 0 | 1 | 5,7 | 2,2 |
| 609 | 0,3 | 4,3 | 14 | 6,2 |
| 694 | 12 | 35 | 103,7 | 50,2 |
| 695 | 1 | 0,7 | 1 | 0,9 |
| 730 | 0 | 0,3 | 0,7 | 0,3 |
| 801 | 1,3 | 2,7 | 3,7 | 2,6 |
| 858 | 0,7 | 4,3 | 9,7 | 4,9 |
| 863 | 4 | 9,3 | 1,7 | 5 |
| 888 | 0 | 1,3 | 1,3 | 0,9 |
| 915 | 0,3 | 1,7 | 7,3 | 3,1 |
| 922 | 0,7 | 2,3 | 0,7 | 1,2 |
| 978 | 0 | 0 | 0,3 | 0,1 |

O coeficiente de determinação 79,1% foi observado na Figura 3, onde foi correlacionado o número médio de larvas recuperadas pela técnica do xenodiagnóstico utilizando espécimes de *M. domestica* com o número de fêmeas de *H. muscae* e *H. microstoma* recuperadas na necropsia. E estimamos, através do modelo matemático citado anteriormente, 1,5 larvas para cada fêmea recuperada. A diferença do coeficiente de regressão desta última comparando com os coeficientes encontrados para técnica de sedimentação utilizando as duas amostras de fezes não demonstrou diferença significativa (Figura 3).

Figura 4. Regressão linear entre a intensidade média de infecção do muscídeo (*M. domestica*) e o número de fêmeas de *H. muscae* recuperadas em necropsias de eqüídeos.



4 CONCLUSÕES

1. A técnica de Ueno (modificada) utilizando 3g e 5g de fezes foi eficaz para o diagnóstico da habronemose gástrica dos eqüídeos, sendo necessário a leitura das três lâminas para um diagnóstico preciso.
2. A técnica do xenodiagnóstico foi eficaz para o diagnóstico da habronemose gástrica dos eqüídeos.
3. Ao comparar as duas técnicas Ueno (modificada) utilizando 3g e 5g e o xenodiagnóstico, constatamos que não houve diferença significativa entre elas, para o diagnóstico da habronemose gástrica dos eqüídeos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCAINO, H., T. GORMAN, S. CORNEJO, R. MOLINARI & A. PINTO. 1980. Estudio epizootiológico de parasitismo estomacal Del equino de la zona Centro Sur de Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 12:10-29.
- ALFARO, A.A. 1982. Tratamiento intra-lesional de habronemasis cutánea con el organofosforado thriclorfon en caballos. *Ciência Veterinária*. 4:25-28.
- AMADO, S. 1997. O desenvolvimento biológico de *Habronema muscae* Carter, 1861 (Diesing, 1861) (Nematoda: Habronematidae) em *Musca domestica* Linnaeus, 1758 (Díptera: Muscidae). *Tese de mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica*. 65p.
- ANDERSON, R.C., A.G. CHABAUD & S. WILLMOTT. 1974. Key to the parasites of vertebrates – General introduction. *Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Slough SL. 2 3 BH, England*.
- BAUER, C. 1986. Befall mit Magarparasiten bei Pferdai in Nord-dentschland. *Deutsche Tierarztliche Wocheuxhrift*. 93:386, 388-389.
- BOULEY, H. 1850. D'une vaiéte particulière d'inflammation de la peau et des muqueuses apparentes, causéé par le développement de granulations fibrino-calcaires dans les intertices du tissue inflammé. *Recueil de Médecine Vetérinaire Pratique*. 27:945-966.

- BUCKNELL, D.G., R.B. GASSER and I. BEVERIDGE. 1995. Prevalence and epidemiology of gastrointestinal parasites of horses I Victoria, Australia. *International Journal for Parasitology*. 25(6):711-24.
- BULL, L.B. 1919. A contribution to the study of habronemosis; a clinical, pathological and experimental investigation of a granul-condition of the horse. *Transactions Royal Society of South Australia*. 43:85-141.
- CARNEIRO, J.R., E. PEREIRA, W. MARTINS JUNIOR & M.G FREITAS. 1980. Listas de animais domésticos do Estado de Goiás. *Revista Patológica Tropical, Goiânia*. 9(1/2):61-71.
- COSTA, H.M.A., A.C.R. LEITE, M.P. GUIMARÃES & W.S. LIMA. 1986. Distribuição de helmintos parasitos de animais domésticos no Brasil. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 38:465-579.
- CYRAK, V.Y.; HERMOSILLA, C. e BAUER, C. 1996. Study on the gastrointestinal parasite fauna of ponies in northern Germany. *Applied Parasitology* v.37, p39-244.
- DESCAZEUX, J. & J. MOREL. 1933. Diagnostic biologique (xenodiagnostic) des Habronemoses gastriques Du cheval. *Bulletin de la Societé de Pathologie Exotique*. 26:1010-1014.
- DIAZ-UNGRÍA. 1979. Algunas espécies de helmintos nuevas para Venezuela. *Revista Ibérica de Parasitologia*. 39:313-336.

- DRUDGE, J.G. 1956. Helminth infections in horses. *Veterinary Medicine*. 51(8):349-357.
- DUARTE, M.J.F. 1981. Helmintos parasitos dos animais domésticos no Estado do Rio de Janeiro. *Arquivos da Escola de Veterinária*, Belo Horizonte. 33(1):67-98.
- FERNANDES, J.C. 1976. Aula inaugural da Escola Superior de Veterinária de Pernambuco, Recife. In FERNANDES, J.C & T.E. TRAVASSOS. Lista dos helmintos parasitos dos animais domésticos de Pernambuco. *Anais da Universidade Federal Rural Pernambuco – Ciências Biológicas*, Recife. 3(1): 221-32.
- FOSTER, A.O. 1936. A quantitative study of the nematodes from a selected group of equines in Panama. *Journal of Parasitology*. 22:479-510.
- FREITAS, M.G. 1957. Lista de helmintos parasitos dos animais domésticos de Minas Gerais. *Arquivos da Escola Superior de Veterinária*, Belo Horizonte. 10:373-381.
- GAWOR, J.J. 1995. The prevalence and abundance of internal parasites in working horses autopsied in Poland. *Veterinary Parasitology*. 58(1-2):99-108.
- GEORGI, J.R. 1980. Parasitology for Veterinarians. 3rd ed. Saunders, Philadelphia. 386pg.
- GIOVANNONI, M. & G.V.L. KUBIAK. 1947. Fauna parasitológica paranaense. IV- Lista previa da ocorrência de helmintos em animais domésticos. *Arquivos da Biologia e Tecnologia*, Curitiba. 2:225-32.

- HILL, G.F. 1918. Relationship of insects to parasitic diseases in stock. Parte 1: the life history of *Habronema muscae*, *H. microstoma* and *H. megastoma*. *Proceedings of the Royal Society of Victoria*. 31 (N. series):11-76.
- IVASHKIN, V.M., L.A. KHROMOVA, G.M. DROINOS, M.D. SONIN. 1984. Biological characteristics of *Habronema* parasitic in equines. *Gel "minty sel" skokhozyaistvennyh I okhotnich" e promyslovykh zhyvotnyh*. 10-17, 11 ref.
- JESUS, Z. 1963. Observations on habronemosis in horse. Phillipine. *Journal of Veterinary Medicine*. 2:133-152.
- JOHNSTON, T.H. & M.J. BANCROFT. 1920. The life-history of *Habronema* in the relation to *M. domestica* and native flies in Queensland. *Proceeding of Royal Society of Queensland*, Brisbane. 32:61-68.
- LICHTENFELS, J.R. 1975. Helminths of domestic Equids. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 42 (special issue) 92 pg.
- LYONS E.T., S.C. TOLLIVER, J.H. DRUDGE, T.W. SWERCZEK, and M.W. CROWE. 1983. Parasites in Kentucky thorough bredes at necropsy: emphasis on stomach worms and tapewormsn. *American Journal of Veterinary Research*. 44(5):839-44.
- MARBACH, W. 1963. Common internal parasites of horses their recognition and treatment. *Agricultural Gazette of New South Walles*. 74(9):514-521.

- MARBACH, W. 1975. Common internal parasites of horses. *Animal Diseases Bulletin*. 15:1-7.
- MARTINS, V.A. & M.G. FREITAS. 1949. Estudos sobre a habronemose eqüina. *Ceres* (Minas Gerais). 8(45):181-187.
- MELLO, M.J. & R. CUOCOLO. 1943a. Técnica para diagnóstico da habronemose gástrica dos eqüídeos. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*. 14:217-226.
- MELLO, M.J. & R. CUOCOLO. 1943b. Alguns aspectos das relações de *Habronema muscae* (Carter, 1861) com a mosca doméstica. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*. 14:227-234.
- MFITILODZE, M.W. & G.W. HUTCHINSON G.W. 1989. Prevalence and intensity of non-strongyle intestinal parasites of horses in northerthern Queensland. *Australian Veterinary Journal*. 66(1):23-6.
- PAIVA, F. 1988. *Habronema muscae* (Carter, 1861) Diesing, 1861: Descrição de formas imaturas, uma nova técnica de diagnóstico e a prevalência da habronemose gástrica no estado do Mato Grosso do Sul. *Tese de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, Seropédica. 58p.
- PALLAREZ, R., C.B. USHER & G. VERGARA. 1971. Descripción de parasitos de *Equus caballus* en el Paraguay. I. Nematoda: 1º parte: espécies de lãs subfamílias

- Cyathostominae, Spirurinae y Strongylinae. *Revista Paraguaya de Microbiologia*. 6(1):63-77.
- PEREIRA, V.S., M.J. MELLO. 1948. Papel da predisposição do hospedeiro na produção da habronemose cutânea (“ESPONJA”) dos eqüídeos. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*. 18:363-379.
- PINTO, C. & J.L. ALMEIDA. 1945. apud PINTO, C. Zooparasitos de interesse médico e veterinário. Rio de Janeiro, *Científica*. 461p.
- PIRES, A. 1938. Estudios experimental sobre a “Ilaga de verano”. *Rev. de Med. Vet.*, Buenos Aires. 20:397-422.
- RANSOM, B.H. 1911. The life history of a parasitic nematode *Habronema muscae*. *Reprint Science*. 34:690-692.
- RANSOM, B.H. 1913. The life-history of *Habronema muscae*, Carter – A parasite of the Horse transmitted by the housefly. *bulletin No163 of the Bureau of Animal Industry*, United States Department of Agriculture, p.1-36.
- REBHUN, W.C., E.J. MIRRO, M.E. GEORGI, & T.J. KERN. 1981. Habronemic blepharoconjuntivitis in horses. *Journal of American Veterinary Medicine Association*. 179(5):469-472.

- REDDY, A.B., N.S.N. GAUR & U.K. SHARMA. 1976. Pathological changes due to *Habronema muscae* and *H. megastoma* (*Drashia megastoma*) infection in equines. *Indian Journal Animal Science*. 46:207-210.
- REINEMEYER, C.R, S.A SMITH, A.A. GABEL & R.P. MERD. 1984. The prevalence and intensity of internal parasites of horse in the USA. *Veterinary Parasitology*. 15:75-83.
- RICCI. M. & A. SABATINI A. 1992. Parasitic helminths of the cecum and colon of equidae in Italy. *Parasitologia*. 34(1-3):53-60.
- ROUBAUD, E. & J. DESCAZEAX. 1921. Contribution l'histoire de la mouche domestique comme agent vecteur des Habronemoses de equides. *Bulletin de la Socociété de Pathologie Exotique*. 4:471-506.
- ROUBAUD, E. & J. DESCAZEAX. 1922a. Evolution de *l'Habronema muscae* chez la mouche domestique et de *l'H. microstoma* chez le stomoxe. *Bulletin de la Socociété de Pathologie Exotique*. 15(7):572-574.
- ROUBAUD, E. & J. DESCAZEAX. 1922b. Deuxieme à l'histoire de la mouche domestique comme agent vecteur des habronemoses d'equides. *Bulletin de la Socociété de Pathologie Exotique*. 15(7):978-1001.
- SALLES, J.F. De & J. JANSEN. 1945. Xenodiagnóstico na Habronemose dos equídeos: estudo das larvas dos helmintos. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 42(1):207-215.

SILKIN, J. 1956. Internal parasites of the horse. *Journal of Agricultural of Western, Australia*.
3° series. 5(4) .

TOLLIVER, S.C., E.T. LYONS, J.H. DRUDGE. 1987. Prevalence of internal parasites in horses in critical tests of activity Lof parasiticides over a year period (1956-1983) in Kentucky. *Veterinary Parasitology*. 23(3-4):273-84.

UENO, H. 1968. A simple method for detection of first stage larvae of *Dictyocaulus viviparus* in faeces of cattle. II. Comparison with other methods and field application. *Journal of the Japan Veterinary and Medical Association*. 21:255.

UENO, H. & V.C. GUTIERRES. 1983. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. *Japan International Cooperation Agency, Tóquio, Japão*. 176pg.

WADDEL, A.H. 1969. A survey of *Habronema megastoma* and *H. muscae* and the identification stage larvae of *Habronema megastoma* and *H. muscae*. *Australian Veterinary Journal*. 45:20-21.