

Atividade de detergentes e desinfetantes sobre a evolução dos ovos de *Ascaris lumbricoides*

Effects of detergents and disinfectants on the development of *Ascaris lumbricoides* eggs

Cristiano Lara Massara ¹
 Rafaela Salgado Ferreira ^{1,2}
 Luiz Dias de Andrade ³
 Henrique Leonardo Guerra ⁴
 Omar dos Santos Carvalho ¹

¹ Laboratório de Helmintos Intestinais, Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, MG 30190-002, Brasil.

massara@cpqrr.fiocruz.br
 omar@cpqrr.fiocruz.br

² Programa de Vocação Científica, Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, MG 30190-002, Brasil.

³ Laboratório de Pesquisas Clínicas, Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, MG 30190-002, Brasil.

dias@cpqrr.fiocruz.br
⁴ Laboratório de Epidemiologia e Antropologia Médica, Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, MG 30190-002, Brasil.
 guerrahl@cpqrr.fiocruz.br

Abstract *Ascaris lumbricoides* infection is acquired via ingestion of embryonated eggs of the parasite, thus justifying the search for ovicidal compounds. We studied the effect of 16 household and laboratory detergents and disinfectants on the embryogenesis of this helminth. Children carrying this infection were treated with levamisole. Eliminated female worms were collected and dissected to obtain eggs from the uteri. The eggs were placed in contact with various products at different dilutions and for various periods of time. After washing, eggs were incubated at 28°C for 20 days, for viability tests and to determine the embryonation rate. Only one product completely inhibited the embryonation of eggs at every dilution and for every time period tested. Five products inhibited more than 50% of embryonation, while six inhibited less than 50%. Three products showed no effect on embryonation, while for one the percentage of embryonated eggs was higher than in the control tubes.

Key words *Ascaris lumbricoides*; Disinfectants; Detergents

Resumo A infecção por *Ascaris lumbricoides* decorre da ingestão de ovos embrionados deste parasita, o que justifica a pesquisa de substâncias que tenham efeito deletério sobre estes ovos. Nosso objetivo foi estudar a a o de 16 produtos detergentes e desinfetantes, de uso doméstico e laboratorial, sobre a embriog nese deste helminto. Crianças portadoras desta infec o foram tratadas com levamisol e os vermes fêmeas expelidos foram recolhidos e dissecados, para obten o dos ovos intra-uterinos. Os ovos foram postos em contato com os produtos em diversas diluic es e tempos, lavados e incubados a 28°C, por 20 dias, para teste da viabilidade e determina o da porcentagem de embrionamento. Apenas um produto inibiu completamente o embrionamento dos ovos, em todos os tempos e diluic es testados. Cinco produtos inibiram o embrionamento dos ovos em mais de 50%, seis inibiram o embrionamento em menos de 50% e três não tiveram efeito sobre o embrionamento dos ovos. Por outro lado, com um produto observou-se aumento da porcentagem de embrionamento dos ovos em rela o aos controles.

Palavras-chave *Ascaris lumbricoides*; Desinfetantes; Detergentes

Introdução

A infecção do homem pelo *Ascaris lumbricoides* ocorre em mais de 150 países (Crompton, 1989), com uma estimativa mundial de 1,5 bilhão de casos (Chan et al., 1994), podendo ser responsável por diferentes graus de desnutrição, deficiência cognitiva, complicações e, ocasionalmente, morte em crianças acometidas em muitos países.

Cada fêmea adulta do verme produz cerca de 200 mil ovos por dia, que são expelidos com as fezes na forma não embrionada, não infectante, podendo sobreviver no solo por mais de um ano, em condições adequadas. O embrionamento dos ovos ocorre após um período de, pelo menos, vinte dias (Massara et al., 2001) e a infecção do homem se dá pela ingestão destes ovos, quando levados à boca por mãos sujas ou alimentos contaminados.

Ovos de *Ascaris* são resistentes a diversos fatores: terapêuticos (Massara, 1988; Massara et al., 1991), químicos (Pessoa & Martins, 1982) e ambientais (Goulart et al., 1985). Eles têm sido encontrados em resíduos de esgotos, mesmo após o tratamento (Amaral & Leal, 1940; Goulart et al., 1984) e em sanitários de escolas públicas (Coelho et al., 1999). Esses dados mostram a amplitude do problema da contaminação ambiental por ovos de *Ascaris*.

Ovos de *Ascaris* possuem grande capacidade de aderência a superfícies, o que representa um fator importante na transmissão do parasita. Uma vez presente no ambiente e em alimentos, estes ovos não são removidos com facilidade por lavagens. Com isso, a avaliação de substâncias quanto à sua aplicação segura em ambientes, alimentos e sua capacidade de impedir o desenvolvimento destes ovos é de grande importância para o controle da transmissão.

Devido à grande resistência dos ovos de *Ascaris* a vários agentes químicos e à extensa utilização de produtos detergentes e desinfetantes comerciais para a descontaminação de pias e utensílios domésticos, de bancadas e materiais de laboratório, de frutas e verduras, decidimos, no presente estudo, avaliar a atividade destes produtos sobre a capacidade embrionária dos ovos de *A. lumbricoides*.

Métodos

Coleta dos parasitas e ovos

Escolares (7-14 anos) foram submetidos ao exame parasitológico de fezes pelo método Kato-Katz (Katz et al., 1972) e aqueles com ovos de *A.*

lumbricoides viáveis nas fezes foram selecionados para o trabalho. As crianças foram tratadas com a droga não-ovicida levamisol (Massara et al., 1991) em dose única de 150mg de sal-base independentemente do peso corporal. O volume total das fezes foi coletado separadamente, durante 24 horas, e recolhido em recipientes plásticos até 72 horas após o tratamento. Os vermes adultos fêmeas, obtidos por intermédio da coleta de fezes, foram separados e dissecados para obtenção dos ovos diretamente dos úteros, formando vários *pools* de ovos.

Produtos testados

Foram utilizados produtos detergentes e desinfetantes de utilização comum em domicílios e laboratórios, sendo identificados por meio de códigos para preservar a marca comercial de cada produto testado. A Tabela 1 descreve os componentes ativos, diluições e tempos de exposição sugeridos pelos fabricantes e atividades indicadas nos rótulos de cada um dos produtos analisados. A maioria dos produtos foi adquirida no comércio da Região Metropolitana de Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais, com exceção do produto Ds13, que foi adquirido no México. Todos os produtos foram testados dentro dos prazos de validade indicados pelos fabricantes.

Tratamento dos ovos

Os testes foram preparados em tubos de centrifugação de poliestireno de 15ml (Falcon), contendo, em cada um, cerca de 20 mil ovos. Estes ovos foram postos em contato com 5ml dos produtos nas diluições de 1:10, 1:4, 1:2 e com o produto puro, na forma comercial, por períodos de tempo de 5, 10, 20 e 30 minutos. Para cada produto testado foi feita uma série de tubos-testes, em duplicata, relativos às diferentes concentrações e tempos, e dois tubos-controles, contendo ovos que não foram expostos aos produtos.

Incubação e contagem dos ovos

À medida que os tempos de contato dos ovos com os produtos eram alcançados, os ovos eram lavados com água destilada, centrifugados a 2.000rpm, por três vezes, para eliminação do produto. Após a última lavagem, 5ml de ácido sulfúrico a 0,1N foram adicionados a cada tubo (Fairbairn, 1961), os quais foram mantidos fechados em estufa a 28°C, em agitação permanente, por vinte dias.

Ao fim deste período, uma amostra homogênea de ovos de cada tubo foi colocada entre lâ-

Tabela 1

Características dos produtos testados.

Código do produto	Componente ativo indicado	Diluição sugerida	Tempo de exposição sugerido	Atividade indicada
Ds1	Cloreto de alquil dimetil benzil amônio a 50% (0,85%)	Puro	10 minutos	Desinfetante
Ds2	Cloreto de n-alkil dimetil benzil amônio a 80% (1,25%); formol inibido a 37% (0,25%)	Puro	10 minutos	Antimicrobiano
Ds3	Cloreto de alquil dimetil benzil amônio a 100% (0,75%)	Puro	10 minutos	Bactericida e germicida
Ds4	Cloreto de alquil dimetil benzil amônio a 100% (0,75%)	Puro	10 minutos	Bactericida
Ds5	Orto-benzil para-clorofenol 0,75%; formol a 37% (0,4%); sabão; óleo de pinho; solvente; corante *	Puro	10 minutos	Germicida e bactericida
Dt6	Linear alquil benzeno sulfonato de sódio	Puro	Não indicado	Detergente instantâneo
Dt7	Linear alquil benzeno sulfonato de sódio	Puro	Não indicado	Limpador
Dt8	Dodecil benzeno sulfonato de sódio linear	2-3 tampas/L (55-82,5ml/L)	Não indicado	Limpador concentrado
Ds9	Hipoclorito de sódio (cloro ativo: 2,0% a 2,5%); hidróxido de sódio; cloreto de sódio *	1 colher de chá (2ml)/5L	10 minutos	Germicida e bactericida
Ds10	Hipoclorito de sódio (cloro ativo: 2,0% a 2,5%); carbonato de sódio; cloreto de sódio; hidróxido de sódio *	1 colher de chá (2ml)/5L	10 minutos	Germicida e bactericida
Ds11	Vinagre de vinho branco	Não indicado	Não indicado	Não indicado **
Dt12	Tensoativo aniônico	Puro	Não indicado	Limpeza geral
Ds13	Fosfato de sódio; lauril sulfato de sódio; azeite de toronja; agente de controle de qualidade *	10g/L	5 minutos	Limpador e desinfetante para frutas e verduras
Ds14	Quaternário de amônio a 80% (3,26%)	Puro	10 minutos	Bactericida e germicida
Dt15	Tensoativos	2-5%	2 a 24 horas	Detergente
Ds16	Soluto de formaldeído; formol a 37% 20,0ml; N-duodecilbenzeno sulfonato de sódio (a 12%) 6,67ml; essência de eucalipto 0,4ml *	Puro	10 minutos	Germicida desinfetante bactericida

* Componente ativo não indicado.

** Atividade popularmente reconhecida como desinfetante para frutas e verduras.

mina e lamínula, examinando-se cem ovos, em duplicata, em microscópio óptico, no aumento de 100X. Para efeito de determinação da percentagem de embrionamento, apenas os ovos que continham larvas completamente formadas foram considerados como ovos embrionados.

Os procedimentos de exame e tratamento das crianças foram autorizados pelos pais ou responsáveis pelas mesmas.

Resultados

Analisando a evolução, após vinte dias, do embrionamento dos ovos de *A. lumbricoides* expostos previamente aos diversos produtos, podemos observar que apenas um dos produtos testados (Ds5) inibiu completamente o embrionamento, em todos os tempos de exposição e diluições utilizados (Tabela 2). Em relação aos demais produtos, tempos e diluições testados, os

resultados dos embrionamentos mostraram surpreendente variação percentual, sem, entretanto, haver inibição total. A análise dos resultados concentrou-se, portanto, nos grupos-testes expostos aos produtos puros, pelo tempo máximo de trinta minutos (Figura 1), condição em que se poderia esperar, teoricamente, maiores percentagens de inibição do embrionamento.

Analisando-se, ainda, os efeitos dos produtos quanto à inibição relativa do embrionamento nos grupos-testes, utilizando-se como valores de referência as percentagens de embrionamento dos controles (Figura 2), verificou-se que cinco produtos (Ds4, Dt6, Dt7, Dt8 e Dt15) causaram reduções de embrionamento maiores do que 50,0%, quando comparados com os respectivos controles. Seis produtos reduziram o embrionamento em menos do que 50,0% (Ds1, Ds2, Ds11, Dt12, Ds13 e Ds14); três produtos praticamente não causaram qualquer

Tabela 2

Porcentagem de embrionamento de ovos de *Ascaris lumbricoides* expostos a vários produtos, segundo o tempo de exposição, a diluição e o tipo do produto.

Produto	Diluição																Controle
	5 minutos				10 minutos				20 minutos				30 minutos				
	1:10	1:4	1:2	Puro	1:10	1:4	1:2	Puro	1:10	1:4	1:2	Puro	1:10	1:4	1:2	Puro	
Ds1	55	53	57	55	67	71	56	74	62	54	60	61	59	71	53	56	59
Ds2	39	42	44	36	35	38	38	42	34	40	38	46	39	42	41	41	64
Ds3	73	63	86	76	85	66	67	76	72	73	73	74	78	71	71	71	70
Ds4	15	16	13	16	12	12	11	14	6	6	8	10	8	9	9	5	21
Ds5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	64
Dt6	70	63	42	9	94	60	48	5	66	59	36	9	75	63	62	9	59
Dt7	43	55	50	27	29	38	39	43	34	46	44	32	24	38	44	32	71
Dt8	57	52	51	34	56	47	48	37	67	60	33	19	56	60	47	14	54
Ds9	25	56	55	53	52	59	68	83	43	69	78	79	67	60	74	75	52
Ds10	54	42	42	70	63	51	52	46	53	48	59	49	40	43	20	39	39
Ds11	25	25	27	29	26	25	24	26	15	13	15	18	18	21	19	16	31
Dt12	72	75	62	68	61	54	54	68	63	60	47	57	65	70	57	57	59
Ds13	67	60	54	59	60	55	58	48	60	60	64	57	50	65	68	58	61
Ds14	48	45	48	51	46	41	37	39	52	50	48	47	60	49	40	39	62
Dt15	31	37	31	33	35	35	31	30	28	23	28	24	30	32	8	3	43
Ds16	28	36	40	28	26	34	23	43	32	41	38	39	26	27	30	36	34

efeito sobre o embrionamento dos ovos (Ds3, Ds10, Ds16), enquanto em um produto (Ds9) o resultado revelou percentual de embrionamento superior ao do controle.

As diferenças entre as taxas de embrionamentos dos controles foram devidas à utilização de diferentes *pools* de ovos na preparação dos tubos-controles de cada produto.

Discussão e conclusões

Embora os produtos desinfetantes testados, em geral, não tragam a indicação de atividade ovicida para helmintos, podemos entender que esta propriedade esteja incluída no termo "germicida", referido em muitas embalagens.

Por outro lado, ainda que os produtos detergentes não tragam indicações de atividade germicida ou desinfetante, eles foram testados com base na observação de Freitas (1957), sobre a possível atividade ovicida dos detergentes.

Com exceção do produto Ds5, que produziu um efeito deletério absoluto sobre os ovos de *A. lumbricoides* em todas as diluições e tempos testados, os demais produtos não produziram o desejado efeito ovicida total. Fazendo-se uma análise comparativa dos produtos, com base nas suas composições químicas (Tabela 1), notou-se que o fator diferencial entre o Ds5 e os

demais produtos é a existência, em sua composição, da substância ativa *orto*-benzil *para*-clorofenol, fato que sugere ser esta a responsável pelo ótimo resultado obtido. Outros testes utilizando esta substância ativa isoladamente deverão ser realizados para que se possa esclarecer os resultados alcançados com este produto.

Os resultados dos produtos Ds4, Dt6, Dt7, Dt8 e Dt15 sugerem um certo grau de atividade inibidora do embrionamento dos ovos de *A. lumbricoides*, especialmente quando utilizados os produtos puros por tempo mais prolongado. No entanto, ensaios posteriores serão necessários para determinar se estes produtos serão capazes de inibir completamente o embrionamento dos ovos, aumentando-se o tempo de exposição. Deve-se destacar que o produto Dt15 não foi testado de acordo com o tempo de exposição indicado pelo fabricante (2 a 24 horas), devido a limitações metodológicas. Porém, na indicação do produto é recomendado o uso de uma solução de 2% a 5% e os testes foram realizados com soluções mais concentradas, até mesmo com o produto puro, pelo tempo de até trinta minutos.

Assim como os resultados de Morera (1986) e Zanini & Graeff-Teixeira (1995) com larvas de *A. costaricensis*, nossos resultados também mostraram que um meio acético não interfere na evolução dos ovos de *A. lumbricoides*; porém,

Figura 1

Porcentagem de embrionamento de ovos de *Ascaris lumbricoides* após exposição a vários produtos puros, durante trinta minutos.

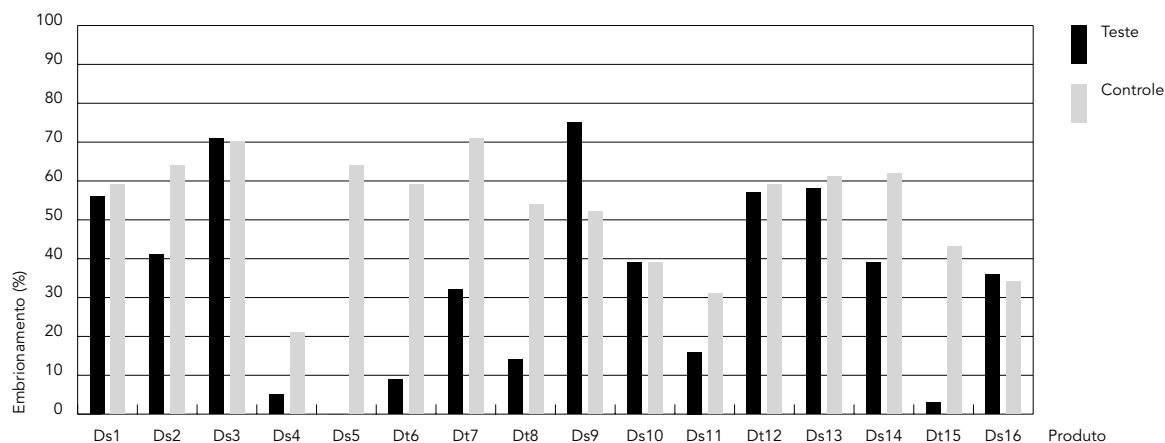
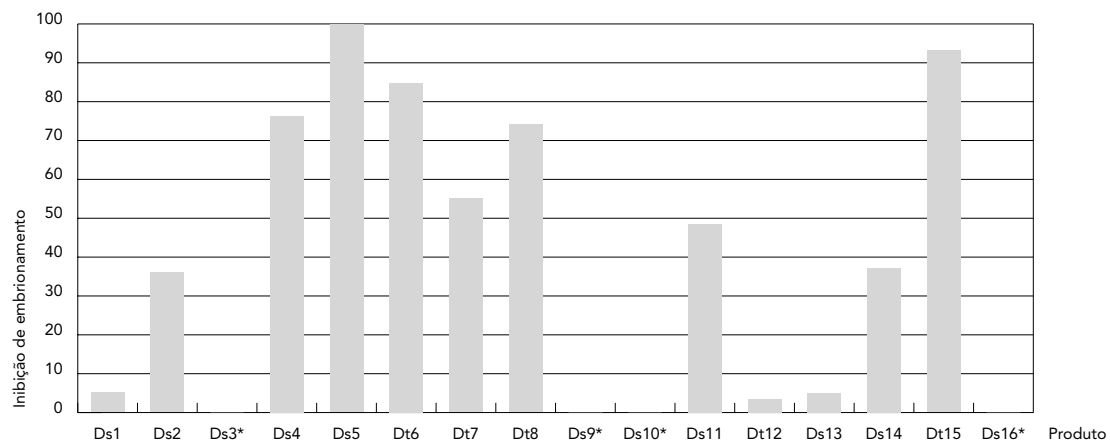


Figura 2

Porcentagem de redução do embrionamento de ovos de *Ascaris lumbricoides* após exposição a vários produtos puros, durante trinta minutos.



* Produtos que promoveram aumento do embrionamento, ao invés de redução.

diferentemente do que encontraram aqueles autores, a utilização do hipoclorito de sódio, no nosso trabalho, não interferiu no desenvolvimento embrionário dos ovos.

Outro fato importante a ser ressaltado, dentre os produtos que não mostraram atividade ovicida, é o resultado obtido com o Ds9, sugere-

rindo uma atividade estimuladora do embrionamento do ovos.

Considerando-se a importância de medidas preventivas das helmintoses intestinais em populações de regiões tropicais e subtropicais, sobretudo nos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, onde tais medidas constituem

um dos mais sérios problemas de saúde pública, os resultados do presente estudo permitem questionar as prescrições encontradas em muitos produtos desinfetantes comercializados no mercado nacional.

Estes resultados mostram, também, a necessidade de se reavaliarem os procedimentos de descontaminação de ambientes, utensílios e alimentos, quando se tem por objetivo prevenir a infecção por *A. lumbricoides*.

Agradecimentos

Os autores agradecem a José Geraldo Amorin da Silva pela ajuda técnica.

Referências

- AMARAL, A. D. F. & LEAL, R. A., 1940. Sobre o encontro de ovos viáveis de *Ascaris lumbricoides* e de *Trichuris trichiura* em adubo constituído de resíduos de esgoto. *Revista de Biologia e Higiene*, 11:35-39.
- CHAN, M. S.; MEDLEY, G. F.; JAMISON, D. & BUNDY, D. A. P., 1994. The evaluation of potential global morbidity attributable to intestinal nematode infections. *Parasitology*, 9, 373-387.
- COELHO, L. M. P. S.; SOBRINHO, T. A.; OLIVEIRA, S. M.; IKEGAMI, M. T.; YOSHIZUMI, A. M.; NAKAMOTO, A. Y. K.; BROTTTO, S. A.; FELBERG, S. & MAIORANO, M. R., 1999. Ovos e larvas de helmintos nos sanitários de pré-escolas municipais de Sorocaba, SP, e suas freqüências nas fezes das crianças. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 32:647-652.
- CROMPTON, D. W. T., 1989. Prevalence of ascariasis. In: *Ascariasis and its Prevention and Control* (D. W. T. Crompton, M. C. Nesheim & Z. S. Pawlowski, ed.), pp. 45-69, London: Taylor & Francis Ltd.
- FAIRBAIRN, D., 1961. The in vitro hatching of *Ascaris lumbricoides* eggs. *Canadian Journal of Zoology*, 39:153-162.
- FREITAS, M. G., 1957. Efeitos de alguns detergentes sobre o desenvolvimento dos ovos e larvas de *Stephanurus dentatus* Diesing, 1839 (Nematoda). *Arquivos da Escola Superior de Veterinária*, 10:225-249.
- GOULART, E. G.; JOURDAN, M. C.; HAHNSTADT, T. R. L.; JUNIOR, A. E.; BAR, M.; CARMO, A. C.; LATTARIO, C. V. & ZONI, J., 1984. Avaliação da eficiência do tratamento de esgotos da estação da Ilha do Governador sobre as formas infectantes e infestantes dos enteroparasitos. *A Folha Médica*, 89:9-13.
- GOULART, E. G.; BERNARDES, Y. S. M. T.; LIMA, S. M. E.; JESUS, M. M.; LUIZA, V. L.; ALMEIDA, E. T.; PICCOLI, N. J. & FERNANDES, S. R., 1985. Contaminação enteroparasitária nas águas praianas da Baía de Guanabara. *Revista Brasileira de Farmácia*, 66:62-66.
- KATZ, N.; CHAVES, A. & PELLEGRINO, J. A., 1972. Simple device for a quantitative stool thick smear technique in schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 14: 397-400.
- MASSARA, C. L., 1988. *Viabilidade de Ovos de Ascaris Lumbricoides Eliminados Após Terapêutica Anti-helmíntica*. Dissertação de Mestrado, Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.
- MASSARA, C. L.; COSTA, H. M. A.; SOUZA, D. W. C.; SOUZA, M. S. L. & CARVALHO, O. S., 1991. Viability of *Ascaris lumbricoides* eggs eliminated after anti-helminthic therapy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 86:233-237.
- MASSARA, C. L.; FERREIRA, R. S.; GUERRA, H. L. & CARVALHO, O. S., 2001. *In vitro* study on thiabendazole action on viability of *ascaris lumbricoides* eggs. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34:319-322.
- MORERA, P., 1986. Angiostrongilíasis abdominal: Transmisión y observaciones sobre su posible control. Control y erradicación de enfermedades infecciosas. In: Simposio Internacional OMS/OPS, *Resúmenes*, pp. 230-235, Série de Copublicaciones de la OPS 1, Washington, DC: Organización Panamericana de la Salud.
- PESSOA, S. B. & MARTINS, A. V., 1982. *Parasitologia Médica*. 11ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- ZANINI, G. M. & GRAEFF-TEIXEIRA, C., 1995. Angiostrongilíase abdominal: profilaxia pela destruição das larvas infectantes em alimentos tratados com sal, vinagre ou hipoclorito de sódio. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 28:389-392.

Recebido em 22 de fevereiro de 2002

Versão final reapresentada em 22 de maio de 2002

Aprovado em 11 de setembro de 2002