

INFECÇÃO VERTICAL EM CAMUNDONGOS BALB/c COM TOXOCAROSE CRÔNICA

AVILA, L.F.C.¹; AGUIAR, P.S.¹; TELMO, P.L.²; FURTADO, R.D.³; HERUZA ZOGBI³; MENDONÇA-SIGNORINI, V.⁴; BERNE, M.E.A.⁵; LAUZ, S.⁶; SILVA, P.E.A.⁶; SCAINI, C.J.^{7*}

INTRODUÇÃO

A síndrome da larva *migrans* visceral (LMV) é um importante problema de saúde pública, porém o número de casos registrados desta parasitose é subestimado devido à dificuldade da realização do diagnóstico clínico e por ser pouco conhecido pelos profissionais da área da saúde (ALDERETE *et al.*, 2003). Esta síndrome é caracterizada como resultado da migração e permanência de larvas de helmintos em tecidos de hospedeiros não habituais (BEAVER, 1969).

O principal agente etiológico da LMV é o nematóide *Toxocara canis*, parasito intestinal de cães, especialmente dos jovens (GLICKMAN *et al.*, 1979). Este ascarídeo realiza postura de ovos que são carregados com as fezes para o solo, onde se tornam infectantes, podem permanecer viáveis durante meses, devido à resistência das membranas que formam casca dos ovos (GLICKMAN & SCHANTZ, 1981; OVERGAAUW, 1997).

As crianças entre um e cinco anos de idade são mais susceptíveis à parasitose devido ao freqüente contato com o solo de praças e parques

¹ Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Universidade Federal do Rio Grande (FURG);

² Bióloga, Laboratório de Parasitologia – Departamento de Patologia (DPAT) - FURG;

³ Bolsista de Iniciação Científica, Laboratório de Parasitologia – DPAT / FURG;

⁴ Docente do Departamento de Patologia - FURG;

⁵ Departamento de Microbiologia e Parasitologia – Instituto de Biologia – Universidade Federal de Pelotas - UFPEL;

⁶ Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – FURG;

⁷ Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde; Laboratório de Parasitologia – Departamento de Patologia (DPAT) – Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Área Acadêmica do Hospital Universitário – FURG. Rua General Osório, S/N, CEP: 96.200-190, centro, Rio Grande, RS. cjscaini@yahoo.com.br

contaminados com ovos de *T. canis* (GLICKMAN & SCHANTZ, 1981; OLIVEIRA-SEQUEIRA *et al.*, 2002).

A ingestão de ovos embrionados de *T. canis* constitui-se na principal forma de infecção para os seres humanos (MAIZELS *et al.*, 2006; MIZGAJSKA & UGA, 2006). Entretanto, há indícios que quando a mulher se infecta durante a gravidez, pode ocorrer à transmissão de larvas para o feto e posterior desenvolvimento da forma neurológica da parasitose na criança (ANDERSON,1996). Em estudos experimentais, foi registrada a transmissão vertical em camundongos que foram infectados durante a gestação (LEE *et al.*, 1976). A parasitose está associada também a ocorrência de abortos em fêmeas infectadas durante o período de gestação, bem como na diminuição no tamanho da ninhada (REITEROVÁ *et al.*, 2003). Nas mulheres grávidas, também pode ocorrer danos à placenta devido à migração de larvas de *T. canis* (AKAO *et al.*, 1990).

O objetivo deste trabalho foi registrar a ocorrência da transmissão vertical de larvas de *T. canis* em camundongos Balb/c com toxocarose crônica.

METODOLOGIA

Incubação de ovos de *Toxocara canis* e infecção experimental

Cães com idade entre quatro e oito semanas foram tratados com pamoato de pirantel para a obtenção de formas adultas de *Toxocara*. A seguir, foi realizada a identificação específica, sexagem e coleta de ovos dos tubos uterinos das fêmeas. Os ovos foram incubados em solução de formalina 2%, a 28°C, com aerações diárias, durante 30 dias.

Após, sete camundongos Balb/c fêmeas, com idade entre quatro e sete semanas, foram inoculadas por gavagem com 1.200 ovos embrionados.

Acasalamento

As sete fêmeas com 60 dias de infecção (fase crônica) foram acasaladas e mantidas em gaiolas individuais. As ninhadas permaneceram com as mães até o desmame (21º dia de vida), e após foram mantidas no biotério até que completassem 60 dias de vida.

Recuperação de larvas de *Toxocara canis*

Para confirmação da infecção materna foi realizada a pesquisa de larvas de *T. canis* em fragmentos de tecidos encefálicos entre duas lâminas de vidro (aumento de 100x), de acordo com a metodologia empregada por NUNES (1996). A mesma metodologia foi utilizada para investigação da ocorrência de transmissão vertical, sendo examinados tecidos encefálicos da prole com 60 dias de idade.

A manutenção e o manuseio dos animais seguiram os princípios éticos em pesquisa com animais de experimentação (COBEA, 2008).

RESULTADOS

Na Tabela 1, pode ser observado o número de mães e filhotes positivos para *T. canis*. Neste estudo, foi registrada a ocorrência da

transmissão vertical de larvas de *T. canis* em 19,6% (10/51) dos camundongos nascidos de fêmeas acasaladas 60 dias após a infecção experimental (fase crônica). O número médio das ninhadas foi de 7,2 animais.

Ninhadas	Mães	Nº de filhotes	Nº de filhotes positivos	%
A	+	09	01	11,1
B	+	07	01	14,3
C	+	05	01	20,0
D	+	07	01	14,3
E	+	08	01	12,5
F	+	09	02	22,2
G	+	06	03	50,0
Total	+	51	10	19,6

Tabela 1 – Positividade para larvas de *Toxocara canis* no tecido encefálico de camundongos Balb/c fêmeas com infecção crônica, e percentual de filhotes positivos.

DISCUSSÃO

A transmissão vertical por larvas de *T. canis* foi confirmada em todas as ninhadas de camundongos Balb/c, oriundas de mães com toxocarose crônica, ou seja, acasaladas com 60 dias de infecção.

Apesar da pesquisa de larvas de *T. canis* ter sido realizada apenas em fragmentos encefálicos das proles e das progenitoras (NUNES, 1996), não sendo realizadas técnicas de digestão tecidual de outros órgãos e da musculatura estriada esquelética (REITEROVÁ *et al.*, 1995; WANG & LUO, 1998), foi observada alta frequência (19,6%) da transmissão vertical.

Vários estudos foram realizados visando demonstrar a possível transmissão vertical em modelos experimentais, sendo utilizados camundongos infectados durante o período de gestação (OSHIMA, 1961; LEE *et al.*, 1976; REITEROVÁ *et al.*, 2003) e/ou de lactação (OSHIMA, 1961; TELMO, 2006), reproduzindo a fase aguda da infecção. Já no presente trabalho, foi estudada e registrada a transmissão vertical em animais com infecção crônica.

Os resultados do presente estudo estão de acordo com os achados de SCHOENARDIE (2002), que registrou a transmissão vertical nas três primeiras ninhadas de camundongos Balb/c, infectados por via intraperitoneal. Nestes dois trabalhos, não foi possível determinar se a infecção ocorreu por via transplacentária ou via transmamária. Entretanto, no presente estudo, os animais foram infectados por gavagem, simulando o que geralmente ocorre na infecção humana, pela ingestão de ovos embrionados (MAIZELS *et al.*, 2006; MIZGAJSKA & UGA, 2006).

CONCLUSÕES

Diante da ocorrência da transmissão vertical por larvas de *T. canis*, em modelos experimentais da toxocarose humana, torna-se importante investigar a ocorrência deste modo de transmissão em diferentes hospedeiros, incluindo a espécie humana, visando uma maior atenção para o diagnóstico desta parasitose em gestantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKAO, N.; DESOWITZ, R. S.; KONDO, K. Decrease in litter size of female mice with *Toxocara canis*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, vol 84, 1990.
- ALDERETE, J. M. S.; JACOB, C. M. A.; PASTORINO, A. C.; ELEFANT, G. R.; CASTRO, A. P. M.; FOMIN, A. B. F.; CHIEFFI, P.P. Prevalence of toxocara infection in Schoolchildren from the Butantã Region, São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, vol 98, n 5, 2003.
- ANDERSON, B. C. Warning about potencial for congenital neural larva migrans. *JAVMA*, vol 208, n 2, 1996.
- BEAVER, P. C. The nature of visceral larva migrans. *The Journal of Parasitology*, vol 55, n 1, 1969.
- COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Acesso em: www.cobea.org.br Disponível em: junho de 2008.
- GLICKMAN, L. T.; SCHANTZ, P. M.; CYPESS, R. H. Canine and Human toxocariasis: Review of transmission, pathogenesis, and clinical disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* vol 175, n 12, 1979.
- GLICKMAN, L. T. & SCHANTZ, P. M. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. *Epidemiological Reviews*, vol 3, 1981.
- LEE, K.; MIN, H.; SOH, C. Transplacental migration of *Toxocara canis* larvae in experimental infected mice. *The Journal of Parasitology*, vol 62, n 3, 1976.
- MAIZELS, R. M.; SCHABUSSOVA, I.; CALLISTER, D, M,; NICOLL, G. Molecular biology and immunology of *Toxocara canis*. *Toxocara .The Enigmatic Parasite*, UK: Cabi Publishing, 2006.
- MIZGAJSKA, H.; UGA, S. Exposure and Environmental contamination in: *The Enigmatic Parasite*, UK: Cabi Publishing, 2006.
- NUNES, C. M. Imunodiagnóstico da larva migrans visceral através de um método de Elisa indireto competitivo. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo, 1996.

OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G.; AMARANTE, A. F. T.; FERRARI, T. B.; NUNES, L. C. Prevalence of intestinal parasites in dogs from São Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, vol 103, 2002.

OVERGAAUW, P. A. M. Aspects of *Toxocara* Epidemiology: Toxocarosis in dogs and cats. *Critical Reviews in Microbiology*, vol 23, n 3, 1997.

OSHIMA, T. Influence of pregnancy and lactation on migration of the larvae of *Toxocara canis* in mice. *The Journal of Parasitology*, vol 47, n 4, 1961.

REITEROVÁ, K.; TOMASOVICOVÁ, O.; DUBINSKY, P. Effect of various doses of infective *Toxocara canis* and *Toxocara cati* eggs on the humoral response and distribution of larvae in mice. *International Journal for Parasitology*, vol 29, 1995.

REITEROVÁ, K.; TOMASOVICOVÁ, O.; DUBINSKY, P. Influence of maternal infection on offspring immune response in murine larval toxocarosis. *Parasite Immunology*, vol 25, 2003.

SCHOENARDIE, E.R. *Larva migrans Visceral na prole de fêmeas de camundongos BALB/c infectadas experimentalmente com larvas de Toxocara canis*. (Monografia – Graduação em Ciências Biológicas) Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2002.

TELMO, P.L. Investigação da fase inicial da infecção por *Toxocara canis* e da infecção transmamária em camundongos, modelos experimentais da toxocarose humana. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, 2006.

WANG, G. X.; LUO, Z. J. A novel method for the recovery of *Toxocara canis* in mice. *J. Helminthol.*, vol 72, 1998.