

Estudo experimental acerca da transmissão vertical de *Toxocara cati* em *Mus musculus*

Experimental study on vertical transmission of *Toxocara cati* larvae in *Mus musculus*

João Victor Luisi de Moura^{1*}, Sérgio Vieira dos Santos², João Manoel de Castro³, Pedro Paulo Chieffi^{1,2}

Resumo

Com o objetivo de verificar possível ocorrência de transmissão vertical de larvas de *Toxocara cati* em hospedeiros paratênicos empregaram-se 24 fêmeas e 6 machos de *Mus musculus*, com 10 semanas de idade, divididos em três grupos, assim constituídos: G1 – 8 fêmeas, acasaladas com 2 machos e infectadas com 300 ovos de *T. cati* no quinto dia após acasalamento; G2 – 8 fêmeas infectadas com 300 ovos de *T. cati* e acasaladas com 2 machos 60 dias após infecção; G3 – 8 fêmeas não infectadas e acasaladas com 2 machos. Poucos dias antes do nascimento dos filhotes as fêmeas prenhes foram anestesiadas para retirada da ninhada. A placenta e os filhotes foram examinados, após digestão ácida dos tecidos, para pesquisa de larvas de *T. cati*. Apenas em dois casos, no grupo acasalado após cronificação da infecção (G2) foram encontradas larvas do ascarídeo na placenta e nos tecidos dos filhotes.

Descritores: *Toxocara*, Camundongos, Transmissão vertical de doença infecciosa

Abstract

In order to check the possible occurrence of vertical transmission of *Toxocara cati* larvae in paratenic hosts 24 females and 6 males of *Mus musculus* were employed, divided in three groups, as follow: G1 – 8 females mated with 2 males and infected with 300 eggs of *T. cati* on the fifth day after mating; G2 – 8 females infected with 300 eggs of *T. cati* and

mated with 2 males 60 days after infection; G3 – 8 females mated with 2 males and maintained uninfected. A few days before the birth of the litter pregnant females were anesthetized for litter removal. The placenta and issues of litters were examined, after acid digestion of tissues, to search for larvae of *T. cati*. Only in two cases, in the group mated after chronicity of infection (G2) ascarid larvae were found in the placenta and, as well, in litter tissues.

Keywords: *Toxocara*; Mice; Infectious disease transmission, vertical

Introdução

Com a descrição da síndrome de larva migrans visceral (LMV) por Beaver et al⁽¹⁾, em 1952, a identificação de ascarídeos do gênero *Toxocara* como os principais agentes etiológicos dessa síndrome e a conceituação de hospedeiros paratênicos, aumentou muito o interesse no estudo da história natural desses helmintos. Surgiram, desde então, inúmeros estudos acerca de *Toxocara canis*, abordando aspectos diversos de sua biologia e relações hospedeiro-parasita, tanto na infecção de canídeos, como no parasitismo de seres humanos e outros vertebrados que podem atuar como hospedeiros paratênicos⁽²⁻⁶⁾.

Toxocara cati, ascarídeo cujos hospedeiros naturais são felídeos e cujas larvas também podem estar envolvidas na etiologia da LMV em seres humanos, surpreendentemente recebeu menos atenção⁽⁷⁾, existindo ainda muitas lacunas no conhecimento acerca de sua história natural.

Vários mecanismos são responsáveis pela manutenção de infecções naturais de cães e gatos, respectivamente por *T. canis* e *T. cati*. Além da ingestão de ovos embrionados, eliminados por animais infectados, que contaminam o solo, no cão larvas de *T. canis* podem ser transferidas pelas vias transplacentária e transmamária⁽⁸⁾. No caso de *T. cati*, todavia, a via transplacentária não ocorre, segundo a maioria dos autores, persistindo apenas a via transmamária^(7,9). Coati et al⁽¹⁰⁾, entretanto, observaram esporádica ocorrência de transmissão vertical de larvas de *T. cati* em gatos experimentalmente infectados.

1. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo *Bolsista de Iniciação Científica (PIBIC-CNPq)

2. Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (LIM 06)

3. Prefeitura Municipal de São Paulo - COVISA/Supervisão de Vigilância em Saúde (SUVIS) – Vila Maria/Vila Guilherme

Trabalho realizado: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Departamento de Ciências Patológicas. Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.

Prefeitura Municipal de São Paulo - COVISA/Supervisão de Vigilância em Saúde (SUVIS) – Vila Maria/Vila Guilherme

Endereço para correspondência: Pedro Paulo Chieffi. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Departamento de Ciências Patológicas. Rua Dr. Cesário Mota Jr, 112 – Santa Cecília. 01221-020 – São Paulo – SP – Brasil - Fone: 3226.7499

Em hospedeiros paratênicos a transmissão transmamária de *T. canis* tem sido encontrada com frequência^(8,11,12); entretanto, a migração intra-uterina foi observada somente de forma esporádica⁽¹²⁾. Apesar da ingestão de ovos larvados de *Toxocara* e a ingestão de carnes e vísceras cruas de hospedeiros paratêmicos^(5,6,13) constituírem as principais formas de infecção para seres humanos, existem indícios de que, quando a mulher se infecta durante a gestação, poderia ocorrer transmissão de larvas para o feto, ocasionando a forma neurológica da parasitose na criança⁽¹⁴⁾.

Diversos trabalhos mostram a transmissão de larvas de *T. canis* das fêmeas de camundongos para sua prole por meio do leite, porém não há na literatura atual, estudos mostrando a passagem de larvas de *Toxocara cati* via transmamária e transplacentária em *Rattus norvegicus*.

O presente trabalho insere-se em linha mais ampla de pesquisa que visa estudar as relações hospedeiro-parasita na infecção experimental de roedores por *T. canis* ou *T. cati*, que já resultou em diversas publicações^(4,15-17). Seu objetivo imediato é verificar a possível ocorrência de transmissão vertical de larvas de *T. cati* em *Mus musculus*, nas fases aguda e crônica da infecção.

Metodologia

Animais

Foram utilizados 24 fêmeas e 6 machos de *Mus musculus*, cepa linhagem Balb/c, com 10 semanas. Os animais foram mantidos no Biotério do Departamento de Parasitologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, em gaiolas apropriadas e ambiente com variação de regime claro-escuro a cada 12 horas e temperatura controlada, com água e alimentação *ad libitum*. A manutenção e o manuseio dos animais seguiram os princípios éticos em pesquisa com animais de experimentação.

Isolamento e maturação dos ovos de *T. cati*

Os ovos, recuperados do útero de fêmeas adultas de *T. cati*, cedidas gentilmente pelo Centro de Controle de Zoonoses de Guarulhos, foram isolados em formalina a 2% em estufa, à temperatura de 28°C por aproximadamente 28 a 30 dias, período necessário para sua evolução até fase infectante.

Infecção dos animais e desenho experimental

Os exemplares de *M. musculus* foram divididos em três grupos: G1 - infecção aguda; G2 - infecção crônica e G3 - controle. Os grupos G1 e G2 foram infectados

por via oral (gavagem), com 300 ovos infectantes de *T. cati*, 5 dias após o acasalamento (infecção aguda) ou acasalados 60 dias após a infecção (infecção crônica), respectivamente.

Poucos dias antes dos filhotes nascerem, as fêmeas prenhes foram anestesiadas para retirada dos neonatos. A confirmação da infecção transplacentária se fez pela pesquisa de larvas nos órgãos e tecidos da prole e na placenta utilizando técnica de digestão ácida em HCl 2% à 37°C, conforme descrito por Xi, Jin (1998)⁽¹⁸⁾. A anestesia dos animais foi realizada por aplicação intraperitoneal com associação de cetamina (75mg/kg de peso) e xilazina (5 mg/kg de peso).

Aspectos éticos

O protocolo experimental foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

Resultados

Foram avaliados 45 filhotes, sendo 31 provenientes de fêmeas com infecção aguda e 14 de fêmeas com infecção crônica.

No grupo com infecção aguda (G1) não se evidenciou a presença de larvas de *T. cati* nas placentas examinadas, nem no sedimento resultante da digestão de órgãos e tecidos retirados dos neonatos. Resultado semelhante foi obtido no grupo controle (G3), não infectado. No caso do grupo de camundongos com infecção crônica (G2) encontraram-se larvas de *T. cati*, em pequena quantidade, na placenta de duas fêmeas e nos órgão e tecidos de dois neonatos de fêmeas diferentes.

Discussão

A evidente diferença entre o cabedal de conhecimentos acerca da história natural e biologia de *T. canis* e *T. cati* tem chamado atenção de alguns pesquisadores^(7,10) sem, contudo, aparentemente incrementar o interesse pelo estudo dessa última espécie de ascarídeo. Assim, a quantidade de artigos já publicados acerca dos mais variados aspectos da binomia *T. canis* e seus hospedeiros naturais ou paratênicos suplanta em muito o número de artigos que abordam os mesmos aspectos relativos a *T. cati*. Suspeita-se, entretanto, que em hospedeiros paratênicos⁽¹⁹⁾, incluindo seres humanos, larvas de *T. cati* possam estar, com mais frequência, envolvidas na ocorrência de casos de larva migrans ocular.

A transmissão transplacentária é uma forma de transferência de larvas de *Toxocara* entre hospedeiros

naturais inequivocamente demonstrada em *T. canis* (5,6,8,20) e que parece ocorrer com menor frequência entre hospedeiros paratênicos^(12,14). No caso de infecções por *T. cati*, entretanto, tanto entre hospedeiros naturais como em paratênicos, a passagem transplacentária de larvas parece ser eventualidade muito rara, sem expressão do ponto de vista epidemiológico⁽⁷⁾.

No presente trabalho procurou-se verificar a ocorrência de passagem transplacentária de larvas de *T. cati* nas fases aguda e crônica de infecção experimental. Nas condições prevalentes no experimento – infecção única com 300 ovos larvados administrados por via oral – não se observou presença de larvas do ascarídeo na placenta ou nos fetos quando a pesquisa foi efetuada em fase aguda da infecção. Entretanto, quando o acasalamento ocorreu 60 dias após a infecção experimental, período compatível com fase crônica da infecção, encontraram-se larvas de *T. cati* tanto na placenta como em fetos de duas fêmeas de *M. musculus* entre as oito que constituíam esse grupo experimental.

No presente estudo não foi efetuada recuperação de larvas de tecidos e órgãos das fêmeas, apenas verificou-se a presença ou não de larvas na placenta e em seus filhotes. Esses dados sugerem que, embora pouco frequente, a passagem transplacentária de larvas de *T. cati* pode acontecer, especialmente quando a gestação ocorrer durante fase crônica da infecção. É provável que o padrão de migração de larvas de *T. cati* nos tecidos e órgãos de roedores, diferente do observado com larvas de *T. canis*, conforme mostraram Santos et al⁽²¹⁾, seja responsável por esses achados. Em próximo experimento pretende-se efetuar contagem de larvas presentes nas fêmeas e nos filhotes, além de utilizarem-se quantidades variáveis de ovos de *T. cati* nos inóculos experimentais.

Tais resultados assemelham-se aos obtidos, ao estudarem transmissão transplacentária de *T. cati* em felídeos, os hospedeiros naturais desse ascarídeo, por outros autores^(9,10). A repetição do experimento utilizando maior número de animais e com quantidade mais elevada de ovos inoculados, além do emprego de infecções repetidas, poderá fornecer resultados mais consistentes, permitindo avaliar de forma mais segura o papel desse tipo de transmissão em condições naturais.

Referências Bibliográficas

1. Beaver PC, Snyder CH, Carrera GM, Dent JH, Lafferty JW. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. *Pediatrics*. 1952; 9:7-19.
2. Barriga OO. A critical look at the importance, prevalence and control of toxocaríasis and the possibilities of immunological control. *Vet Parasitol*. 1988; 29:193-234.
3. Chieffi PP, Del Guercio VM, Ueda M, Mello LB. Importância de *Rattus norvegicus* capturados no município de São Paulo, SP, Brasil, como hospedeiros paratênicos de *Toxocara canis* (Ascaroidea, Nematoda). *Rev Inst Adolfo Lutz*. 1981; 41:89-91.
4. Chieffi PP, Aquino RTR, Paschoalotti MA, Ribeiro MCSA, Nasello AG. Muscular strength decrease in *Rattus norvegicus* experimentally infected by *Toxocara canis*. *Rev Inst Med Trop S.Paulo*. 2009; 51:73-5.
5. Despommier D. Toxocaríasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology and molecular aspects. *Clin Microbiol Rev*. 2003; 16:265-72.
6. Schantz PM. *Toxocara* larva migrans now. *Am J Trop Med Hyg*. 1989; 41 (Suppl 3.):21-34.
7. Fisher M. *Toxocara cati*: an underestimated zoonotic agent. *Trends Parasitol*. 2003;19:167-70.
8. Tomasovicová O, Havasióvá-Reiterová K, Dubinsky P, Hovorka I. Intrauterine and lactogenic transfer of *Toxocara canis* larvae in paratenic hosts. *Helminthologia*. 1993; 30:111-3.
9. Sprent JFA. The life history and development of *Toxocara cati* (Schränk 1788) in the domestic cat. *Parasitology*. 1956; 46:54-78.
10. Coati N, Schnieder T, Epe C. Vertical transmission of *Toxocara cati* Schränk 1788 (Anisakidae) in the cat. *Parasitol Res*. 2004; 92:142-6.
11. Reiterová K, Tomasovicová O, Dubinsky P. Influence of maternal infection on offspring immune response in murine larval toxocaríasis. *Parasite Immunol*. 2003; 25:361-8.
12. Taylor MRH, O'Connor P, Hinson AR, Smith HV. *Toxocara* titres in maternal and cord blood. *J Infect*. 1996; 32:231-3.
13. Yoshikawa M, Nishiofuku M, Moriya K, Oujii Y, Ishizaka S, Kasahara K, et al. A familial case of visceral toxocaríasis due to consumption of raw bovine liver. *Parasitol Int*. 2008; 57:525-9.
14. Anderson BC. Warning about potential for congenital neural larva migrans. *J Am Vet Med Assoc*. 1996; 208:185.
15. Chieffi PP, Queiroz ML, Mehlmann F, Paschoalotti MA, Lescano SAZ. Recovering of *Toxocara canis* eggs from samples of experimentally contaminated soil. *Rev Inst Med Trop S.Paulo*. 2008; 50:361-2.
16. Lescano SAZ, Chieffi PP, Ikai DK, Ribeiro MCSA. Efeitos da ciclosporina A e betametasona na toxocaríasis murina experimental. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2004a; 37:22-4.
17. Lescano SAZ, Queiroz ML, Chieffi PP. Larval recovery of *Toxocara canis* in organs and tissues of experimentally infected *Toxocara canis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004b; 99:627-8.
18. Xi WG, Jin LZ. A novel method for the recovery of *Toxocara canis* in mice. *J Helminth* 1998; 72:183-4.
19. Akao N, Takayanagi TH, Suzuki R, Tsuridate S, Fujita K. Ocular larva migrans caused by *Toxocara cati* in Mongolian gerbils and a comparison of ophthalmologic findings with those produced by *T. canis*. *J Parasitol*. 2000; 86:1133-5.
20. Overgaaeuw PAM. Aspects of *Toxocara* epidemiology: toxocarosis in dogs and cats. *Crit Rev Microbiol*. 1997; 23: 233-51.
21. Santos SV, Lescano SZ, Castro JM, Chieffi PP. Larval recovery of *Toxocara cati* in experimentally infected *Rattus norvegicus* and analysis of the rat as potential reservoir for this ascarid. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009, 104: 933-4.

Trabalho recebido: 26/09/2011

Trabalho aprovado: 24/11/2011