

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO IVERMECTIN NA LARVA MIGRANS MURINA EXPERIMENTAL

Miguel Alípio Vieira*, Andréa Caetano Silva*,
Lindomar Guedes Freire Filha**, Carlos Augusto Lopes Barbosa*,
Dulcinéa Maria Barbosa Campos*

RESUMO

Foram empregados 68 camundongos isogênicos da linhagem C57BL/6, divididos em 5 grupos. Grupos I, II e III com 18, 10 e 10 animais, tratados com Ivermectin nas dosagens de 200, 400 e 800 ug/kg, respectivamente e grupos IV e V, com 20 e 10 animais não tratados (grupos controle). Cada animal foi inoculado oralmente com 10^3 ovos de *Toxocara canis*, empregando-se uma sonda esofágiana. O material utilizado como inóculo foi obtido por dissecação de exemplares fêmeas do parasito, mantido em solução de formol a 1%, por um período de 40 dias, até a obtenção do estágio infectante. O Ivermectin, diluído em propilenoglicol, foi administrado por via subcutânea, no 8º dia após inoculação (DAI). Todos os animais foram necropsiados no 23º DAI, sendo examinados cérebro e olhos através da técnica de compressão entre lâminas. Entre os animais tratados nas concentrações de 200, 400 e 800 ug/kg foram observados níveis de eficácia de 54,02%, 54,76% e 55,44%, respectivamente. Apesar do pequeno número de animais empregados, pode-se inferir que os esquemas terapêuticos utilizados neste experimento foram ineficazes no tratamento da larva migrans murina experimental.

UNITERMOS: Larva migrans visceral, *Toxocara canis*, Ivermectin

INTRODUÇÃO

Os agentes responsáveis pela síndrome "Larva migrans visceral" humana incluem ascarídeos de cães e gatos, sendo o *Toxocara canis* a espécie considerada

* Prof.º do Dept.º de Parasitologia - IPTSP/UFG.

** Aluna de Pós-Graduação - IPTSP/UFG.

VIEIRA, M. A.; SILVA, A. C.; FREIRE FILHA, L. G.; BARBOSA, C. A. L. & CAMPOS, D. M. B. Avaliação da eficácia do Ivermectin na larva *Migrans Murina* experimental. Rev. Pat. Trop., 22(1):1-8, jan./jun. 1993.

de maior importância, não só pela incidência mais elevada, mas também, pelo maior tempo de sobrevivência nos tecidos^{4,5}.

A gravidade do quadro clínico humano depende do número de larvas invasoras e da resposta imune do organismo acometido⁵, embora a maioria dos casos seja considerada assintomática. O quadro compreende hipereosinofilia sanguínea, leucocitose, hepatomegalia, podendo haver comprometimento pulmonar, do sistema nervoso central^{4,6} e, também, ocular¹¹.

Em Goiás, CAMPOS et al (1990) analisando uma amostra de 268 soros humanos, através do método de ELISA, encontraram uma positividade de 19,7%^{8,9}.

Várias linhagens de camundongos têm sido utilizadas como modelo experimental para testes de eficácia de drogas na larva migrans visceral^{1,3,10,12}.

Ainda não existe um esquema terapêutico eficaz no tratamento da larva migrans visceral. O tiabendazol e o albendazol são as drogas utilizadas^{3,10,12}.

Alguns autores reportam que, entre as drogas empregadas no tratamento da larva migrans visceral, o tiabendazol apresenta pouca ou nenhuma ação larvicida. Admitem, ainda, que a melhora clínica muitas vezes observada em humanos, após tratamento com essa droga, possa ser atribuída às suas propriedades anti-inflamatórias e analgésicas, mais do que à sua ação larvicida².

O Ivermectin tem se mostrado ativo contra uma grande variedade de nematódeos de bovinos⁷. Apresenta um amplo espectro de ação e é ativo contra várias espécies parasitas de animais domésticos. Alguns pesquisadores têm empregado atualmente esse medicamento em parasitoses humanas^{3,7}.

Na toxocaríase murina experimental, o Ivermectin foi pouco eficaz na redução de larvas no fígado. Atribui-se essa baixa eficácia à dosagem e via de administração¹⁰.

Há um consenso no que diz respeito à ineficácia do tratamento dessa parasitose, especialmente quanto à dificuldade de se estabelecer critérios de cura no homem.

Em vista dos aspectos controvertidos quanto à ação e à baixa eficácia dos derivados benzimidazólicos no tratamento da larva migrans visceral, avaliou-se a eficácia do Ivermectin, nas dosagens de 200, 400 e 800ug/kg, por via subcutânea, sobre larvas de *Toxocara canis* em camundongos experimentalmente infectados.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 68 camundongos isogênicos da linhagem C57BL/6, machos e fêmeas, com aproximadamente 45 dias de idade, provenientes do Biotério do Departamento de Parasitologia do IPTSP/UFG.

VIEIRA, M. A.; SILVA, A. C.; FREIRE FILHA, L. G.; BARBOSA, C. A. L. & CAMPOS, D. M. B. Avaliação da eficácia do Ivermectin na larva *Migrans Murina* experimental. Rev. Pat. Trop., 22(1):1-8, jan./jun. 1993.

Todos os animais foram previamente controlados quanto a uma possível infecção natural por helmintos.

Inóculo

Fêmeas grávidas de *T. canis*, recuperadas do intestino delgado de cães, foram abertas e retiradas as alças uterinas contendo ovos. Estes foram colocados em placas de Petri, contendo solução de formol a 1% e incubadas por um período de 40 dias, à temperatura ambiente, para obtenção do estágio infectante.

Após este período, os ovos larvados foram transferidos para tubos de centrífuga graduados, os quais foram homogeneizados e retiradas cinco alíquotas de 0,01ml da suspensão, que foram examinadas entre lâmina e lamínula, em microscópio óptico. Os ovos infectantes foram contados e a média das cinco contagens determinou a concentração do ovos/ml.

Infecção dos animais

A infecção individual de todos os animais foi feita por via oral, através de sonda esofágica, introduzida diretamente no estômago. A dose média utilizada foi de 10³ ovos de *T. canis*/animal.

Tratamento

Os animais foram divididos em cinco grupos e submetidos aos seguintes tratamentos com Ivermectin:

- Grupo I - 18 animais (200 ug/kg);
- Grupo II - 10 animais (400 ug/kg);
- Grupo III - 10 animais (800 ug/kg);
- Grupo IV - 20 animais (Controle, não tratado);
- Grupo V - 10 animais (Controle, não tratado).

O medicamento foi diluído em propilenoglicol, administrado por via subcutânea, oito dias após a inoculação (DAI).

VIEIRA, M. A.; SILVA, A. C.; FREIRE FILHA, L. G.; BARBOSA, C. A. L. & CAMPOS, D. M. B. Avaliação da eficácia do Ivermectin na larva *Migrans Murina* experimental. Rev. Pat. Trop., 22(1):1-8, jan./jun. 1993.

Necropsia e pesquisa de larvas

Todos os animais foram necropsiados e examinados no 23º DAI. Retirados do cérebro e os olhos, estes foram comprimidos entre duas lâminas, examinados em microscópio óptico e contadas as larvas.

Os grupos tratados foram comparados com os grupos controles (Grupo I com Grupo IV e Grupos II e III com o Grupo V).

Avaliação da eficácia

A avaliação da eficácia foi feita pela comparação da média de larvas obtidas à necropsia do grupo controle, com a média de larvas do grupo tratado, aplicando-se a fórmula:

$$E\% = \frac{XLC - XLT}{XLC} \times 100$$

E% = percentual de eficácia

XLC = média de larvas recuperadas no grupo controle

XLT = média de larvas recuperadas no grupo tratado

RESULTADOS

Os resultados da pesquisa de larvas no cérebro e olhos de camundongos infectados com ovos de *T. canis*, dos grupos tratados e o percentual de eficácia do medicamento nas concentrações de 200, 400 e 800 ug/kg, são apresentados na TAB.1. Os resultados dos grupos controle estão apresentados na TAB.2.

VIEIRA, M. A.; SILVA, A. C.; FREIRE FILHA, L. G.; BARBOSA, C. A. L. & CAMPOS, D. M. B. Avaliação da eficácia do Ivermectin na larva *Migrans Murina* experimental. Rev. Pat. Trop., 22(1):1-8, jan./jun. 1993.

Tabela 1 – Número de larvas recuperadas no cérebro e olhos de três grupos de camundongos, inoculados com 10^3 ovos de *T. canis*, tratados com Ivermectin e necropsiados no 23º dia após inoculação.

Grupo	Número de animais	Número total de larvas	Dosagem da droga (ug/kg)	Eficácia (%)
I	18	252	200	54,02
II	10*	133	400	54,76
III	10**	131	800	55,44

* – 3 animais apresentaram larva migrans ocular (LMO)

** – 2 animais apresentaram LMO

Tabela 2 – Número de larvas recuperadas no cérebro e olhos de camundongos dos grupos controle, inoculados com 10^3 ovos de *T. canis* e necropsiados no 23º dia após inoculação.

Grupo	Número de animais	Número total de larvas recuperadas
IV	20	609
V	10	294

DISCUSSÃO

CARRILLO e BARRIGA (1987), examinando fígado, pulmão, carcaça e cérebro de camundongos infectados com ovos de *T. canis* e necropsiados 33 DAI, verificaram que 96,07% das larvas se concentravam no cérebro, por esta razão foi este o órgão de escolha para a avaliação da eficácia do Ivermectin.

Apesar da baixa ocorrência e, geralmente, da unilateralidade dos casos de larva migrans ocular (LMO) reportada por alguns autores^{13,14}, verificou-se neste

VIEIRA, M. A.; SILVA, A. C.; FREIRE FILHA, L. G.; BARBOSA, C. A. L. & CAMPOS, D. M. B. Avaliação da eficácia do Ivermectin na larva Migrans Murina experimental. Rev. Pat. Trop., 22(1):1-8, jan./jun. 1993.

experimento a ocorrência de LMO em 20 e 30% dos camundongos dos grupos tratados com 800 e 400 ug/kg, respectivamente. Destes, um caso foi de LMO bilateral.

A via de administração do medicamento e a duração do tratamento parecem não interferir na eficácia, pois baixas eficácias foram também observadas por outros autores^{1,10}, em camundongos, utilizando a via intramuscular e tratamentos com duração de até 13 dias consecutivos, em doses de 200 e 400 ug/kg.

Nenhum dos tratamentos forneceu uma eficácia satisfatória, mesmo com a utilização de doses superiores à recomendada pelo fabricante para animais domésticos (220 ug/kg).

Apesar do pequeno número de animais utilizados neste experimento, pode-se inferir que a semelhança na eficácia observada nas diversas doses do produto utilizadas, demonstra que os esquemas terapêuticos empregados, mesmo em doses elevadas, não devem ser o de escolha no tratamento da larva migrans visceral murina.

SUMMARY

Efficacy of Ivermectin in experimental visceral larva migrans of mice

Sixty-eight inbred mice C57BL/6 were orally infected with 10³ embryonated eggs of *Toxocara canis* to evaluate the effect of different doses of Ivermectin. Groups I(n=18), II(n=10) and III(n=10) were treated with 200, 400 and 800 ug of Ivermectin, respectively, and Groups IV(n=20) and V(n=10) were controls. The *T. canis* eggs were obtained from the proximal uterus of pregnant parasites, and were incubated at room temperature in 1% of formaldehyde for 40 days, in order to obtain infective embryonated eggs. Ivermectin was administered to the experimental group by subcutaneous route after dilution in propilenoglicol, eight days after inoculation. All animals were euthanatized 23 days after inoculation, at which time samples of brain and eyes tissues were histologically examined by means of vitropressure using normal light microscopy (for parasitological evaluation). Efficacy was 54.02%, 54.76% and 55.44% for treated groups with 200, 400 and 800 ug of Ivermectin, respectively. Despite of the small sample size of the experimental groups, the present data support that the treatment regimens of Ivermectin used had little efficacy for experimental visceral larva migrans of mice.

KEYWORDS: Visceral larva migrans, *Toxocara canis* Ivermectin.

VIEIRA, M. A.; SILVA, A. C.; FREIRE FILHA, L. G.; BARBOSA, C. A. L. & CAMPOS, D. M. B. Avaliação da eficácia do Ivermectin na larva Migrans Murina experimental. Rev. Pat. Trop., 22(1):1-8, jan./jun. 1993.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABO-SHEHADA, M. N.; HERBERT, I. V. Anthelmintic effect of levamisole, ivermectin, albendazole and fenbendazole on larval *Toxocara canis* infection in mice. *Res. Vet. Sci.*, **36**: 87-91, 1984.
2. ABDEL-HAMEED, A. A. Effect of thiabendazole on the migration of *Toxocara canis* larval in the mouse. *J. Parasitol.*, **70**(2): 226-231, 1984.
3. AZIZ, M. A.; DIALLO, S.; LARIVIERE, M.; DIOP, I. M.; PORTA, M. Efficacy and tolerance of Ivermectin in human onchocerciasis. *Lancet*, **2**: 171-173, 1982.
4. BEAVER, P. C.; CARRERA, G.; DENT, J.; LAFFERTY, J. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. Report of three cases. *Pediatrics*, **9**: 7, 1952.
5. BEAVER, P. C. Toxocariases (VLM) in relationship to tropical eosinophilia. *Bull. Soc. Pathol-exot.*, **55**:555-576, 1962.
6. BRAIN, R.; ALLAN, B. Encephalitics due to infection with *Toxocara canis*. Report of suspected case. *Lancet*, **1**:1355-1357, 1964.
7. CAMPBELL, W. C.; FISHER, M. H.; STAPLEY, E. O.; ALBERSCHONBERG, G.; JACOB, T. A. Ivermectin: a potent new antiparasitic agent. *Science*, **221**: 823-828, 1983.
8. CAMPOS, D. M. B.; CAMPOS, M. L. L.; CAMARGO, E. D.; BARBOSA, A. P. Diagnóstico da "Larva Migrans Visceral" através do método imunoenzimático ELISA. CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 26. 1990, Natal, 1990. *Resumos*, p.167.
9. CAMPOS, D. M. B.; SOUZA, M.; ZACORIOTTI, E. T.; VEDA, M.; CAMPOS, M. L.; BARBOSA, A.; GEBRIN, M. C. E.; LIMA, F. M. Larva migrans visceral - Relato de três casos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, **2**: 117-120, 1990.
10. CARRILLO, M. M. S.; BARRIGA, O. O. Anthelmintic effect of levamisole hydrochloride or Ivermectin on tissue toxocariasis of mice. *Vet. res.*, **48**(2): 281-283, 1987.
11. CHIATTONE, C. S.; CHIEFFI, P. P.; PAES, R. A. P. Síndrome de larva migrans visceral em adulto. Apresentação de um caso. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **43**: 85-88, 1983.
12. DELGADO, O.; BOTTO, C.; MATTEI, R.; ESCALANTE, A. Effect of albendazole in experimental toxocariasis of mice. *Ann. Trop. Med. and Parasitol.*, **83**(6): 621-624, 1989.

VIEIRA, M. A.; SILVA, A. C.; FREIRE FILHA, L. G.; BARBOSA, C. A. L. & CAMPOS, D. M. B. Avaliação da eficácia do Ivermectin na larva Migrans Murina experimental. Rev. Pat. Trop., 22(1):1-8, jan./jun. 1993.

13. KHALDI, F.; ZAIDI, T.; KHIARI, S.; MATRI, L.; BENNACEUR, B. Toxocarose ocular. A propos d'un cas. Ann. Pediatr., 37(3):185-188, 1990.
14. SCHANTZ, P. H. *Toxocara larva migrans* now. Ann. J. Trop. Med. Hyg., 41(3) Suppl: 21-34, 1989.