

**CONSIDERAÇÕES SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE
LAGOCHILASCARIS MINOR LEIPER, 1909
EM CAMUNDONGOS ISOGÊNICOS DA LINHAGEM C57BI/6**

*Lindomar Guedes Freire Filha*¹ &
Dulcinéa Maria Barbosa Campos***

RESUMO

Camundongos isogênicos da linhagem C57BI/6 foram inoculados com ovos infectantes de *Lagochilascaris minor*, por via oral.

O material infectante foi obtido de lesão cervical da paciente A.C.S. natural de Conceição do Araguaia-PA.

Observou-se o encistamento de larvas de 3º estágio na musculatura, vísceras e tecido subcutâneo dos camundongos infectados, após as larvas eclodirem dos ovos na parede do intestino e migrarem através do fígado e pulmões.

O padrão de desenvolvimento de larvas observado neste experimento, permite sugerir que camundongos possam desempenhar o papel de hospedeiro intermediário no ciclo evolutivo experimental de *L. minor*.

UNITERMOS: *Lagochilascaris minor* (L3). Infecção experimental. Camundongo.

ABREVIATURAS

- An - Anel nervoso
A - Ânus
A.l. - Asa lateral
C.a.r. - Células achatadas do reto
C.ar.r. - Células arredondadas do reto

* Bolsista de aperfeiçoamento do CNPq, processo n° 820580/88-0/BM.

** Profº do Deptº de Parasitologia - IPTSP/UFG.

FREIRE FILHA, L. G. & CAMPOS, D. M. B. Considerações sobre o desenvolvimento de *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, em camundongos isogênicos da linhagem C57B1/6. Rev. Pat. Trop., 21(2):219-233, jul./dez. 1992.

Cl	- Cloaca
D.e	- Ducto ejaculador
Esf.	- Esôfago
Esp.	- Espículo
Ib	- Interlábios
Int.	- Intestino
k	- "knob"
L. sd	- Láblio subdorsal
L. sv	- Láblios subventrais
N.c.exc.	- Núcleo da célula excretora
N.g.d.	- Núcleo da glândula esofagiana dorsal
P.pe.c.	- Papilas pré-cloacal
P.po.c	- Papilas pós-cloacal
P.l.sd.	- Papilas do lábio subdorsal
P.l.sv.	- Papilas dos lábios subventrais
Po.exc	- Poro excretor
P.g.	- Primórdio genital
S.exc.	- Sistema excretor

INTRODUÇÃO

A *Lagochilascariase* é uma infecção causada por *Lagochilascaris minor* (Nematoda, Ascarididae). Foi descrita pela primeira vez por LEIPER (7) em material procedente de abscesso subcutâneo de paciente na Ilha de Trinidad. *L. minor* foi também encontrado naturalmente em *Canis familiaris* (12,13) e *Felis domestica* (4).

São conhecidas outras espécies de gêneros *Lagochilascaris*: *L. major* Leiper, 1910 em leão africano *Felis leo sabakiensis* (11); *L. buckleyi* Sprent, 1971 em onça parda americana *Felis concolor* (11); *L. turgida* (Stossich, 1902) Travassos, 1924 em gambá americano *Didelphis crassicaudata* (11) e *L. sprenti* Bowman et al., 1983 em gambá norte-americano *Didelphis virginiana* (1).

A infecção humana por *L. minor* causa lesões tumorais no pescoço, mastóide, ouvido médio, rino-orofaringe, amígdalas, seios nasais, globo ocular e alvéolo dentário. Há casos de comprometimento de cérebro e cerebelo, pulmão, trompa de Eustáquio e região sacra. Nestas lesões, geralmente são encontrados ovos em fase de segmentação, ovos larvados, larvas, vermes adultos e intensa secreção purulenta.

FREIRE FILHA, L. G. & CAMPOS, D. M. B. Considerações sobre o desenvolvimento de *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, em camundongos isogênicos da linhagem C57B1/6. Rev. Pat. Trop., 21(2):219-233, jul./dez. 1992.

LEIPER (7) sugeriu que o hospedeiro normal de *L. minor* fosse um carnívoro e o homem um hospedeiro acidental. Há na literatura vários relatos de pesquisadores (2,6,8) que tentaram reproduzir experimentalmente o ciclo evolutivo de *L. minor*. Entretanto, ainda não se conhecem os mecanismos de transmissão e os reservatórios naturais deste parasito.

Através da presente investigação, estudou-se o desenvolvimento larval em camundongos infectados experimentalmente, na expectativa de contribuir com o esclarecimento de alguns aspectos do ciclo evolutivo de *L. minor*.

MATERIAL E MÉTODOS

O material empregado nas inoculações foi oriundo da secreção purulenta de lesão cervical direita (fistulizada) da paciente A.C.S., 22 anos, natural de Conceição do Araguaia - PA (3). (Fig. 1).

Vermes adultos de *L. minor* retirados da lesão foram dissecados e seus úteros submetidos à digestão artificial com pepsina clorídrica, segundo o método de HANSEN et al. (5). Os ovos uterinos assim obtidos, foram mantidos em solução de formol a 1%, à temperatura ambiente, durante um período de 40 dias, para obtenção de larvas de 3º estágio (3). Esta suspensão de ovos embrionados foi transferida para tubo de centrífuga graduada. Uma vez acertado o volume, retiraram-se três alíquotas de 0,001 ml, contando-se os ovos entre lâmina e lamínula, determinado-se a concentração de ovos por ml.

Foram utilizados 46 camundongos da linhagem C57B1/6 machos, com aproximadamente 6 semanas de vida. Cada animal foi infectado por via oral, através de sonda esofagiana, com dose média de 1000 ovos embrionados de *L. minor*.

Os animais foram sacrificados por inalação de éter ou clorofórmio. Após abertura das cavidades torácica e abdominal foram examinados órgãos dos aparelhos digestivo, circulatório, respiratório, urinário, genital, além de toda a musculatura, cérebro e gânglios linfáticos. Para pesquisa de larvas, os tecidos dos animais que supostamente continham infecções recentes (menos de três semanas), foram submetidos a dois métodos de exames. Uma parte foi triturada com tesoura e examinada por compressão entre lâminas e, a outra parte, pelo método de BAERMANN modificado por MORAIS (9). Os tecidos de animais com infecções antigas (30-330 dias) foram submetidos a corte histológico e coloração pela hematoxilina eosina.

As necrópsias foram efetuadas às 4, 6, 7 e 24 h, diariamente até o 8º dia e mensalmente até 330º dias pós-inoculação (PI) perfazendo um total de 46 animais.

FREIRE FILHA, L. G. & CAMPOS, D. M. B. Considerações sobre o desenvolvimento de *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, em camundongos isogênicos da linhagem C57B1/6. Rev. Pat. Trop., 21(2):219-233, jul./dez. 1992.

Os parasitos colhidos foram fixados em solução de formol (10%) a quente, diafanizados com ácido acético e creosoto de Faia e identificados conforme critérios estabelecidos por SPRENT (11).



Fig. 1 - Paciente A.C.S. com lesão cervical direita fistulizada, apresentando abundante secreção purulenta de onde saíam espontaneamente larvas, vermes e ovos de *L. minor*

Os trabalhos de mensuração foram feitos pela técnica de micrometria na qual, através de câmara clara, os parasitos foram desenhados. As medidas foram feitas nas figuras, uma vez que se projetou uma escala micrométrica fornecida por uma lâmina conhecida.

FREIRE FILHA, L. G. & CAMPOS, D. M. B. Considerações sobre o desenvolvimento de *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, em camundongos isogênicos da linhagem C57B1/6. Rev. Pat. Trop., 21(2):219-233, jul./dez. 1992.

RESULTADOS

Houve 100% de positividade à infecção por *L. minor*.

Entre os animais inoculados, observou-se eclosão de larvas no intestino a partir de 4 h, migração para o fígado por volta de 6 h e para os pulmões em torno de 24 h PI. A partir de 7 dias, larvas de 3º estágio de *L. minor* foram vistas quase que exclusivamente na musculatura e tecido subcutâneo, tornando-se posteriormente encistadas. Macroscopicamente, nódulos ou cistos contendo larvas de 3º estágio foram observados a partir de 30 dias PI. Regra geral, encontrava-se apenas uma larva por nódulo. Os nódulos estavam distribuídos irregularmente nas musculaturas das regiões cervical, torácica, abdominal, lombar, axilar e patas dos camundongos infectados. (Fig. 2).



Fig. 2 - Nódulos granulomatosos distribuídos na musculatura e tecido subcutâneo de camundongos infectados com ovos de *L. minor*

FREIRE FILHA, L. G. & CAMPOS, D. M. B. Considerações sobre o desenvolvimento de *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, em camundongos isogênicos da linhagem C57B1/6. Rev. Pat. Trop., 21(2):219-233, jul./dez. 1992.

Foram também encontradas larvas encistadas no fígado, pulmão e coração. O estudo histológico dos pulmões revelou presença de cortes transversais de larvas, circundadas por fibroblastos e células inflamatórias mononucleares, formando estruturas císticas, localizadas no parênquima pulmonar subpleural (Fig. 3). Um nódulo contendo uma larva de 3º estágio foi encontrado na musculatura da região sacra de um animal.



Fig. 3 - Corte histológico de pulmão (97 dias PI).

Observar cortes transversais do helminto no parênquima subpleural (04 x 10).

Podiam ser recuperadas aproximadamente 50-80 larvas de 3º estágio por animal. Nos 46 camundongos examinados, foram encontradas apenas 4 larvas de 4º estágio e 9 vermes adultos.

Em um camundongo examinado aos 103 dias PI recuperou-se um casal de vermes adultos no interior de um nódulo cervical.

Não houve mortalidade entre os animais inoculados.

O estudo morfológico de cada estágio está, a seguir, caracterizado:

Larvas de 3º estágio:

Extremidade anterior apresentando lábios subventrais e lábio subdorsal pouco conspícuos e ausência de interlábios. Sistema excretor, situado a uma distância

FREIRE FILHA, L. G. & CAMPOS, D. M. B. Considerações sobre o desenvolvimento de *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, em camundongos isogênicos da linhagem C57B1/6. Rev. Pat. Trop., 21(2):219-233, jul./dez. 1992.

de 0,29 mm da extremidade anterior representado pelo poro excretor, ducto excretor e célula excretora. (Fig. 4).

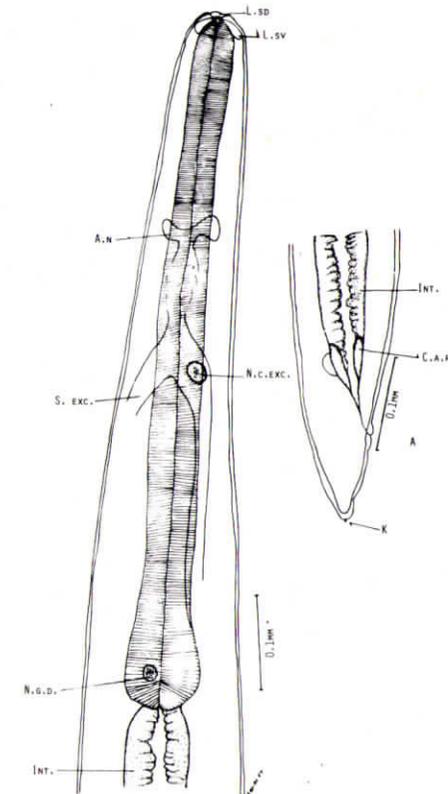


Fig. 4 - Extremidade anterior da larva de 3º estágio (vista ventral).

- Extremidade posterior da larva de 3º estágio (vista lateral).

Anel nervoso situado a uma distância de 0,26 mm da extremidade anterior. Presença de asas laterais desde a porção anterior dirigindo-se para a porção posterior. O tubo digestivo é simples, constituído por esôfago, intestino, reto e ânus. Esôfago estriado apresentando uma ligeira dilatação em sua porção final. Segue-se a este, um intestino longo, acompanhando toda a extensão do corpo e terminando em reto e ânus. Na extremidade posterior, observa-se cauda dotada de uma protuberância, o "knob". Esta estrutura, típica do gênero, é nitidamente visível nesta fase evolutiva.

FREIRE FILHA, L. G. & CAMPOS, D. M. B. Considerações sobre o desenvolvimento de *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, em camundongos isogênicos da linhagem C57B1/6. Rev. Pat. Trop., 21(2):219-233, jul./dez. 1992.

Na porção mediana evidencia-se o primórdio genital que, através da sua forma, torna possível identificar o sexo da larva de 3º estágio. Larva macho com primórdio genital em forma de bastão (Fig. 5). Larva fêmea com primórdio genital alongado apresentando-se bilobado em sua porção posterior (Fig. 6).

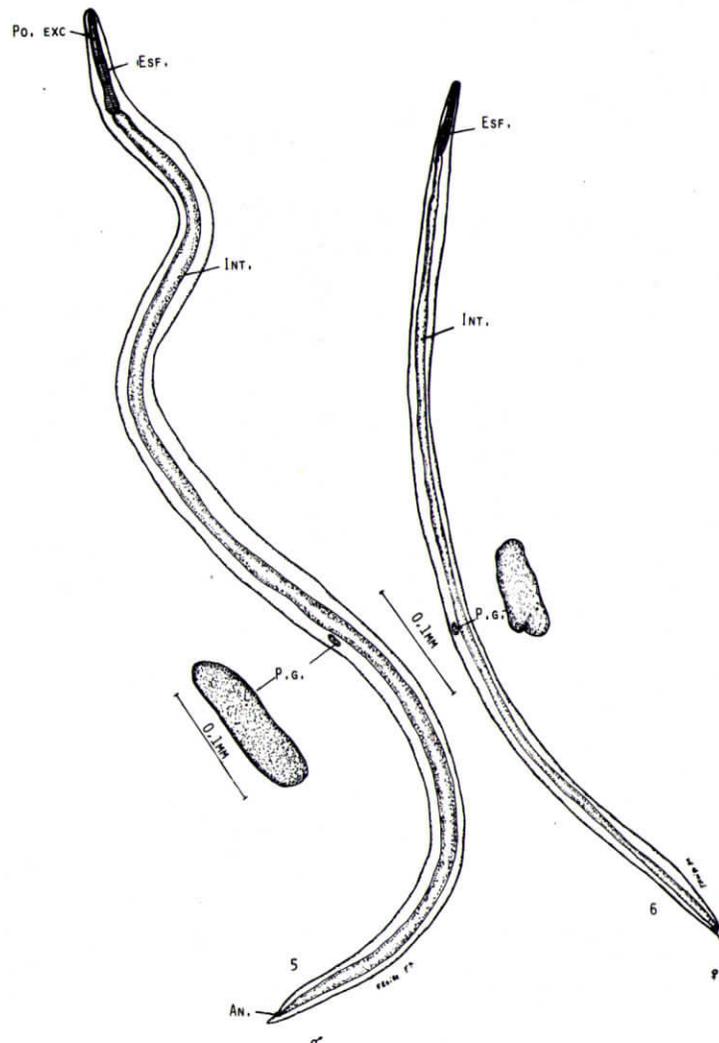


Fig. 5 - Vista lateral da larva de 3º estágio (Macho).
Fig. 6 - Vista lateral da larva de 3º estágio (Fêmea).

FREIRE FILHA, L. G. & CAMPOS, D. M. B. Considerações sobre o desenvolvimento de *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, em camundongos isogênicos da linhagem C57B1/6. Rev. Pat. Trop., 21(2):219-233, jul./dez. 1992.

Larvas de 4º estágio:

Extremidade anterior caracterizada por possuir entre os lábios subventrais e lábio subdorsal, o interlábio que se apresenta em forma de cone. Asa lateral presente. Tubo digestivo e sistema excretor semelhante aos da larva de 3º estágio. Na porção mediana observam-se modificações que correspondem ao desenvolvimento do primórdio genital dando origem aos aparelhos reprodutores masculino e feminino. Extremidade posterior desprovida de "knob".

Vermes Adultos:

Ascarídeos com dois lábios subventrais apresentando, cada um, dupla papila ventrolateral e, um lábio dorsal com duas papilas subdorsais. Separando os lábios há os interlábios. Tubo digestivo representado por esôfago, intestino, reto e ânus (fêmea) ou cloaca (macho). Esôfago estriado dilatando-se gradativamente em direção à porção final; base com glândulas esofagianas apresentando um núcleo grande póstero-dorsal ligeiramente arredondado e dois núcleos pequenos em posição subventral de forma ligeiramente ovalada. Asas laterais estreitas iniciando-se ao nível do anel nervoso e dirigindo-se à porção posterior do corpo. Um exemplar adulto exibiu asas laterais medindo 0,03 mm em sua maior largura. Anel nervoso circundando o esôfago que, na posição ventral, lembra a letra Y. Sistema excretor constituído de célula excretora dotada de núcleo arredondado, ducto excretor e poro excretor desembocando ao nível ou um pouco abaixo do anel nervoso. (Fig. 7).

Machos:

Apresentam 2 espículos longos e fortes com base em forma de U. Ducto ejaculador com quase o dobro dos espículos. Presença de papilas^{pa} e pós-cloacal. (Fig. 8).

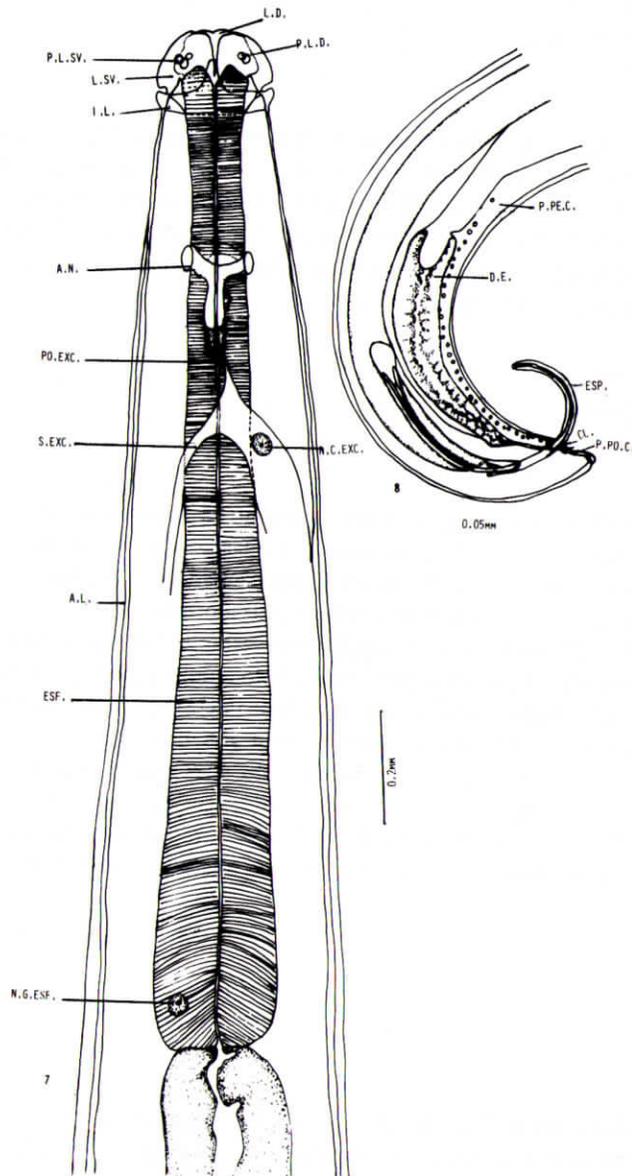


Fig. 7 - *L. minor* adulto. Extremidade anterior, vista ventral.

Fig. 8 - *L. minor* adulto. Extremidade posterior do macho, vista lateral.

Fêmeas:

Cauda longa e reta. Prodelfas, abertura vulvar um pouco acima da região mediana do corpo. Vagina única projetando-se para a região anterior, descendo, em seguida, para a região posterior. Útero com uma porção única e outra dividida. Ovário tubo-filiforme sinuoso e estriado. As quatro fêmeas estudadas apresentaram o útero repleto de ovos.

Não houve desenvolvimento embrionário em ovos colhidos da fêmea de *L. minor* originária do único casal retirado de um nódulo cervical.

Os resultados de mensuração referentes às larvas de 3º estágio, larva de 4º estágio e vermes adultos encontram-se expressos na Tabela 1.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Pesquisas têm sido realizadas com a finalidade de infectar animais e elucidar o ciclo evolutivo de *L. minor*. BRUIJINING (2) não obteve êxito ao inocular cobaias e gatos jovens com ovos embrionados tanto por via oral como por via subcutânea.

LITTLE (8) inoculando gatos e camundongos com uma suspensão de ovos, por via oral, encontrou uma larva no cérebro e outra no pulmão entre os camundongos infectados. Inoculando camundongos por via subcutânea com larvas ou com ovos, encontrou apenas uma larva na carcaça entre os animais que receberam ovos.

LEÃO et al., (6) não obtiveram êxito ao inocular gatos e hamster com suspensão de ovos e larvas por via oral. Na mesma oportunidade, inoculando gatos e macacos com uma suspensão de ovos e larvas, por via subcutânea, conseguiram recuperar um verme adulto em um nódulo cervical de um macaco infectado.

CAMPOS et al., (3) relataram o encontro de duas mudas cuticulares no interior de ovos de *L. minor* sugerindo que a larva de 3º estágio representasse a fase infectante para este parasito. Os dados deste trabalho confirmam tais observações. Em camundongos inoculados com ovos infectantes (40 dias de cultivo), por via oral, observou-se a eclosão de larvas de 3º estágio na parede do intestino, migrações das mesmas para o fígado e pulmões e encistamento na musculatura esquelética e tecido subcutâneo. Larvas de 3º estágio, eclodidas de ovos, medem em torno de 0,34 mm de comprimento (3) e, após passarem pelo organismo destes animais alcançam um comprimento de 8,93 mm.

TABELA 1 - Resultados de mensuração (mm) de larvas e adultos de *Lagochilascaris minor* recuperados em camundongos.

VARIÁVEIS QUANTITATIVAS ELEMENTOS MENSURÁVEIS	CAMUNDONGOS							
	n=22		n=04		n=05		n=04	
	L3		L4		♂		♀	
	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S
Comprimento total	8,94 ± 0,99		7,30 ± 1,54		14,66 ± 3,25		17,51 ± 2,13	
Comprimento do esôfago	0,74 ± 0,08		0,81 ± 0,08		1,13 ± 0,05		1,33 ± 0,23	
Diâmetro	0,21 ± 0,05		0,22 ± 0,06		0,31 ± 0,04		0,34 ± 0,08	
Anel nervoso à extremidade posterior	0,26 ± 0,04		0,23 ± 0,04		0,32 ± 0,06		0,34 ± 0,04	
Poros excretor à extremidade anterior	0,30 ± 0,03		0,37 ± 0,02	
Primórdio genital à extremidade posterior	2,18 ± 1,05	
Distância ânus ponta da cauda	0,13 ± 0,16		0,13 ± 0,03		0,09 ± 0,01		0,14 ± 0,01	
Comprimento dos lábios	n.m		n.m		0,07 ± 0,06		0,06 ± 0,01	
Largura dos lábios	n.m		n.m		0,06 ± 0,01		0,06 ± 0,02	
Interlábios	n.m		0,05 ± 0,01		0,05 ± 0,01	
Comprimento do ducto ejaculador	0,82 ± 0,20	
Comprimento do espículo	0,65 ± 0,12	
Distância vulva a extremidade posterior	1,77 ± 0,30	
Comprimento da vagina	8,70 ± 1,06	

.... Não foi possível detectar o elemento

----- Ausência do elemento

n.m Não medido

FREIRE FILHA, L. G. & CAMPOS, D. M. B. Considerações sobre o desenvolvimento de *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, em camundongos isogênicos da linhagem C57B1/6. Rev. Pat. Trop., 21(2):219-233, jul./dez. 1992.

Através da análise dos resultados obtidos, torna-se possível inferir que características relacionadas ao inóculo desempenham papel essencial no desenvolvimento larval da *Lagochilascariase* experimental. É provável que os resultados de BRUIJINING (2) possam estar relacionados ao emprego de um inóculo não infectante, pois utilizaram-se ovos com apenas 7 dias de cultivo. LITTLE (8), por dispor de pouco material, empregou um inóculo muito pequeno (30-100 ovos).

SMITH et al., (10) relataram o encontro de cápsulas fibrosas contendo larvas na musculatura esquelética e tecido conectivo subcutâneo de camundongos infectados com ovos de *L. sprengi*. Nesta oportunidade, tais animais foram considerados hospedeiros intermediários deste parasito uma vez que marsupiais, hospedeiros definitivos, só se infectavam através da ingestão de larvas encistadas em carcaças de camundongos infectados.

Sem dúvida, o padrão de desenvolvimento de *L. minor* observado neste experimento é semelhante ao de camundongos infectados com *L. sprengi*. Estes resultados permitem sugerir que camundongos possam desempenhar o papel de hospedeiro intermediário no ciclo evolutivo experimental de *L. minor*.

A habilidade de *L. sprengi* alcançar a fase adulta no organismo de animais considerados hospedeiros intermediários foi relatada por SMITH et al., (10) em 16,4% de 55 camundongos infectados com ovos de *L. sprengi*. No presente estudo, encontraram-se vermes adultos em 17,3% de 46 camundongos infectados.

SUMMARY

Development considerations of the *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909 in inbred mice C57B1/6.

C57B1/6 inbred mice were orally inoculated with *Lagochilascaris minor* infective eggs obtained from a cervical lesion a patient born in "Conceição do Araguaia" (State of Pará - Brazil).

It was observed third stage larval incystment in muscles, viscera and subcutaneous tissues of the infected mice, after larvae hatch of the eggs in intestinal walls and larval migration through lungs and liver.

The larval pattern development observed in this experiment suggests that mice may play the role of intermediate host in the experimental evolutive cycle of *L. minor*.

Keywords: *Lagochilascaris minor*, experimental infective, mice.

FREIRE FILHA, L. G. & CAMPOS, D. M. B. Considerações sobre o desenvolvimento de *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, em camundongos isogênicos da linhagem C57B1/6. Rev. Pat. Trop., 21(2):219-233, jul./dez. 1992.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. BOWMAN, D. D.; SMITH, J. L.; LITTLE, M. D. *Lagochilascaris sprengi* sp.n. (Nematoda Ascarididae) from the opossum, *Didelphis virginiana* (Marsupialia: didelphidae). **J. Parasit.** **69**(4):754-60, 1983.
02. BRUIJNING, C. F. A. Note on *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. **Docum. med. geogr. et trop.** **9**:173-75, 1957.
03. CAMPOS, D. M. B.; BRESSAN, M. C. R. V.; ROSA, Z. S. Considerações sobre a evolução do *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. 1 - Número de mudas de larvas no interior do ovo. **In:** Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 25., Florianópolis, 1989. Poster nº 219.
04. FRAIHA NETO, H.; BARROS, V. L. R. S.; ROCHA, M. P. C.; CARVALHO, R. A. *Lagochilascaris minor* em gato doméstico, primeiro registro de infecção natural, associado a um caso humano. **In:** Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 10., Salvador, 1984. Tema livre nº 266.
05. HANSEN, M. F.; OLSON, L. J.; ACKERT, J. J. Improved techniques for culturing administering ascarid eggs to experimental chicken. **Exp. Parasitol.** **3**:364-5, 1954.
06. LEÃO, R. N. Q.; LEÃO FILHO, J.; DIAS, L. B.; CALHEIROS, L. B. Infecção humana pelo *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. Registro de um caso observado no Estado do Pará (Brasil). **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, **20**(5):300-06, 1978.
07. LEIPER, R. R. T. A new nematode worm from Trinidad. *Lagochilascaris minor*. **Proc. Zool. Soc. Lond.**, **1909** (2):742-43, 1909.
08. LITTLE, M. D. Life cycle of *Lagochilascaris minor*. **J. Parasit.** **50**(3):34, 1964.
09. MORAIS, R. G. Contribuição para o estudo de *Strongyloides stercoralis* e da strongiloidíase no Brasil. **Rev. Esp. Saúde Pública**, **1**:507-624, 1948.
10. SMITH, J. L.; BOWMAN, D. D.; LITTLE, M. D. Life cycle and development of *Lagochilascaris sprengi* (Nematoda: Ascarididae) from opossum (Marsupialia: Didelphidae) in Louisiana. **J. Parasit.** **69**(4):736-45, 1983.
11. SPRENT, J. F. A. Speciation and development in the genus *Lagochilascaris*. **Parasitology**, **62**:71-112, 1971.
12. STURION, S. J.; GASTE, L.; YAMAMURA, M. H. Alterações esofágicas pelo *Lagochilascaris minor* em cão. **In:** Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 18., Santa Catarina, 1982.

FREIRE FILHA, L. G. & CAMPOS, D. M. B. Considerações sobre o desenvolvimento de *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, em camundongos isogênicos da linhagem C57B1/6. Rev. Pat. Trop., 21(2):219-233, jul./dez. 1992.

13. VIDOTTO, O.; ARAUJO, P.; REIS, A. C. F.; VIOTTI, N. M. A.; PEREIRA, E. A.; YAMAMURA, M. H. Caso de *Lagochilascariase* minor em cão. **In:** Congresso Brasileiro de Parasitologia, 7., Porto Alegre, 1982. p. 76.