

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE ANÁPOLIS – UniEVANGÉLICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SOCIEDADE TECNOLOGIA E MEIO**  
**AMBIENTE**

**Rosângela Reis da Silva**

**BIODIVERSIDADE DA AREA NEOTROPICAL. *Lagochilascaris minor* 1989-2020.**  
**CULTIVO EM LABORATÓRIO POR 31 ANOS**

**ANÁPOLIS**  
**2020**

**ROSÂNGELA REIS DA SILVA**

**BIODIVERSIDADE DA AREA NEOTROPICAL. *Lagochilascaris minor* 1989-2020.  
CULTIVO EM LABORATÓRIO POR 31 ANOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Sociedade Tecnologia e Meio Ambiente do Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Dulcinea Maria Barbosa Campos

**ANÁPOLIS**

**2020**

**Nome:** Rosângela Reis da Silva

**Título:** BIODIVERSIDADE DA AREA NEOTROPICAL. *Lagochilascaris minor* 1989-2020. CULTIVO EM LABORATÓRIO POR 31 ANOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sociedade Tecnologia e Meio Ambiente do Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais

Aprovado em: \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/

### **BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Alverne Passos Barbosa

Instituição: Universidade Federal de Goiás - UFG

Assinatura: \_\_\_\_\_

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Dulcinea Maria Barbosa Campos

Instituição: Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Giovana Tavares Galvão

Instituição: Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA

Assinatura: \_\_\_\_\_

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho, ao meu querido e amado filho, Weber Evangelista Filho, luz do meu viver. Obrigada pela sua compreensão, pois mesmo sem compreender tanto, você já compreendia tudo. Obrigada pela paciência, comigo naqueles dias tão atarefados, que precederam a entrega deste trabalho. Perdoe-me as tantas lágrimas de cansaço, que só você presenciou ou mesmo as ausências tão constantes e tão doloridas. E como tudo, desde os grandes sacrifícios às grandes vitórias sempre chegam ao fim, dedico esta vitória à você meu trevo de quatro folhas, filho amado.

## **AGRADECIMENTOS**

À querida orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Dulcinea Maria Barbosa Campos, pela competência e respeito com que conduziu este processo, do alvorecer da ideia até a sua síntese.

Ao Professor Dr. Alverne Passos Barbosa pela inestimável contribuição.

Ao meu querido colega Valdomiro, que tão prontamente me auxiliou nas atividades no Biotério do Centro Universitário de Anápolis- UniEVANGÉLICA.

A minha querida irmã Lílian Regina Reis, por ser minha base, minha estrutura...Minha conselheira.

Aos meus familiares mais próximos: Mãe e irmãos que mesmo na distância se fizeram presentes.

Aos meus amigos mais próximos, pelo incentivo.

À FAPEG -Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás, pela concessão da bolsa de mestrado.

**BIODIVERSIDADE DA AREA NEOTROPICAL. *Lagochilascaris minor* 1989-2020. CULTIVO EM LABORATÓRIO POR 31 ANOS**

**RESUMO.** A região Neotropical, compreende uma área do México Central ao sul do Brasil. Possui o maior número de plantas e animais no mundo, incluindo sete dos 35 hotspots de biodiversidade. Na região neotropical ocorre uma helmintíase humana, a lagochilascariase que tem como agente etiológico o helminto *Lagochilascaris minor*. A doença é registrada no México, Trinidad-Tobago, Suriname, Colômbia, Venezuela, Bolívia, Paraguai, Costa Rica, Equador, Peru e Brasil sendo que este último país detêm a maior casuística mundial. A lagochilascariase causa no homem lesões no pescoço, mastoide, ouvido médio, seios nasais, pulmões, rino-orofaringe, região sacra, alvéolo dentário, globo ocular, SNC e mamas e a sintomatologia, depende do local acometido, da carga parasitária. Hoje, não há dúvida de que o homem se infecta por ingestão de carne crua ou mal cozida de roedores presentes na área neotropical, contendo larvas do parasito. Esse parasito tem sido mantido no laboratório de Parasitologia/IPTSP/UFG, desde 1989. Visando contribuir com alguns aspectos da epidemiologia desse helminto avaliou-se, na oportunidade, a infectividade de ovos de *L. minor* mantidos *in vitro* em solução de formalina a 1%, por um período de 300 dias. Os ovos foram examinados microscopicamente, no primeiro mês a cada 2 dias e posteriormente 1 vez por semana. Além da microscopia, camundongos foram inoculados, por via oral, com 1500 ovos infectantes do parasito. Os resultados evidenciaram que os ovos mantiveram o seu poder infectante, durante todo o período estudado. Apresentaram uma notável resistência, tal como ovos de outros ascarídeos, parasitos do homem na América Latina, que mantêm o seu poder infectante no solo, mesmo sob condições adversas.

**PALAVRAS-CHAVE**

*Lagochilascaris minor*; Lagochilascariase; Helmintos; Região neotropical

**NEOTROPICAL AREA BIODIVERSITY. *Lagochilascaris minor* 1989-2020.**  
**LABORATORY CULTIVATION FOR 31 YEARS**

**ABSTRACT.** The Neotropical region, comprises an area of Central Mexico to the south of Brazil. It has the largest number of plants and animals in the world, including seven of the 35 biodiversity hotspots. In the neotropical region there is helminthiasis, lagochilascariasis whose etiologic agent is the helminth *Lagochilascaris minor*. The disease is registered in Mexico, Trinidad-Tobago, Suriname, Colombia, Venezuela, Bolivia, Paraguay, Costa Rica, Ecuador, Peru and Brazil, the latter having the largest casuistry in the world. Lagochilascariasis causes injuries to the neck, mastoid, middle ear, nasal sinuses, lungs, rhino-oropharynx, sacral region, dental alveolus, eyeball and symptoms, depending on the affected site and the parasitic load. Today, there is no doubt that man is infected by eating raw or undercooked meat from wild rodents, containing larvae of the parasite, present in the neotropical area. This parasite has been maintained in the Parasitology / IPTSP / UFG laboratory since 1989. In order to contribute to some aspects of the epidemiology of this helminth, the infectivity of *L. minor* eggs kept in vitro in 0% formalin solution was evaluated. , 1%, for a period of 300 days. The eggs were examined microscopically, in the first month every 2 days and then once a week. In addition to microscopy, mice were inoculated orally with 15,000 eggs. The results showed that the eggs maintained their infectious power throughout the studied period. They presented a remarkable resistance, like eggs of other ascarids, parasites of man in Latin America, that maintain their infective power in the soil, even under adverse conditions.

**KEYWORDS**

*Lagochilascaris minor*; Lagochilascariasis; Helminths; Neotropical region

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Região Neotropical.....	13
Figura 2. Ovos de <i>Lagochilascaris minor</i> em secreção seropurulenta de fístula retroauricular (A), e no exame coproparasitológico (B) .....	20
Figura 3. Ciclo evolutivo de <i>Lagochilascaris minor</i> .....	22
Figura 4. Lesão cervical drenando secreção purulenta, em paciente infectado com <i>Lagochilascaris minor</i> .....	27
Figura 5. Medicamentos usados contra lagochilascariase .....	31
Figura 6. Nódulos granuloso presentes em camundogos inoculados com 1500 ovos de <i>Lagochilascaris minor</i> mantidos em solução de formalina a 1% durante 300 dias. ....	46

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Total de larvas recuperadas dos tecidos de 12 camundongos inoculados com 1500 ovos de *Lagochilascaris minor* mantidos em solução de formalina a 1 % durante 300 dias...46

## LISTA DE ABREVIATURAS

<i>Lagochilascaris minor</i>	<i>L. minor</i>
<i>Ascaris lumbricoides</i>	<i>A. lumbricoides</i>
<i>Lagochilascaris major</i>	<i>L. major</i>

## **LISTA DE SIGLAS**

Horas Após Inoculação	HAI
Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública	IPTSP
Laboratório de Biologia, Bioquímica de Imunologia de Helmintos	LBBIH
Helmintíases Transmitidas pelo Solo	HTS
Universidade Federal de Goiás	UFG
Resolução para tratamento das HTS (América Latina e Caribe)	WHA54.19

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	13
CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE <i>Lagochilascaris minor</i> .....	13
1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1. Classificação e Distribuição Geográfica.....	17
1.2. Morfologia .....	18
1.3. Mecanismos de Transmissão e Ciclo Evolutivo .....	20
1.4. Manifestações Clínicas e Histopatologia.....	23
1.5. Diagnóstico Clínico e Laboratorial.....	25
1.6. Abordagem Terapêutica.....	28
1.7. Aspectos Epidemiológicos.....	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	34
CAPÍTULO II.....	39
<i>Lagochilascaris minor</i> 1989 - 2020. CULTIVO EM LABORATÓRIO POR 31 ANOS.....	39
1. INTRODUÇÃO.....	41
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
2.1. Aspectos éticos .....	43
2.2. O parasito .....	43
2.3. Ovos infectantes.....	43
2.4. Camundongos ( <i>Mus musculus</i> ).....	44
2.5. Descrição do alojamento e manejo .....	44
2.6. Preparação do inóculo.....	44
2.7. Animais e vias de inoculação- camundongos .....	45
2.8. Necrópsia de camundongos .....	45
3. RESULTADOS .....	45
4. DISCUSSÃO.....	47
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	52

## CAPÍTULO I

### CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE *Lagochilascaris minor*

#### 1. INTRODUÇÃO

Doenças tropicais negligenciadas, por definição, trata-se daquele grupo de doenças debilitantes, causados por agentes virais, bacterianos, fúngicos, ou mesmo parasitos, e estão associados às condições precárias de vida em países em desenvolvimento (BRITO, 2013). Tais doenças, afligem a humanidade desde a antiguidade<sup>1</sup>, e sempre apresentaram importância, tanto por seu grau de incapacitar, quanto de deformar. Ressalta-se que o clima quente e úmido da região neotropical contribui para uma elevada disseminação dessas doenças, uma vez que proporciona um ambiente favorável ao desenvolvimento de vetores (WHO, 2006) (Figura 1). Além disso, as condições ambientais, socioeconômicas e sanitárias também influenciam o contexto de saúde e doença, pois a ocorrência dessas enfermidades em comunidades que possuem um bom acesso ao serviço de saúde, são raras (BRITO, 2013).



Figura 1. Região Neotropical. O neotrópico abrange a porção central do México e estende-se pela América Central e Caribe, além da América do Sul. Adaptado de Lima et al.,2018.

---

<sup>1</sup> Antiguidade, ou Idade Antiga, é o nome dado ao período da História da Humanidade compreendido entre o fim do Neolítico, por volta de 4.000 a.C., e a queda do Império Romano do Ocidente, em 476 d. C.

Desde que se iniciou o processo de identificação e catalogação dos organismos que poderiam causar danos ao ser humano, os parasitos sempre formaram um grupo que despontou nas estatísticas, especialmente em países que apresentam índices econômicos desfavoráveis (NEVES et al., 2016). Estima-se que uma considerável parcela dos habitantes da América Latina e Caribe residem em zonas rurais ou regiões precárias, utilizando a agricultura ou pesca para subsistência de suas famílias, ou ainda, habitando em regiões periféricas a áreas urbanas, em sua grande maioria, sem acesso a condições adequadas de sustento, como por exemplo, água tratada ou mesmo saneamento básico, desta forma, estando predispostos a convivência com roedores e artrópodes que podem atuar, como vetores de várias doenças oportunistas (HOTEZ et al., 2008).

Nesse contexto de antroponoses clássicas, algumas espécies podem eventualmente infectar o homem, como é o caso do helminto *Lagochilascaris minor* que ocasiona a lagochilascariase humana (CAMPOS et al., 2017; DOUMA et al., 2016). A doença ainda não está classificada entre as doenças tropicais negligenciadas, porém, se enquadraria perfeitamente neste grupo, pois acomete geralmente indivíduos que vivem em condições precárias, que habitam em regiões rurais, e se alimentam de carnes cruas ou mal cozidas de roedores silvestres, que podem estar naturalmente infectados pelo parasito (CAMPOS et al., 2016).

*Lagochilascaris minor* foi descrito, em material de origem humana procedente de Trinidad Tobago (Leiper, 1909). A falta de conhecimentos sobre a transmissão e outros aspectos inerentes à biologia de *L. minor* motivou vários pesquisadores a estudarem o parasito em condições experimentais. Destacam-se os trabalhos de Winckel e Treurniet (1956); Sprent (1971); Fraiha et al. (1983, 1986, 1989); Smith et al. (1983); Campos et al. (1989); Campos et al. (1992) Volcan et al. (1992); Paçô et al. (1994).

De acordo com Winckel e Treurniet (1956) a transmissão de *L. minor*, ocorreria de forma mecânica através de tabanídeos (mutucas), que carregariam o parasito, a partir de fezes de felinos silvestres (hospedeiro natural), até o hospedeiro humano. Desta forma, os ovos seriam depositados diretamente nas áreas comumente comprometidas, havendo assim, penetração e desenvolvimento das larvas.

Sprent (1971) referiu, que a infecção se daria, a partir da ingestão de ovos embrionados, neste caso, guardando semelhança com o ciclo do *Ascaris lumbricoides*. As larvas fariam obrigatoriamente ciclo pulmonar e após este trajeto, fariam percurso ascendente pela traqueia, aderindo-se à mucosa da orofaringe, o que possibilitaria, sua penetração nesses tecidos,

desenvolvimento, bem como acasalamento e reprodução, originando assim as lesões no homem.

Para Fraiha et al. (1983, 1986, 1989), a infecção se daria através da ingestão de água não filtrada e contaminadas com fezes do hospedeiro natural, contendo larvas infectantes do parasito (L3). Após a ingestão, essas larvas penetrariam diretamente na mucosa orofaríngea, não necessitando dessa forma, de um ciclo pulmonar.

Porém, dentre todas as teorias, a hipótese mais aceita foi a de Smith et al. (1983), o pressuposto que a infecção seria causada pela ingestão de larvas encistadas nos músculos e outros tecidos de animais silvestres. Campos et al. (1989; 1992) confirmaram essa hipótese utilizando camundongos e gatos domésticos no ciclo evolutivo experimental. Relataram a ocorrência de duas mudas cuticulares e o desenvolvimento da larva até o terceiro estágio, no interior do ovo do parasito. Após a inoculação de ovos infectantes por via oral, foi possível observar, que entre 4 e 6 horas, após inoculação de ovos infectantes, por via oral em camundongos, notava-se a eclosão de larvas, bem como a visualização das referidas larvas atravessando a mucosa distal do intestino delgado e ceco (6 h PI). Após esse período, as larvas já podiam ser observadas, no interior de vasos linfáticos e veia porta hepática, alcançando o parênquima hepático e pulmões, em um período variável entre 24 e 48 horas (CAMPOS et al., 1989; CAMPOS et al., 1992; SEMERENE et al., 2004).

Após o período de migração, as larvas encistam-se no tecido subcutâneo e músculos esqueléticos de camundongos, considerados hospedeiros intermediários do verme. Quando gatos domésticos são infectados experimentalmente com ovos de *L. minor*, o parasito não alcança sua maturidade sexual, não completando o seu ciclo evolutivo. No entanto, quando gatos são alimentados com carcaças de camundongos infectadas, as larvas de terceiro estágio presentes nos cistos, eclodem no estômago do hospedeiro felino (hospedeiro definitivo), alcançam regiões como rino e orofaringe, região cervical, globo ocular, sofrendo 2 mudas (L3→L4) e (L4→ verme adulto) completando o ciclo evolutivo nesse animal. Lesões na rino e orofaringe dão origem a fístulas e ovos do verme são eliminados através das fezes (CAMPOS et al., 1992). Graças aos trabalhos acima mencionados não há dúvida, de que a transmissão humana ocorre por ingestão de carne crua ou mal cozida de roedores silvestres e de que felídeos, e até mesmo, canídeos sejam hospedeiros definitivos naturais (CAMPOS et al., 1989; CAMPOS et al., 1992; CAMPOS et al., 2017; VOLCAN; MEDRANO, 1990).

A infecção humana por *L. minor* sempre suscitou questionamentos sobre os seus hospedeiros naturais, sobre as formas de transmissão, diagnóstico e terapêutica. É intrigante,

também, o fato do homem ser considerado um hospedeiro acidental de *L. minor* e a doença estar presente apenas na região neotropical do globo. Sobre os hospedeiros naturais desse helminto, Paçô et al. (1999) relataram que *Puma concolor*, considerado hospedeiro definitivo natural de *L. minor* é o segundo maior felino da Região Neotropical, e que *Dasyprocta* sp (hospedeiro intermediário experimental) é o roedor de maior importância na dieta de *Puma concolor* também abundante na região neotropical. Outros carnívoros como *Speothus venaticus* e *Canis familiaris* possam atuar também, com hospedeiros definitivos do verme. A Região Neotropical, assim, apresenta características climáticas e de solo propícios ao desenvolvimento de ovos parasito, além de abrigar os hospedeiros naturais definitivo e intermediário de *L. minor*.

No Brasil, um dos polos de estudo sobre *L. minor* está disposto no laboratório de Biologia, Bioquímica de Imunologia de Helminhos, no Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (LBBIH/IPTSP/UFG). Através da manutenção do parasito desde 1989 pôde-se realizar diversos estudos nas áreas: Parasitologia (CAMPOS et al.,1989, 1992; PAÇÔ et al.,1999); BARBOSA et al., 2006; OLIVEIRA et al.,1995; 2002) , Histopatologia ( SEMERENE et al., 2004), Bioquímica (BARBOSA et al., 2006), Microscopia eletrônica (OLIVEIRA,1999) , Diagnostico imunológico (CALDEIRA,2005), sempre usando camundongos como hospedeiros intermediário e gato doméstico como definitivo do verme.

Ao longo do ciclo, há uma etapa *in vitro* que compreende o embrionamento de ovos em solução de formalina a 1%, sendo necessário um período de aproximadamente 30 dias para que se tornem infectantes. Essa etapa exige a utilização de camundongos para dar continuidade ao ciclo evolutivo, estes que devem ser inoculados com os ovos então obtidos. Nova etapa *in vivo* exige a utilização de gato doméstico, fase em que o ciclo se completa com a obtenção de parasitos adultos do verme. Não obstante, o benefício de se dispor do parasito mantido em condições experimentais e a contribuição para a produção de conhecimento nessa linha de trabalho, a manutenção do ciclo exige além do rigor científico a utilização de animais em pouco espaço de tempo. À medida, em que alguns projetos foram desenvolvidos, observaram-se que os ovos permaneciam viáveis, por um período superior a 30 dias e que larvas permaneciam viáveis no interior dos nódulos granulomatosos de camundongos por um período superior a 90 dias.

Diante do exposto realizou-se, na oportunidade, uma ampla revisão bibliográfica sobre a lagochilascaríase, utilizando-se como base de dados Livros e artigos científicos publicados em periódicos indexados América Latina e Caribe Banco de dados de Ciências da Saúde (LILACS), Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Index Medicus (MEDLINE). Os

artigos utilizados, foram selecionados, de acordo com seu conteúdo teórico, fazendo-se uso de descritores como *Lagochilascaris minor*, Lagochilascariase humana, Região Neotropical e Helminthíases. Foram incluídos livros e artigos científicos datados do ano de 1909, até o ano corrente (2020). Ao mesmo tempo estudou-se a infectividade de ovos de *L. minor* por um período superior a 30 dias *in vitro*, com o objetivo de verificar a importância dessa variável na epidemiologia de *L. minor*.

### 1.1. Classificação e Distribuição Geográfica

*Lagochilascaris minor* é um parasito pertencente à Classe Nematoda; Ordem Ascaroidea; Família Ascaridae; Subfamília Ascaridinae e Gênero *Lagochilascaris* (LEIPER, 1909). Deste gênero, são descritas seis espécies distintas (CAMPOS; BARBOSA, 2016). *Lagochilascaris major* descrito por Leiper (1910) na África, associado à leões (*Panthera leo*); *Lagochilascaris turgida* descrita por Stossich, (1902) e redescrita por Travassos (1924) posteriormente por Canavan, (1931) nas Américas, associado a gambás (*Lutreolina crassicaudata*; *Didelphis aurita* e *Didelphis virginiana*); *Lagochilascaris buckleyi* descrito por Sprent, (1971) nas Américas, associado ao puma americano (*Puma concolor*). As últimas duas espécies a serem descritas foram *Lagochilascaris sprenti* descrito por, Bowman et al., (1983) em Louisiana EUA associado à gambás da Virgínia (*Didelphis virginiana*) e *Lagochilascaris multipapillatum* descrito por Wang e Wang (1991) na China, associado à víbora marrom manchada (*Trimeresurus mucrosquamatus*) (FALCON-ORDAZ, et al., 2016; CAMPOS et al., 2017).

*Lagochilascaris minor* é, única espécie capaz de produzir doença em humanos (CAMPOS, et al., 2016) foi descrita, por Leiper (1909) a partir de espécimes recuperados de lesões da cabeça e pescoço de dois pacientes de Trinidad Tobago. Esta espécie, está associada a parasitismo em cães e gatos (*Felis catus*) (FRAIHA-NETO et al., 1989; BARRERA-PÉREZ et al., 2012).

Robert T. Leiper (1909) ao observar a presença de lábios no corpo do parasito, sugeriu que estes se assemelhavam aos lábios de uma lebre, denominando o parasito de *Lagochilascaris* sugerindo ainda, que o trato digestivo de animais carnívoros fosse o possível habitat deste parasito (CAMPOS et al., 2017). Neste sentido, outros estudos corroboram com as suposições de Leiper (1909) uma vez, que Falcon-Ordaz et al. (2016) localizaram, um felino selvagem

*Puma concolor* naturalmente infectado por *L. minor*, no México. (VOLCÁN et al., 1990, 1191, 1992; SUDRÉ et al., 2012; FEHLBERG et al., 2014).

A lagochilascaríase humana não é considerada como um problema de saúde pública, em nenhuma região na qual houve relato de sua ocorrência (CAMPOS; BARBOSA, 2016). Trata-se de uma parasitose, restrita à região neotropical (CAMPOS et al., 2017.).

## 1.2. Morfologia

Trata-se de um nematoide, que apresenta em sua forma adulta, a extremidade posterior afilada. Há diferença de tamanho, entre machos e fêmeas. Em relação à porção anterior, apresenta três lábios, e estes por sua vez são mais longos em comparação à sua largura, esta porção é separada do restante do corpo do parasito por um sulco acentuadamente profundo. À extremidade do referido sulco, é possível observar o desenvolvimento de três projeções em formato triangular entre cada lábio. Nestes lábios, observa-se a presença de uma profunda prega anteriormente localizada, dando origem a um sulco posicionado internamente. À margem posterior dos lábios, apresenta-se, em formato arredondado, exibindo ainda uma concavidade em cada lado, esses três lábios descritos, circundam a cavidade oral do parasito (SPRENT, 1971).

Este parasito, apresenta recobrimento articular dotado de estrias transversais. Apresenta duas asas, pouco desenvolvidas, que percorrem a lateral do corpo, e praticamente desaparecem, no decorrer do terço final. Exibe, esôfago de formato simples, papilas cervicais quase imperceptíveis, localizadas logo após o anel nervoso, e praticamente à mesma altura do canal excretor, que se apresenta localizado próximo à região anterior. Nesta posição, é possível observar ainda, uma interrupção das estrias cuticulares ali presentes (COSTA et al.,1986).

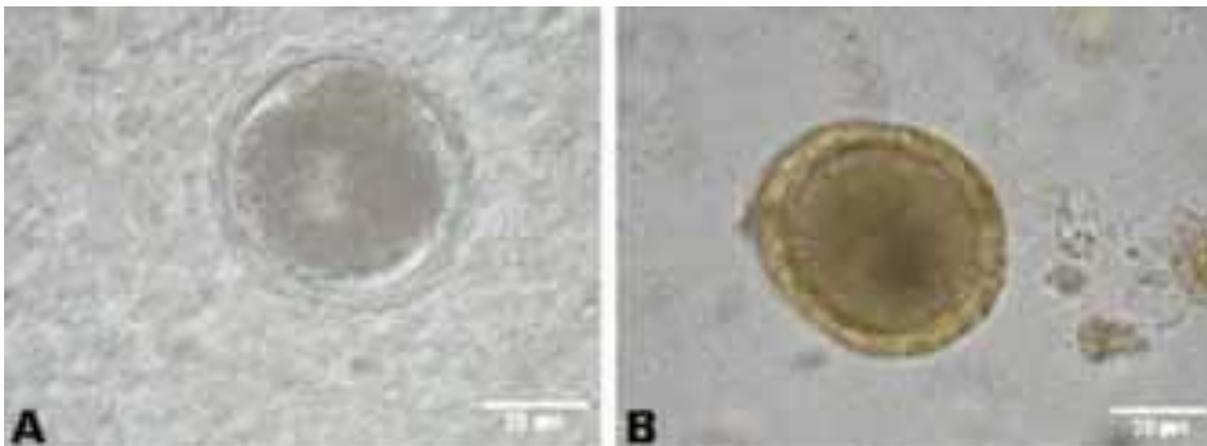
A fêmea desta espécie, apresenta-se ligeiramente maior que o macho, sua abertura vulvar é localizada próximo ao meio de seu corpo, com uma cutícula interna apresentando estriações, sua cauda apresenta-se retilínea, em alguns casos pode ser observado em formato arredondado, desprovida de tubérculo terminal, com seu ânus se abrindo em sua extremidade posterior (SPRENT, 1971). Apresenta o útero voltado para a parte anterior do corpo, vagina relativamente longa, voltada para trás e comunica-se com útero único em sua porção anterior, e se divide em duas projeções, suas porções terminais dão origem à ovidutos e ovários. As fêmeas adultas, podem por vezes serem observadas, com porção única, bem como as duas projeções uterinas carregados de ovos (COSTA et al.,1986).

Em relação ao macho, este apresenta sua porção posterior curvada ventralmente, apresenta entre 22-28 pares de papilas pré-cloacais, dispostas em formato de botão. Na região anterior à cloaca, é possível observar uma única papila de grande proporção, ao fim da linha lateral, nota-se a presença de estrias cuticulares modificadas, com padrão descrito como poroso. Cercado por pares de papilas, tem-se o fâsmides, e este fundido em outra papila (SPRENT,1971). Os testículos apresentam-se na porção mediana do corpo, e, enovelados, que se diferenciam em uma vesícula seminal e posteriormente no ducto ejaculador (CAMPOS; BARBOSA, 2016). O ducto ejaculador, apresenta-se, bem desenvolvido, que pode atingir, cerca de duas ou três vezes o tamanho dos espículos, e esses por sua vez se apresentam em quantidade de dois, caracteristicamente fortes, com aproximadamente as mesmas dimensões, dotado de grande membrana alar, porém menores que o ducto ejaculador (COSTA et al.,1986; CAMPOS et al., 1992; CAMPOS; BARBOSA, 2016).

O tamanho deste parasito é bastante variável, porém, a partir de estudos experimentais realizados por Campos et al., (1992) a fêmea em estágio adulto mede entre 15,25 - 20,95 mm de comprimento e o macho, entre 14,44 - 18,48mm de comprimento. O macho apresenta tamanho ligeiramente inferior à fêmea e a cutícula de ambos, apresenta coloração branco-leitosa.

Os ovos, apresentam-se, em formato arredondado ou ovalado, podendo medir entre 63 – 85  $\mu\text{m}$ , em seu maior diâmetro, possuem cobertura externa espessa e irregular. É interessante levar em consideração que os ovos podem diferir quanto ao número de escavações ou reentrâncias na linha equatorial, de acordo com as espécies do gênero *Lagochilascaris* (CAMPOS et al., 1992).

Portanto, os ovos do gênero *Lagochilascaris* apresentam grandes similaridades entre si, e o número de escavações em suas superfícies é utilizado como elemento de diferenciação (exemplo: *L. minor* = 15 - 26 e *L. major* = 35 - 45) (COSTA et al.,1986) (Figura 2). Há que se destacar também, que os ovos de *L. minor*, guardam bastante semelhança morfológica, com os ovos de *Ascaris Lumbricoides*, havendo necessidade de bastante atenção, para diferenciá-los (CAMPOS et al., 1992; BARRETO et al., 2018).



**Figura 2.** Ovos de *Lagochilascaris minor* em secreção seropurulenta de fístula retroauricular (A), e no exame coproparasitológico (B). Fonte: GUIMARÃES et al.,2010

### 1.3. Mecanismos de Transmissão e Ciclo Evolutivo

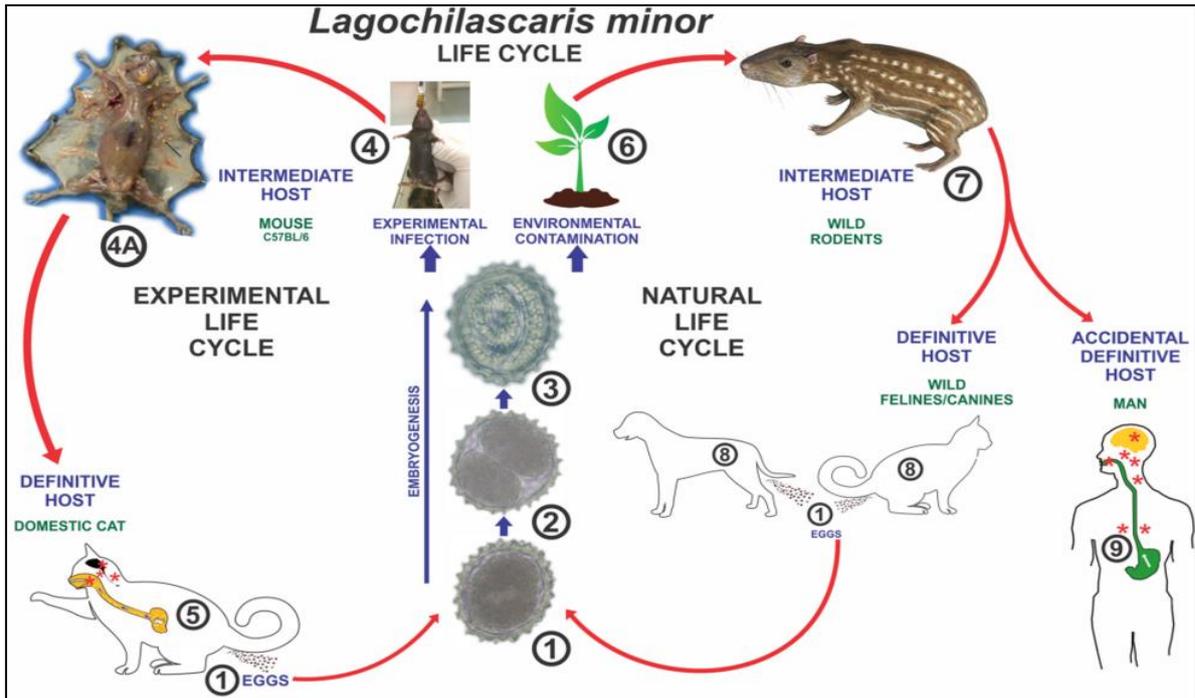
Campos et al., (1989); Campos et al., (1992) confirmaram a hipótese aventada por Smith et al., (1983) de que a infecção humana seria causada, pela ingestão de larvas encistadas nos músculos e outros tecidos de animais (roedores) silvestres. Quando gatos domésticos são infectados experimentalmente com ovos de *L. minor*, o parasito não alcança sua maturidade sexual, neste hospedeiro, não completando o seu ciclo evolutivo. No entanto, quando gatos são alimentados com carcaças de camundongos parasitados, as larvas de terceiro estágio presentes nos cistos, eclodem no estômago deste hospedeiro, conseqüentemente, em função de um tropismo, ainda não muito bem definido até o presente momento, conseguem migrar pela superfície do tecido digestivo, e alcançar regiões como cabeça, pescoço e tórax, sendo, desta forma, estas, as áreas mais comumente acometidas. O parasito, apresenta uma maior afinidade, por regiões cervicais, incluído, orofaringe e nasofaringe, mastoide e ouvido médio (CAMPOS et al., 1992).

CAMPOS, (2010) relata que alguns componentes do aparelho digestivo de carnívoros, poderiam dificultar as mudas de *L. minor* no interior do ovo. A passagem deste parasito através de um hospedeiro intermediário torna-se, de fundamental importância, para que este adquira uma maior resistência, e possibilite seu posterior desenvolvimento no hospedeiro definitivo (CAMPOS; BARBOSA, 2016). Depois que os parasitos atingem estágio adulto nos tecidos humanos, o ciclo de autoinfecção se inicia, caracterizado pelo encontro do parasito em seus vários estágios evolutivos (ovos, larvas e vermes adultos) em tecidos do pulmão e da região cervical, por exemplo, levando à cronificação da doença, que, pode persistir por vários anos (CAMPOS et al.,1992; CAMPOS; BARBOSA, 2016). O hospedeiro definitivo natural

representado por felídeos e canídeos silvestres ou o próprio homem (Figura 3) se infecta a partir, da ingestão de larvas infectantes, presentes nos tecidos subcutâneos de animais silvestres, tais como a cutia (*Dasyprocta agouti*), preá (*Cavia porcellus*) tatu (*Dasypodidae*) e cobaias (*Cavia porcellus*), por exemplo (PAÇO et al., 1999). Ovos do parasito, podem ser encontrados tanto nas secreções das lesões, quanto amostras fecais, desde que abscessos de orofaringe origemem fístulas para a luz do tubo digestivo (CAMPOS et al.,1992).

Leiper (1909) considerou que *L. minor* seria parasito errático do homem e natural do trato digestivo de felídeos. FALCON-ORDAZ et al., (2016) encontraram o felídeo silvestre *Puma concolor* naturalmente infectado por *L. minor* no México, fato que corrobora a suposição inicial de Leiper (1909) e vários trabalhos experimentais (CAMPOS et al.,1992; VOLCAN e MEDRANO,1992; PAÇO et al., 1999; CAMPOS et al., 2010; CAMPOS et al., 2017) de que felídeos seriam hospedeiros definitivos desse verme.

Em relação ao ciclo natural deste parasito, conclui-se que carnívoros silvestres (hospedeiros naturais), abrigariam, o parasito em sua forma adulta, nas porções iniciais do sistema digestivo, local no qual as fêmeas depositam os ovos, os quais seriam eliminados junto às fezes, consequentemente contaminando o solo (CAMPOS, 2010; CAMPOS & BARBOSA, 2016). Sequencialmente, tornam-se embrionados e ao serem ingeridos por roedores silvestres (hospedeiros intermediários), desenvolvem-se em larvas infectantes. Carnívoros silvestres, ao se alimentarem desses roedores, por sua vez seriam infectados, por larvas encistadas. O que viria a concluir o ciclo natural enzoótico, deste parasito (CAMPOS et al.,1992; PAÇO et al., 1999; CAMPOS et al., 2010; CAMPOS et al., 2017).



**Figura 3.** Ciclo evolutivo de *Lagochilascaris minor*. Os ovos do parasito são eliminados do organismo hospedeiro através das fezes [1], passam pela embriogênese [2] se desenvolvem até o estágio infectante (L3) [3]. No ciclo biológico experimental, os ovos infectantes podem ser inoculados no camundongo [4] ou contaminar o meio ambiente [6]. Em infecção experimental, nódulos granulomatosos contendo larvas do terceiro estágio são observados nos músculos e no tecido subcutâneo de um camundongo infectado com o helminto [4A]. O gato, hospedeiro definitivo experimental é infectado pela ingestão de hospedeiros intermediários contendo larvas de terceiro estágio [5]. Uma vez no meio ambiente [6], ovos infectados são ingeridos por roedores silvestres [7]. Felinos / caninos silvestres ingerem roedores (hospedeiros intermediários) contendo larvas do terceiro estágio e eliminam ovos no ambiente através de fezes [8]. A infecção humana se origina da ingestão de carne não cozida ou parcialmente cozida de roedores silvestres contendo larvas encistadas [9]. Fonte: CAMPOS et al., 2017.

É notável considerar que o *L. minor*, apresenta impressionante capacidade migratória através dos tecidos acometidos, formando, espécies de túneis nas regiões por onde se deslocam (CAMPOS, 2016). Essa invasão tecidual, bem como a migração, inativação da resposta imune, a nutrição e o próprio desenvolvimento dos parasitos parecem estarem fortemente relacionados com a presença de enzimas proteolíticas, por meio de colágenos hidrolisados na matriz extracelular (BARBOSA et al., 2006).

As proteases exercem um papel de destaque na fisiologia e desenvolvimento das afecções parasitárias. Estas exercem suas funções processando proteínas e peptídeos na tentativa de evitar o desencadeamento da resposta imune do hospedeiro, o que, por sua vez favorece a infecção e proliferação do parasito, através dos tecidos do hospedeiro (BARBOSA et al., 2006).

Os metabólitos excretados ou mesmo secretados pela larva de terceiro estágio de *L. minor*, possuem a capacidade de hidrolisar o fibrinogênio por completo, o que pode favorecer a capacidade de escapar do processo hemostático que ocorre durante a migração do parasito

através dos vasos sanguíneos. O colágeno, presente na matriz extracelular de cartilagens e ossos por exemplo, possuem suscetibilidade à esta hidrólise causada pelo parasito (BARBOSA et al., 2006).

#### **1.4. Manifestações Clínicas e Histopatologia**

Por tratar-se de uma doença polimórfica, os sinais clínicos desta enfermidade são muito amplos, mas na fase inicial são relatados febre, inapetência, perda de peso e adenopatia (MAQUINE et al., 2018). Em estágios, de comprometimento cervical, é descrito, o surgimento de nódulos, que aumentam gradualmente de tamanho e habitualmente se fistulizam, de forma espontânea. Há relatos de pacientes que apresentaram, cefaleia, tetraparesia, vômitos, rigidez de nuca, crises convulsivas, sinais de comprometimento neurológico podendo chegar inclusive, à óbito (VELOSO et al.,1992; ROZEMBERG et al., 1986).

Dificuldade para respirar, em conjunto com sinais febris, cianose, até mesmo insuficiência respiratória já foram relatados em conjunto com comprometimento pulmonar. No entanto, existem ainda relatos, nos quais este parasitismo, não alterou, o estado geral do paciente (MAQUINE et al., 2018; ROZENBERG et al.,1986; LEAO; FRAHIA-NETO; DIAS, 2015).

Em infecções humanas o verme tem sido relatado, em abscessos geralmente supurados de pescoço (LEIPER,1909; CAMPOS; BARBOSA, 2016) conduto auditivo (LEAO; FRAHIA-NETO; DIAS, 2015; CAMPOS; BARBOSA, 2016; AQUINO, et al., 2008; VELOSO et al.,1992) região mastoidea (LEAO;FRAHIA-NETO; DIAS, 2015; BARRERA-PÉRES et al., 2012) seios paranasais (BARRERA-PÉRES, et al., 2012; VELOSO et al., 1992; OOSTBURG; VARMA, 1968), rino e orofaringe (LEAO et al., 2015; CAMPOS; BARBOSA, 2016; AQUINO et al., 2008), globo ocular (AQUINO, et al., 2008; PAWAN,1926), tonsilas (LEAO et al., 2015 ; CAMPOS e BARBOSA, 2016; BOTERO; LITTLE, 1984. Há relatos de lesões no sistema nervoso central (ORIHUELA, et al.,1987; ROSEMBERG, et al.,1986; VELOSO et al., 1992), pulmões (LEAO et al., 2015; CAMPOS; BARBOSA, 2016; MORAES, et al., 1985), osso sacro (LEAO et al., 2015) bem como alvéolo dentário (CAMPOS;BARBOSA, 2016; BARRERA-PÉRES, et al., 2012; PAÇO; CAMPOS, 1998). Torna-se importante ressaltar que as regiões acometidas por *L. minor* são diferentes do trato digestivo, habitat que os demais ascarídeos costumam parasitar (CAMPOS et al.,2017).

Sintomas clínicos de amigdalite, sinusite, otite bem como mastoidite, são comumente relatados. Destaca-se, que, a partir dos abscessos causados por este parasito, drena uma secreção

seropurulenta e fétida geralmente rica em ovos e demais estágios evolutivos do verme (CAMPOS & BARBOSA, 2016). A eliminação desses parasitos, através do ouvido ou mesmo narinas (espirro) também já foram relatados (COSTA et al.,1986).

De forma geral, o paciente parasitado por *L. minor*, procura atendimento médico, muito tempo após o desconforto inicial causado por esta enfermidade, e este, por sua vez é avaliado por vários especialistas. As lesões decorrentes dessa parasitose, apresentam, um desenvolvimento relativamente lento, tendo duração de semanas ou meses, assim, alguns pacientes relatam o surgimento de nodulações que se iniciam na região do pescoço, indolor, pequenas e sem fistulizações. Conforme sua evolução, torna-se dolorosa, podendo ou não, fistulizar de forma espontânea (CAMPOS et al., 2017).

As lesões decorrentes da lagochilascariase, apresentam-se, histologicamente, com aspecto granulomatoso, do tipo corpo estranho. Estas, por sua vez são constituídas por inúmeros abscessos, que se interligam através de tratos ulcerados, e apresentam-se envolvidos por tecido granulomatoso, células gigantes multinucleadas, acompanhado de áreas, com presença de fibrose, consideravelmente densas (CAMPOS et al., 2016).

Estudos histológicos experimentais realizados por Freitas et al. (2008) demonstraram, que as reações granulomatosas decorrentes dessa parasitose são organizadas de forma concêntrica, compostas por células mononucleares, plasmócitos, macrófagos e estes caracteristicamente espumosos, células polimorfonucleares, células gigantes mononucleares, e alguns fibroblastos. As larvas, de terceiro estágio, puderam ser observadas no centro destes granulomas, no qual também se notam a presença de áreas de necrose. Perivasculite de graus moderados, neutrófilos e eosinófilos também puderam serem observados. Essas lesões, foram observadas nos pulmões, fígado, baço, gânglios linfáticos, tecido adiposo, musculatura esquelética e linfonodos de camundongos.

Semerene et al., (2004) observaram todos os aspectos anteriormente descritos, demonstrando pela primeira vez, uma reação granulomatosa no interior do parênquima renal, que apresentando similaridade com as demais regiões, também exibia a presença de células gigantes mononucleares, polimorfonucleares, fragmentos de larvas e fibroblastos.

Ainda neste momento, Semerene et al (2004) observaram uma reação inflamatória precoce em resposta à infecção por larvas de terceiro estágio, esta, apresentava caráter intensamente exsudativo, com afluência imediata de neutrófilos, e aumento gradual do número de eosinófilos sendo evidenciado, já a partir do 5º dia pós inoculação.

A presença de eosinófilos em sangue periférico ou mesmo em tecidos, acometidos por helmintos, apresenta fundamental importância na defesa contra esses parasitos. Os grânulos presentes no interior de eosinófilos, são implicados como sendo, mediadores finais, que atuam na morte de helmintos (SCOTT & SHER 1993; ALLE & MAIZELS, 1997). Eosinófilos, em conjunto com IgEs específicas, certamente participam na proteção contra *L. minor* através do processo de citotoxicidade mediadas por células dependentes de anticorpos (SEMERENE et al., 2004).

A presença do parasito em seus diferentes estádios evolutivos (ovos, larvas e vermes adultos) caracteriza, o ciclo de autoinfecção, realizado pelo parasito (CAMPOS et al., 2017; CAMPOS; BARBOSA, 2016; LEAO; FRAHIA-NETO; DIAS, 2015). Sem dúvida o ciclo de autoinfecção dificulta a terapêutica da doença e pode comprometer, desfavoravelmente, o prognóstico.

Se o tratamento for interrompido haverá a formação de uma nova lesão, que poderá ser próxima ou mesmo distante da lesão inicial e, conseqüentemente esta nova lesão ficará repleta de vermes adultos fêmeas, que produzirão ovos, e estes produzirão novas larvas, que darão origem a novos vermes adultos iniciando um novo ciclo de autoinfecção, reforçando deste modo a necessidade de que a substância utilizada como anti-helmíntico, deva, necessariamente ter ação sobre o parasito, nas diversas etapas do seu ciclo evolutivo (CAMPOS et al., 2016).

Desta forma, o mais comum, é que pacientes apresentem recaídas meses ou mesmo anos após o diagnóstico e tratamento inicial desta parasitose. As recidivas agudas são relacionadas à embriogênese dos ovos, e ao desenvolvimento de todas as outras formas do parasito, completando assim seu ciclo e impedindo a eficácia do fármaco utilizado (CAMPOS, et al., 2017). Ressalta-se que o grau de agressividade dessa enfermidade, está bastante relacionada, com a condição imune do hospedeiro, como da região afetada, da carga parasitária, devendo-se considerar ainda, o grau de invasão tecidual, bem como a capacidade de reprodução do parasito (GUIMARÃES, et al., 2010), podendo ainda, apresentar uma evolução crônica, entre 5 e 20 anos (SPRENT, 1971). A maioria dos casos descritos cursa com períodos de remissão e recidiva, e em casos mais graves o paciente pode ir à óbito em aproximadamente três meses, após o início dos sintomas (PAÇÔ e CAMPOS, 1999; CAMPOS et al., 2016).

### **1.5. Diagnóstico Clínico e Laboratorial**

Na maioria dos casos descritos é possível observar que na fase inicial o diagnóstico é realizado de forma equivocada, uma vez, que as lesões, são em grande parte diagnosticadas como sendo de causa bacteriana. Assim, é comum que o diagnóstico desta enfermidade seja

realizado de forma tardia, uma vez que, muitos pacientes só buscam tratamento médico, em estágios avançados da doença (CAMPOS et al., 2017).

A realização do diagnóstico diferencial, nos casos suspeitos de lagochilascaríase, se faz indispensável, levando-se em consideração a diferenciação das lesões cervicais, que se mostram bastante amplas. Fazem parte deste conjunto, as proliferações benignas e as malignas, bem como aquelas de origem congênita, inflamatória ou mesmo as de natureza neoplásicas (MAQUINÉ et.al., 2018).

O diagnóstico clínico está pautado no aspecto das lesões, devendo-se, inicialmente, excluir a possibilidade de infecções como adenite piogênica, actinomicose, paracoccidiodomicose, tuberculose ganglionar ou mesmo leishmaniose, por estas apresentarem lesões por vezes bastante semelhantes àquelas causadas por *L. minor* (CAMPOS et al., 2017). O diagnóstico torna-se mais delicado, quando se observa, o envolvimento de regiões como o sistema nervoso central, pulmões ou mesmo naso e orofaringe, especialmente, se não é observado a presença, de tumoração aparente em regiões cervical, retroauricular ou mesmo mastoidea (CAMPOS; BARBOSA, 2016).

A lesão causada pelo *L. minor* habitualmente, apresenta uma evolução lenta, que pode perdurar por semanas ou mesmo meses. Desta forma, as queixas iniciais mais comuns são o aparecimento de nodulações na região do pescoço, que se apresenta pequena, não fistulizada e indolor nos estágios iniciais. Com a progressão esta lesão torna-se dolorosa podendo ou não fistulizar de forma espontânea. Quando se dá a drenagem, nota-se a presença de uma secreção serosa e purulenta (Figura 4), e esta, por sua vez pode apresentar o parasito em todos os seus estádios evolutivos, característica do ciclo auto infectante realizado por este parasito (CAMPOS, et al., 2017).



**Figura 4.** Lesão cervical drenando secreção purulenta, em paciente infectado com *Lagochilascaris minor*. Fonte: (CAMPOS et.al., 2017)

As lesões, podem apresentar tamanhos variados, na maioria dos casos observados, variando entre 5 e 12 cm de diâmetro, comumente localizados, em região cervical, mostra-se, com aspecto de pseudo cisto, nodular ou mesmo formando abscessos (BENTO et al.,1993). Pode apresentar-se rígido e com limites não definidos. A migração dos parasitos das lesões primárias, através dos tecidos acometidos, pode dar origem a lesões secundárias, e estas, conseqüentemente podem apresentar localização distante da região inicial (FRAIHA-NETO; LEÃO,2005).

O diagnóstico laboratorial consiste na biópsia de fragmentos de tecidos e conteúdo dos abscessos retroauriculares e trato respiratório, por exemplo, com estudo histopatológico em camada delgada e coloração de hematoxilina-eosina (SEMERENE et al., 2004). Quando encontrados larvas e ou vermes adultos, estes devem ser fixados e corados para posterior identificação. Os ovos de *L. minor*, apresentam grande semelhança com os de *Ascaris lumbricoides*, necessitando assim de cautela, durante no processo de identificação. Ovos de *L. minor* podem ser encontrados nas fezes quando lesões no rino e orofaringe originam pertuitos para a luz do tubo digestório (CAMPOS, et al., 2017).

Roig et al. (2010) utilizaram o exame parasitológico de fezes em amostras seriadas no intuito de reforçar o diagnóstico desta enfermidade, em um paciente provindo de Itapua, Companhia Santa Ana do Distrito Alto Verá-Paraguai, que apresentava lesões em região retroauricular e na parótida direita, com presença de otorréia com exsudação purulenta na qual observava-se a presença de vermes. Neste caso, foi possível observar a presença de ovos nas

fezes, e estes foram descritos como tendo aspecto de “tampas metálicas de garrafa de cerveja” o que corroborou de forma considerável, para a elucidação diagnóstica do paciente.

Tendo em vista a magnitude desta enfermidade, é considerado interessante, a inclusão de exames de imagem como radiológicos, tomográficos ou mesmo a ressonância magnética, pois estes são exames que permitem avaliar a extensão, de forma precisa das lesões (FURTADO DE MENDONÇA et al., 2005), admitindo ainda, estabelecer se existe ou não comprometimento do sistema nervoso central, ou mesmo pulmonar. Ressalta-se dois, dos três casos descritos por Veloso et al. (1992) nos quais, os pacientes citados, apresentaram sinais de comprometimento neurológicos, entre outros sinais clínicos inerentes à lagochilascaríase. Nesses casos, os exames radiológicos e tomográficos mostram-se fundamentais para elucidação do diagnóstico, bem como, na avaliação da extensão das lesões e conseqüentemente, no acompanhamento dos pacientes.

## **1.6. Abordagem Terapêutica**

A terapêutica na lagochilascaríase, é considerada até os dias atuais complexa, uma vez que esta, deve ser pautada, no ciclo evolutivo do parasito pois, envolve seus diferentes estágios evolutivos, ovos, larvas e conseqüentemente os vermes adultos. Assim a utilização de diversas fármacos tem sido necessária para cada estágio do parasito, não havendo desta forma, um esquema terapêutico que seja considerado essencialmente eficaz (MAQUINÉ et al., 2018). Assim, um anti-helmíntico para ser considerado eficaz deveria ter ação larvicida, ovicida, vermícida e impedir a embriogênese dos ovos deste parasito (CAMPOS et al., 2016).

Leão e Fraiha (2000) relataram que para casos humanos, os fármacos cambendazol e o levamisol apresentaram uma excelente ação imediata sobre o parasito, porém, nota-se que meses após a terapêutica, recidivas são constatemente observadas. Tendo em vista essa situação, torna-se indispensável a utilização de um programa de manutenção medicamentosa, por períodos, que podem variar de seis meses a um ano, na perspectiva de obtenção da cura definitiva da doença (CAMPOS et al., 2016). É interessante ressaltar, que, baseado em estudo experimental utilizando-se camundongos infectados com ovos de *L. minor*, realizado por Campos et al., (2016), foi possível verificar, que o Cloridrato de Levamisol na concentração de 0,075 mg/kg, não exerceu ação contra larvas em migração, ou mesmo larvas de terceiro estágio encistadas. Destarte, os autores afirmam a necessidade de estudos mais aprofundados sobre a ação desta e outras fármacos sobre este parasito.

Até os últimos relatos desta parasitose, o tratamento tem sido baseado em vários fármacos, como a dietilcarbamazina, tiabendazol, levamisol, cambendazol, mebendazol, praziquantel, e o albendazol, todavia, não apresentando, um fármaco de escolha definitiva (PALHETA-NETO et al., 2002; CAMPOS et al, 2017). A associação de alguns antihelmínticos, tem sido frequentemente utilizados apresentando bons resultados, como a associação de cambendazol e o levamisol (FRAIHA-NETO; LEAO,2005). Ivermectina associado ao Albendazol, também apresentou bons resultados (GUIMARÃES et al.,2010), porém nessas associações citadas, foi interessante evidenciar, que nos primeiros dias de tratamento nota-se uma melhora clínica do paciente, porém, a recidiva indica invariavelmente a necessidade de esquemas terapêuticos instituídos à longos prazos (CAMPOS et al., 2016).

Nesta direção, Guimarães et al., (2010) administraram um tratamento com levamisol (150 mg/dia) associado à ivermectina (300 mg/Kg/ semana) e posteriormente, albendazol (400 mg/dia) em paciente de 10 anos de idade procedente de Barra do Garça (MT) que apresentava otalgia e otorreia purulenta por *L. minor*.

Com a melhora do quadro otológico a paciente recebeu alta com a mesma prescrição médica por mais 40 dias. Três meses após, retornou ao serviço, apresentando um discreto nódulo adjacente à lesão anterior, relatando eliminação espontânea de um pequeno verme vivo. O exame histopatológico revelou fragmentos de tecido conjuntivo com reação inflamatória crônica granulomatosa, contendo de permeio cortes de parasito sugestivo de *L. minor*. Novo esquema terapêutico foi instituído sendo prescritos dois ciclos de albendazol com intervalos de 15 dias intercalando com uma administração semanal de ivermectina. A paciente foi orientada a retornar ao ambulatório após seis meses para seguimento ao tratamento. Após este período, regressou sem sinais de otorreia ou infecção auricular. No caso dessa paciente, observa-se reagudização dos processos parasitários, provavelmente pelo ciclo de autoinfecção do parasito. Acredita-se que tenha ocorrido cura em virtude de terapia prolongada e disciplina de seus familiares em manter o esquema terapêutico proposto (GUIMARÃES et al., 2010). O ciclo de autoinfecção, observado nesse caso, dificulta a cura da doença.

Estudos utilizando a Ivermectina em uma concentração de 200 µg/L de formalina a 1%, por um período de 28 dias, não foi capaz de evitar a embriogênese, assim como não foi observado a desvitalização das larvas, no interior dos ovos deste helminto (BARBOSA et al., 1997). Estes achados, diferem grandemente dos resultados alcançados por Campos et al. (1988), que puderam notar a desvitalização da larva de *L. minor* no interior do ovo após tratamento com o mesmo fármaco. Uma possível justificativa utilizada no momento, foi que a diluição da Ivermectina com a solução de formalina a 1% poderia reduzir a superfície de contato entre a droga e a casca do ovo. Assim, ainda existem bastante controvérsias à cerca da utilização dessa droga e sua eficiência na lagochilascariase humana.

A cura completa da lagochilascariase é considerada incomum. O que se pode observar é que após o abandono ou interrupção do tratamento existe a formação de uma novos tumores, e estes podem estar localizados em regiões próximas à lesão inicial, ou mesmo em regiões distantes. Tal fato é justificado pelo fato de que as fêmeas adultas remanescentes, do parasito começarão a produzir ovos, que darão origem à novas larvas e conseqüentemente à novos vermes adultos, iniciando desta forma um novo ciclo infectante, dando origem assim, à fase de recidiva do paciente. De uma forma geral, o ciclo de vida deste parasito, marcado pela sua reprodução no próprio local da lesão, dificulta demasiadamente a eficácia do protocolo terapêutico (CAMPOS et al., 2017).

Indubitavelmente, o tratamento farmacológico é de fundamental importância, porém a limpeza cirúrgica das lesões é também relevante, quando instituído como método auxiliar no tratamento de alguns casos dessa enfermidade (MAQUINÉ et al., 2018). Destacam-se, dois dos três casos descritos por Veloso et al. (1992), nos quais as pacientes foram tratadas inicialmente com antibióticos, anticonvulsivantes e anti-helmínticos. Caso 1: Mebendazol 100 mg 2 x dia/3 dias e Tiabendazol 50 mg/Kg peso/dia/2 dias; Caso 2: Tiabendazol 50 mg/Kg peso/dia/2 dias. Em ambos os casos as pacientes foram submetidas à procedimentos cirúrgicos para esvaziamento cervical, em um dos casos foi possível observar a cura inicial aparente, seguida de recidiva. No segundo caso, mesmo como o procedimento cirúrgico, não houve sucesso. Seguiram-se várias recidivas e remissões, acompanhadas de intervenções médicas, por fim, a paciente apresentou sinais de acometimento neurológico, como confusão mental, convulsões, vômitos, papiledema e paralisia facial contralateral, agravando desta forma o quadro desta. Conseqüentemente, a paciente foi submetida a uma craniotomia da fossa posterior, e mastoidectomia radical à esquerda. Durante o procedimento cirúrgico, foram retirados numerosos vermes. Infelizmente a paciente não recobrou a consciência após a cirurgia, entrando em coma profundo e indo à óbito no primeiro dia do pós operatório.

Partindo-se dos casos de Veloso et al. (1992), denota-se, que mesmo, na iminência da combinação de procedimentos cirúrgicos com o tratamento medicamentoso, o sucesso da terapêutica não é garantido. Levando em consideração todo o arsenal terapêutico utilizado, na lagochilascariase humana (Figura 5), pode-se afirmar que é uma enfermidade que apresenta um alto grau de dificuldade de tratamento, assim sendo, os pacientes necessitam serem monitorados por longos períodos, uma vez que as recidivas após a cura aparente é uma constante, levando à perpetuação da doença, e em alguns casos, até mesmo podendo causar a morte (CAMPOS et al., 2016).

PACIENTE N°	ABCESSO	DROGAS	DOSES	EVOLUÇÃO	REFERÊNCIA
1	RC e SN	Dietilcarbamazina	Três comprimidos de 50mg/três vezes ao dia (1000 comprimidos)	Doença crônica	(DRAPER., 1963)
2	CR		500mg duas vezes ao dia por três dias sucessivos	Óbito do paciente	(OOSTBURG; VARMA,1968)
3	RC		50mg/Kg peso corporal por dia durante 5 dias	Sem acompanhamento	(OOSTBURG, 1971)
4	Ms,OM, e SNC	Tiabendazol	50mg/Kg peso corporal por dia durante 5 dias	Óbito do paciente	(VELOSO et. al.,1992)
5	Ms,OM, RC e SNC		2,000 mg/24h	Óbito do paciente	(ORIHUELA et. al.,1987)
6	RC	Levamisol	150 mg por dia durante três dias	Provável cura	(CHIEFFI et. al.,1981)
7	RSM	Pamoato de Pirantel	700 mg por dia durante cinco dias	Sem acompanhamento	(BOTERO;PEQUEN O,1984)
8	RC	Levamisol	150 mg por dia durante quatro semanas	Provável cura	(MOURA et. al.,2012)
9	SN		400 mg (dose única)	Não curado	(BARRERA-PÉRES et. al.,2012)
10	Ms	Albendazol	400 mg uma vez ao dia durante trinta dias	Sem acompanhamento	(BARRERA-PÉRES et. al.,2012)
		Tiabendazol	500 mg duas ao dia durante três dias	Não curado	(LEÃO et. al.,1978)
11	RC	Dietilcarbamazina	100 mg três vezes ao dia durante 144 dias	Provável cura	
12	Ms	Tiabendazol	500 mg três vezes ao dia por seis dias	Não curado	(MORAES; ARNAUD; LIMA, 1983)
		Dietilcarbamazina	100mg duas vezes ao dia	Provável cura	
13	SN e Ms	Tiabendazol	50 mg/Kg de peso corporal por dia durante cinco semanas	Não curado	(VOLCAN; OCHOA; MEDRANO, 1982)
		Levamisol	50 mg por dia durante 10 dias	Não curado	
		Levamisol	150 mg por semana durante 3 meses	Provável cura	
14	RC	Levamisol E Praziquantel	2,5 mg/Kg de peso corporal por dia durante 15 dias	Sem acompanhamento	(VELOSO et. al.,1992)
			15 mg/Kg de peso corporal (dose única)		
15	RC	Tiabendazol	25 mg/KG de peso corporal uma vez ao dia durante 10 dias	Não curado	(OOSTBURG, 1992)
		Levamisol	150 mg por dia durante dez dias	Não curado	
		Albendazol	400 mg por dia durante 36 dias	Provável cura	
		Tiabendazol	30 mg/Kg de peso corporal por dia durante 3 dias (mal tolerado)	Não cura	
16	SN	Mebendazol	15 mg/Kg peso corporal por dia durante 6 dias	Não cura	(BOTERO;PEQUEN O,1984)
			200 mg/dia durante 4 dias		
		Levamisol	150 mg três vezes ao dia durante 8 dias		
			150 mg uma vez ao dia, três dias por semana durante 12 semanas	Provável cura	
		Associações:			
		Mebendazol	100 mg duas vezes ao dia durante 3 dias		
		Tiabendazol	50 mg/Kg peso corporal por dia durante 2 dias	Não curado	
17	OM,SNC		2,5 mg/Kg de peso corporal por dia durante 30 dias	Sem acompanhamento	(VELOSO et. al.,1992)
		Levamisol			
		Cambendazol	36 mg por dia durante 20 dias		
		Cambendazol	4 ciclos de 30mg/Kg de peso corporal por dia durante 5 dias, repetido após 10 dias de intervalo	Não curado	
		Levamisol	150 mg por dia durante 10 dias,depois 150 mg uma vez por semana durante 3 meses	Não curado	
18	Ms,OT e SNC	Ivermectina	2 ciclos de quatro doses de 0,2mg/Kg de peso corporal em intervalos semanal, seguido de 1 mês sem terapia Posteriormente doses mensais durante 6 meses.	Provável cura	(BENTO et. al.,1993)
19	RC	Ivermectina	300µg/Kg de peso corporal com intervalos semanais durante 12 semanas	Provável cura	(ARTIGAS et.al.,1968)
		Ivermectina e	200 µg /Kg de peso corporal durante 1 semana	Sem acompanhamento	
20	SN,Ms e OM	Tiabendazol	1 comprimido por dia durante 3 dias , rereitado após 15 dias		(ROIG et. al.,2010)

**Figura 5.** Medicamentos usados contra lagochilascariase. Protocolos terapêuticos em 20 pacientes infectados por *Lagochilascaris minor* . RC= Região Cervical, SN= Seios Nasal, Ms= Mastoide, OE= Ouvido Médio, TS= Tonsilas, OT=Osso Temporal, RSM=Região Sub Mandibular, SNC=Sistema Nervoso Central. Fonte: (CAMPOS et.al., 2017).

O arsenal medicamentoso utilizado no tratamento desta enfermidade, em sua maioria, trata-se de drogas bastante antigas, e apesar deste agravante, nota-se pouco ou nenhum investimento em pesquisas para o tratamento desta parasitose, pela indústria farmacêutica. Os medicamentos disponíveis para tratamento, apresentam baixo nível de eficácia, fato este comprovado pela observação de recidiva em casos de lagochilascaríase diagnosticado e tratado com anti-helmínticos convencionais (CAMPOS et al., 2017).

### 1.7. Aspectos Epidemiológicos

Conforme mencionado anteriormente, a lagochilascaríase humana é uma enfermidade restrita à região neotropical. Tem sido descrita no México, Trinidad-Tobago, Suriname, Colômbia, Venezuela, Bolívia, Paraguai, Costa Rica, Equador, Peru e Brasil (CAMPOS et al., 2017).

Regiões neotropicais, são aquelas situadas desde o México Central, até o sul do Brasil, sendo incluído, a América Central, ilhas do Caribe, e quase a totalidade das regiões Sul-Americanas, torna-se notório ressaltar, que esta região alberga os maiores números em fauna e flora mundial, é destacável denotar ainda, que sete dos 35 *hotspots*<sup>2</sup> de biodiversidades estão situados em regiões neotropicais (LIMA et al., 2018). Trata-se, desta forma, de um cenário consideravelmente atraente para pesquisas, porém, espécies pertencentes à essas regiões são pouco estudadas, conseqüentemente, são ainda bastante desconhecidas ou mesmo, se possui pouca compreensão à cerca de seus aspectos ecológicos, origem, bem como história evolutiva ou mesmo manutenção dessa rica biodiversidade (ANTONELLI; SANMARTIN, 2011; TURCHETTO-ZOLLET et al., 2013; TINOCO et al., 2015).

Em relação os fatores presentes na área neotropical que propiciam a transmissão desta doença, destaca-se a presença de seu hospedeiro definitivo natural (*Puma concolor*, *Speothus venaticum*), hospedeiro intermediário natural (roedores, especialmente *Dasyprocta agouti*). Tal como a maioria das doenças tropicais, acomete quase somente pessoas de menor poder aquisitivo. Os indivíduos infectados geralmente vivem em habitações precárias ao lado de mata densa sobrevivendo da ingestão de carne de animais silvestres tais como: tatu, preá, cutia, paca, porco do mato, jabuti e outros animais (CAMPOS, 2010). A migração humana dos centros

---

<sup>2</sup> *Hotspots* - Este termo é utilizado para designar lugares que apresentam uma grande riqueza natural e uma elevada biodiversidade, mas que, no entanto, encontram-se ameaçados de extinção ou que passam por um corrente processo de degradação. Trata-se dos lugares do planeta onde a conservação de suas feições naturais faz-se mais urgente.

urbanos para o campo, num processo inverso ao êxodo rural, contribui sem dúvida para o incremento da casuística humana nesta helmintíase (CAMPOS, 2010).

O Brasil, dentre os países Sul-Americanos, destaca-se por apresentar um maior número de casos 78,1% (100/128), sendo que estes se concentram principalmente na região norte do país (CAMPOS, et al., 2017). O primeiro caso de lagochilascaríase descrito no Brasil, foi registrado por Artigas et al. (1968) em uma paciente do estado de São Paulo, que apresentava lesões fistulizadas, na região do pescoço. Os casos brasileiros ocorrem principalmente, em moradores de regiões mais precárias da Amazônia brasileira, como áreas rurais dos estados do Pará, seguido por Rondônia, Tocantins, Mato Grosso, Roraima, Acre, São Paulo, Paraná, Goiás, Maranhão, Paraíba, Mato e Grosso do Sul. A maior concentração dos casos, registrados na literatura, ocorre no sudeste do Estado do Pará e norte do Estado do Tocantins, região que corresponde aos vales dos rios Araguaia e Tocantins (CAMPOS, 2010).

Ressalta-se, a ocorrência de casos fora da região amazônica, como nos estados de Goiás, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná, Paraíba e Maranhão, onde nestes, há o relato, de pelo menos um caso em cada estado citado (CAMPOS, et al., 2017). Mais recentemente, foram descritos dois novos casos desta enfermidade no Brasil, ambos relatados em pacientes procedentes do estado do Pará (BARRETO et al., 2018; MAQUINÉ et al., 2018).

A ingestão de carne crua ou mal cozida de roedores silvestres, contendo larvas encistadas do parasito, constitui fator de risco para a aquisição da lagochilascaríase (CAMPOS, 2010). Se o canal alimentar de carnívoros constitui o habitat normal deste verme, ovos eliminados nas fezes do hospedeiro natural infectado poderão contaminar o solo. Roedores silvestres, hospedeiros intermediários ou paratênicos tornam-se passíveis de se infectar ingerindo ovos embrionados presentes no meio ambiente. Por consequência, tais animais desempenham um papel importante na cadeia epidemiológica desta doença (CAMPOS, 2010).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARTIGAS, P.T.; ARAUJO, P.; ROMITI, N.; RUIVO, M. A new case of human parasitism, by *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, observed in the State of São Paulo, Brasil. **Rev. Inst. Med. Trop.**, São Paulo, v.10, n.2, p.78 - 83, 1968.
- AQUINO, R.T.R.; MAGLIARI, M.E.R.; FILHO, J.V.; SILVA, M.A.L.G.; LIMA, C.A.C.; ROCHA, A.J.; SILVA, C.J.; REWIN, J.A.; NAHAS, T.R.; CHIEFFI, P.P. Lagochilascariasis leading to severe involvement of ocular globes, ears and meninges. **Rev. do Inst. Med. Trop.**, São Paulo, v. 50, n.6, p. 355-358, 2008.
- BARBOSA, A.P.; CAMPOS, D.M.B.; SEMERENE, A.R.; TEIXEIRA, A.R.; SANTONE, J.M. *Lagochilascaris* Larvas de terceiro estágio *secundárias* secretam metaloproteases com especificidade para o fibrinogênio e colágeno nativo. **Microbes. Infect.**, v.8, p. 2725-2732, 2006.
- BARBOSA, A.L. P.; CAMPOS, D.M.B.; VIEIRA, M.A.; OLIVEIRA, A.A. Avaliação in vitro da atividade ovicida e larvicida da ivermectina sobre *Lagochilascaris minor*. **Rev. Patol. Trop.** v.26, n.1, p.57-68, 1997.
- BARRERA-PÉREZ, M.; MANRIQUE-SAIDE, P.; REYES-NOVELO, E.; ESCOBEDO-ORTEGÓN, J.; SÁNCHEZ-MORENO, M.; SÁNCHEZ, C. *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909 (Nematoda: Ascarididae) in Mexico: three clinical cases from the Peninsula of Yucatan. **Rev. do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v.54, n.6, p. 315-317, 2012.
- BARRETO, L.F.; D'ANUNCIACÃO, L.; PLISKER, P.; WERKEMA, F.; BERENSTEIN, C.K. Lagochilascariasis: case report. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v.54, n.4, p.245-248, 2018.
- BENTO, R.F.; MAZZA, C.C.; MOTTI, E.F.; CHAN, Y.T.; GUIMARÃES, J.R.R.; MINITI, A. Human lagochilascariasis treated sucessfully with ivermectin: A case report. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, São Paulo, v.35, n.4, p.373-375, 1993.
- BOTERO, D.; LITTLE, M.D. Two cases of human *Lagochilascaris* infection in Colombia. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** Cleveland, EUA, v.33, n.3, p. 381 - 6, 1984.
- BOWMAN, D.D.; SMITH, J.L.; LITTLE, M.D. *Lagochilascaris sprengi* sp. n. (Nematoda Ascariididae) from the opssum, *Didelphis viginiana* (Marsupialia: Didelphidae). **J. parasit.** v. 69, n. 4, p.754-760, 1983.
- BRITO, M.A. Investment in drugs for neglected diseases: a portrait of the last five years. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Uberaba, v. 46, p.1-2, 2013.
- CALDEIRA, N.M.S. **Padronização de ensaio imunoenzimático e cinética de produção de anticorpos das classes IgM, IgG e IgA na Lagochilascariase murina experimental.** 2005. 59 p. Dissertação de mestrado, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública - Universidade Federal de Goiás.
- CAMPOS, D.M.B.; CARNEIRO, J.R.; SOUZA, L.C.S. Ação “in vivo” do Ivermectin sobre ovos de *lagochilascaris minor* Leiper, 1909. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo, v.30, p.305-309, 1988.
- CAMPOS, D.M.B.; BRESSAN, M.C.R.V.; ROSA, Z.S. Considerações sobre a evolução do *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. I - Número de mudas de larvas no interior do ovo. **In:**

**Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 25. Florianópolis, 1989. Resumes, p. 198.

CAMPOS, D.M.B.; FREIRE FILHA, L.G.; VIEIRA, M.A.; PAÇÔ, J.M.; MAIA, M.A. Experimental life cycle of *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo.v.34, n.4, p.277-287, 1992.

CAMPOS, D. M. B. *Lagochilascariase*. In: Benjamin Cimerman & Sergio Cimerman. (Org.). **Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais**. 2ªed.Rio de janeiro. São Paulo: Atheneu, 2010, p. 321-333.

CAMPOS, D.M.B; BARBOSA, A.P. *Lagochilascaris*. In: NEVES, D.P.; MELO, A.L.; LINARDI, P.M.; VITOR, R.W.A. editors. **Parasitologia humana**. 13ªed. São Paulo: Atheneu; 2016. p.514 - 23.

CAMPOS, D.M.B.; BARBOSA, A.P.; OLIVEIRA, J.A.; BARBOSA, C.A.L.; LOBO, T.C. SILVA, L.G.; THOMAZ, D.V.; PEIXOTO, J.C. Evaluation of the therapeutic efficacy of levamisole hydrochloride on third-stage larvae of *Lagochilascaris minor* in experimentally infected mice. **Rev Inst Med Trop**. São Paulo. v.58, n.1, p.1-5, 2016.

CAMPOS D.M.B.; BARBOSA, A.P.; OLIVEIRA, J.A.D.; TAVARES, G.G.; CRAVO, P.V.L.; OSTERMAYER, A. L. Human *lagochilascariasis* A rare helminthic disease. **Rev. Plos. Negl.Trop. Dis**. San Francisco, v. 11 n.6, p. 1-16, 2017.

CANAVAN, W.P.N. Nematode parasites of vertebrates in the Philadelphia Zoological Garden and vicinity. **Parasitology**. v. 23, p.196–229, 1931.

COSTA, H.M.; SILVA, A.V.M.; COSTA, P.R.; ASSIS, S.B. *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909, (Nematoda-Ascaridae) de origem humana. **Rev.Inst.Med.Trop**.São Paulo, v.28,n.2, p. 126-130, 1986.

DOUMA, J. A. J.; AKRUM, R.A.E.; JOE, R.T.T.; CHAN, M.; CODRINGTON, J.; VREDEN, S.G.S. Case Report: A case of *lagochilascariasis* in Suriname with the involvement of the ENT system and the skull base. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 1, p. 88–91, 2016.

FALCON-ORDAZ, J.; ITURBE-MORGADO, J.C.; ROJAS-MARTÍNEZ, A.E.; GARCÍA-PRIETO, L. *Lagochilascaris minor*(Nematoda: Ascaridae) from a Wild Cougar (*Puma concolor*) in Mexico. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v.52, N.3, p.000-000,2016.

FEHLBERG, MF; SILVA, DS; LANGONE, PQ; SILVA, MAMP; PESENTI, TC; MASCARENHAS, CS et al. *Lagochilascariasis* in cats (*Felis catus domesticus*) in southern Brazil. **J Feline Med Surg**, v.16, n. 12, p. 1007 – 1009, 2014.

FRAIHA-NETO,H.;ROCHA, M.C.P.; ARAÚJO,O.J.; BARROS, V.L.R.S.; PRIMO,A.; MORAES, M.A.P.; CONCEIÇÃO, J.R.; OLIVEIRA, J.E.G. Patologia Amazônica II. Infecção humana por *Lagochilascaris* Leiper, 1909 (Nematoda-Ascaridae). Registro de três novos casos e formulação de nova hipótese para o mecanismo de transmissão. In: **Congresso da Federação Latino-Americana de Parasitológicos,6., Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, 8. e Jornada Paulista de Parasitologia,5.**; São Paulo, Resumos. São Paulo, FLAP,1983. P.146.

FRAIHA-NETO, H.; LEÃO, R.N.; BARROS, V.L.; CARVALHO, R.A. *Lagochilascariase*.In: **Instituto Evandro Chagas: 50 anos de contribuição às Ciências**

Biológicas e Medicina Tropical. Belém, PA., Fundação Secretaria do Estado de Saúde Pública; p. 221-42, 1986.

FRAIHA,H.; LEÃO,R.N.Q.; COSTA,F.S.A.- Lagochilascariase humana e dos animais domésticos. **Zoon. Rev. Int.**, v.1, N.1, p.25-33,1989.

FRAIHA-NETO, H.; LEAO, R.N. Lagochilascariase. In: Coura JR, editor. **Dinamica das doenças infecciosas e parasitarias**. Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan; 2005. p.1081-6.

FREITAS, J.G.; PRUDENTE, M.F.S.; SPADAFORA-FERREIRA, M.; JUNQUEIRA-KIPNIS, A.P.; DE PAULA, E.C.; TAMBOURGI, D.V.; LINO-JÚNIOR, R.S.; CARVALHAES, M.S. *Lagochilascaris minor*: Experimental infection of C57BL/6 and BALB/c isogenic mice reveals the presence of adult worms. **Experimental Parasitology.**, v.119, p.325-331,2008.

FURTADO DE MENDONÇA, J.L.; VIANA S.L.; SILVA, N.A.; VIANA, M.A.C.B.; CANUTO-NATAL, M.R.; COIMBRA, P.P.A.; PESSOA, R.C.C. Human lagochilascariasis: Emphasizing imaging findings. **Rev.Neurologia**, Barcelona, v.41, n.11, p.702-704,2005.

HOTEZ, P.J.; BOTTAZZI, M.E.; FRANCO-PAREDES, C.; AULT, S.K. & PERIAGO, M.R. The neglected tropical diseases of Latin America and the Caribbean: a review of disease burden and distribution and a roadmap for control and elimination. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, San Francisco, v.2, p. e300, 2008.

LEÃO,R.N.Q.;FRAIHA,H.Lagochilascariase. In: TONELI,E.; FREIRE, L.M.S. **Doenças infecciosas na infância e adolescência**. 2 ed. Rio de Janeiro: Medsi, p. 1432-1440; 2000

LEÃO R.N.Q.; FRAIHA-NETO H.; DIAS L.B. Lagochilascariase. In: Veronesi R, Focaccia R, editors, **Tratado de Infectologia**. 5. ed. São Paulo, Atheneu, 2015. p.2107 - 11.

LEIPER, R.T. A new nematode worm from Trinidad, *Lagochilascaris minor*. **Proc. Zool Soc.**, London, v.4, p. 742-743, 1909.

LEIPER, R.T. Nematodes. **Wissenschaftliche ergebnisse der schwedischen zoologischen expedition nach dem Kilimandjaro, dem meru und den umgebenden massaisteppen Deutsch-Ostafrikas 1905–1906 unter letung von Prof. Dr. Yngve Sjööstedt. Hrsq. MIT unterstu"tzung von der Konigl.** Schwedischen Akademie der Wissenschaften, Stockholm, Sweden, 1910. 232 pp.

LIMA, Natácia Evangelista de et al. Caracterização e história biogeográfica dos ecossistemas secos neotropicais. **Rodriguésia**, v. 69, n. 4, p. 2209-2222, 2018.

MAQUINÉ, G.A.; WANDERLEY, B.R.; MELO, T.N.B.; WANDERLEY, R.B.; BARRETO, R.A.F. Lagoquilascariase humana: um diagnóstico a ser lembrado diante de tumoração de cabeça e pescoço: relato de caso. **Rev. Soc. Bras. Clin. Med.** São Paulo, v.16, n.1, p.45-7,2018.

MORAES, M.A.P.; ARNAUD, M.V.V.; MACEDO, R.C.; ANGLADA, A.E. Infecção pulmonar por *Lagochilascaris sp.*, provavelmente *Lagochilascaris minor* Leiper 1909. **Rev. Inst.Med.Trop.** São Paulo, v.27, p.46-52,1985.

NEVES, D.P.; MELO, A.L.; LINARDI, P.M.; VITOR, R.W.A. editors. **Parasitologia humana**. 13ª ed. São Paulo: Atheneu; 2016.

OLIVEIRA, J.A.; VIEIRA, M.A.; SILVA, A.C.; BARBOSA, C.A.L.; VELOSO, A.P. Ação de agentes químicos e físicos sobre ovos de *Lagochilascaris minor*.(Leiper ,1909). **Rev. Pat. Trop.** v.24, n.2, p.301-311,1995.

OLIVEIRA, J. A. **Caracterização morfológica do verme adulto macho de *Lagochilascaris minor* Leiper, (1909) através de técnica de microscopia eletrônica de transmissão convencional.** 1999. 97 p. Dissertação de mestrado - Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública - Universidade Federal de Goiás.

OLIVEIRA, J.A.; BARBOSA, C.A.L.; VIEIRA, M.A.; PAÇÔ, J.M.; CARRIJO, A.S.; FIORINI, M.P.; CAMPOS, D.M.B. Isolado de *Lagochilascaris minor*: Procedimentos para obtenção de ovos infectantes. **Rev. Pat. Trop.** v.31, n.1, p.121-128, 2002.

OOSTBURG, B.F.; VARMA, A.A. *Lagochilascaris minor* infection in Surinam. Report of a case. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** Cleveland, EUA, v.17, n.4, p.548 - 50, 1968.

ORIHUELA, R.; BOTTO, C.; DELGADO, O.; ORTIZ, A.; SUAREZ, J.A.; ARGUELLO, C. Human lagochilascariasis in Venezuela: description of a fatal case. **Rev Soc Bras Med Trop.** Uberaba, v.20, n.4, p.217 - 21, 1987.

PAÇÔ, J.M.- **Comprovação experimental da importância de roedores silvestres na transmissão da lagochilascaris.** Goiânia, 1994. 82 p. (Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Patologia Tropical para obtenção do Título de Mestre em Patologia Tropical, área de concentração parasitologia. Curso de Pós Graduação em patologia Tropical, Universidade Federal de Goiás).

PAÇÔ, J.M.; CAMPOS, D.M.B. *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909: Nove décadas de revisão bibliográfica. **Rev. Patol. Trop.**, Goiânia, v.27, n.1, p.11-34, 1998.

PACO, J.M.; CAMPOS, D.M.; OLIVEIRA, J.A. Wild rodents as experimental intermediate hosts of *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** Rio de Janeiro, v.94, p.441-9, 1999.

PAIXÃO, T.F.P. **LAGOCHILASCARIÍASE HUMANA: fatores bióticos e abióticos envolvidos na transmissão da lagochilascariíase humana na região neotropical.** 2019. Dissertação (Mestrado em Sociedade Tecnologia e Meio Ambiente) Centro Universitário de Anápolis – UniEvangélica, Anápolis-2019.

PALHETA-NETO, F.X.; LEÃO, R.N.; NETO, H.F.; TOMITA, S.; LIMA, M.A.; PEZZIN-PALHETA, A.C. Contribuição ao estudo da lagochilascariíase humana. **Rev Bras Otorrinolaringol.** São Paulo, v.68, n.1, p.101-5, 2002.

PAWAN, J.L. A case of infection with *Lagochilascaris minor*, Leiper, 1909. **Ann. Trop. Med. Parasitol.** Bethesda, v.20, n.2, p.201±2, 1926.

ROCHA, M. P. C., FRAIHA-NETO, H.; BARRETO, A. C. P. Infecção de ouvido médio e mastoide por *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909 (Nematoda, Ascarididae). Relato de um caso do sul do Estado do Pará, Amazônia, Brasil. **Hiléia Médica.** Belém, v.6, n.2, p.3-14, 1984.

ROIG, J.L.; FORTEZA, J.L.; GRANATO, L.; SERAFINI, D.P. Otomastoiditis with right retroauricular fistula by *Lagochilascaris minor*. **Braz J Otorhinolaryngol.** São Paulo, v.76, p.407, 2010.

STOSSICH, M. Spora alcuni nematodi della collezione elmintologica del prof. dott. Corrado Parona. **Boll Mus Zool Anat Univ,** Genova, v. 116, p.1-16, 1902.

SCOTT, P.A.; SHER, A. Immunoparasitology. Em **WE Paul, Fundamental Immunology,** Raven Press, Nova York, p. 1179-1210, 1993.

- SEMERENE, A.R.; LINO JUNIOR, R.S.; OLIVEIRA, J. AJ.; MAGALHÃES, A.V.; STEFANE, M.M.A.; BARBOSA, A.P.; CAMPOS, D.M.B. Experimental lagoscharioses: Histopathological study of inflammatory response to larval migration in the murine model. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** Rio de Janeiro, v.99, n.4, p.393-398, 2004.
- SPRENT, J.F.A. Speciation and development in the genus *Lagochilascaris*. **Parasitology**, v.62, p.71-112, 1971.
- SMITH, J.L.; BOWMAN, D.D.; LITTLE, M.D. Life cycle and development of *Lagochilascaris sprenti* (Nematoda: Ascarididae) from opossums (Marsupialia: Didelphidae) in Louisiana. **J. Parasitol.** Lawrence, v.69 n.4, p.736-45, 1983.
- SUDRÉ, AP; UCHÔA, F; BRENER B. Lagochilascariasis in a housecat and the potential risk for human disease. **Braz J Infect Dis**, v. 16, n.1, p. 111-112, 2012.
- TRAVASSOS, L. Pesquisas científicas realizadas em Angra dos Reis. **Folia Med.** v. 5, p.152-153, 1924.
- VELOSO, M.G.; FARIA, M.C.; DE FREITAS, J.D.; MORAES M.A.; GORINI, D.F.; DE MENDONÇA, J.L. Human lagochilascariasis. 3 cases encountered in the Federal District, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo, v. 34, n.6, p.587±91, 1992.
- VOLCÁN, G.G.S.; MEDRANO, P.C.E. Infección inducida em El roedor selvático *Dasyprocta leporina* (Rodentia: Dasyproctidae), com huervos larvados de *Lagochilascaris minor* (Nematoda: Ascarididae), **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo, v.32, n.6, p.395-402, 1990.
- VOLCÁN, GS; MEDRANO, P; CLEMENCIA, E. Infección natural de *Speothos venaticus* (Carnivora: Canidae) por estadios adultos de *Lagochilascaris* sp. **Rev Inst Med Trop S Paulo**, v.33, n. 6, p.451-458, 1991.
- VOLCÁN, G.S.; MEDRANO, C.E.; PAYARES, G. Experimental heteroxenous cycle of *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909 (Nematoda: Ascarididae) in white mice and cats. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.87, p. 525-532, 1992.
- WANG, P.; WANG, Y. A study of nematode parasites of amphibians and reptiles from Fujian, China, with descriptions of one new family, one new genus and two new species. **Wuyi Sci J.** v. 8, p.139-146, 1991.
- WINCKEL, W.E.F.; TREURNIET, A. E. Infestation with *Lagochilascaris minor* (Leiper) in man. **Doc. Med. Geo. Trop.**, v.8, p.23-8, 1956.

## CAPÍTULO II

### *Lagochilascaris minor* 1989 - 2020. CULTIVO EM LABORATÓRIO POR 31 ANOS

**RESUMO.** A região Neotropical, compreende uma área do México Central ao sul do Brasil. Possui o maior número de plantas e animais no mundo, incluindo sete dos 35 hotspots de biodiversidade. Na região Neotropical ocorre uma helmintíase, a lagochilascariase que tem como agente etiológico *Lagochilascaris minor*. A doença é registrada no México, Trinidad-Tobago, Suriname, Colômbia, Venezuela, Bolívia, Paraguai, Costa Rica, Equador, Peru e Brasil sendo que este último país detêm a maior casuística mundial. A lagochilascariase causa no homem lesões no pescoço, mastoide, ouvido médio, seios nasais, pulmões, rino e orofaringe, região sacra, alvéolo dentário, globo ocular. A sintomatologia depende do órgão acometido, da carga parasitária. Hoje, não há dúvida de que o homem se infecta por ingestão de carne crua ou mal cozida de roedores silvestres, contendo larvas do parasito, presentes na área neotropical. Esse parasito tem sido mantido em condições experimentais na Universidade Federal de Goiás, desde 1989. Visando contribuir com alguns aspectos da epidemiologia desse helminto avaliou-se, na oportunidade, a infectividade de ovos de *L. minor* mantidos *in vitro* em solução de formalina a 1%, por um período de 300 dias. Os ovos foram examinados microscopicamente, no primeiro mês a cada 2 dias e posteriormente 1 vez por semana. Além da microscopia, camundongos foram inoculados, por via oral, com 1500 ovos. Os resultados evidenciaram que os ovos mantiveram o seu poder infectante, durante todo o período estudado. Apresentaram uma considerável resistência *in vitro* semelhante a ovos de outros ascarídeos, parasitos do homem na América Latina, que mantêm o seu poder infectante no solo, mesmo sob condições adversas.

#### **PALAVRAS-CHAVE**

*Lagochilascaris minor*; Lagochilascariase; Resistência helmíntica.

## **Lagochilascaris minor 1989-2020. LABORATORY CULTIVATION FOR 31 YEARS**

**ABSTRACT.** The Neotropical region, comprises an area of Central Mexico to the south of Brazil. It has the largest number of plants and animals in the world, including seven of the 35 biodiversity hotspots. In the neotropical region there is helminthiasis, lagochilascariasis, which has *Lagochilascaris minor* as its etiological agent. The disease is registered in Mexico, Trinidad-Tobago, Suriname, Colombia, Venezuela, Bolivia, Paraguay, Costa Rica, Ecuador, Peru and Brazil, the latter having the largest casuistry in the world. Lagochilascariasis causes injuries in the neck, mastoid, middle ear, nasal sinuses, lungs, rhino-oropharynx, sacral region, dental alveolus, eyeball. The symptomatology depends on the affected organ, the parasitic load. Today, there is no doubt that man is infected by eating raw or undercooked meat from wild rodents, containing larvae of the parasite, present in the neotropical area. This parasite has been maintained in the Parasitology / IPTSP / UFG laboratory since 1989. In order to contribute to some aspects of the helminth's epidemiology, the infectivity of *L. minor* eggs kept in vitro in a 1% formalin solution was evaluated. %, for a period of 300 days. The eggs were examined microscopically, in the first month every 2 days and then once a week. In addition to microscopy, mice were inoculated orally with 15,000 eggs. The results showed that the eggs maintained their infectious power throughout the studied period. They presented considerable in vitro resistance similar to eggs of other ascarids, parasites of man in Latin America, which maintain their infective power in the soil, even under adverse conditions.

### **KEY WORDS**

*Lagochilascaris minor*; Lagochilascariasis; Helminthic resistance.

## 1. INTRODUÇÃO

*Lagochilascaris minor* foi descrito em material de origem humana procedente de Trinidad Tobago (Leiper, 1909). É uma helmintíase rara, uma doença negligenciada (CAMPOS et al., 2017) e tem suscitado questionamentos sobre o seu hospedeiro natural, formas de transmissão, terapêutica e diagnóstico. A falta de conhecimentos sobre a transmissão e outros aspectos inerentes à biologia de *L. minor* motivou vários pesquisadores a estudarem o parasito em laboratório. Destacam-se os trabalhos de Winckel e Treurniet (1956); Sprent, (1971); Smith et al., 1983; Fraiha et. al., (1983, 1986, 1989); Campos et al., (1989); Campos et al., (1992) Volcan et al., (1992); Paçô et al., (1994).

Segundo Winckel e Treurniet (1956), a transmissão de *L. minor*, ocorre de forma mecânica através de tabanídeos (mutucas), que carreariam o parasito, a partir de fezes de seu hospedeiro natural até o hospedeiro humano. Desta forma, os ovos seriam depositados diretamente nas áreas comumente comprometidas, havendo assim, penetração e desenvolvimento das larvas.

Sprent (1971), referiu, que a infecção se daria, a partir da ingestão de ovos embrionados, neste caso, guardando semelhança com o ciclo do *Ascaris lumbricoides*. As larvas fariam obrigatoriamente ciclo pulmonar e após este trajeto, fariam percurso ascendente pela traqueia, aderindo-se à mucosa da orofaringe, o que possibilitaria sua penetração nesses tecidos, desenvolvimento, bem como acasalamento e reprodução, originando assim as lesões no homem.

Para Fraiha et al., (1983, 1986, 1989), a infecção se daria através da ingestão de água não filtrada e contaminadas com fezes do hospedeiro natural, contendo larvas infectantes do parasito (larvas de terceiro estágio). Após a ingestão, essas larvas penetrariam diretamente na mucosa orofaríngea, não necessitando dessa forma, de um ciclo pulmonar.

Porém dentre todas as teorias, a hipótese mais aceita foi a de Smith et al., (1983), que supuseram que a infecção seria causada, pela ingestão de larvas encistadas nos músculos e outros tecidos de animais silvestres. Campos et al., (1989; 1992) confirmaram essa hipótese utilizando camundongos e gatos domésticos no ciclo evolutivo experimental. Relataram a ocorrência de duas mudas cuticulares e o desenvolvimento da larva até o terceiro estágio, no interior do ovo do parasito. Após a inoculação de camundongos com ovos infectantes por via oral, foi possível observar, entre 4 e 6 horas após inoculação, a eclosão de larvas dos ovos na luz do intestino delgado e ceco. Após 6 horas, as larvas de terceiro estágio em migração, puderam ser observadas atravessando a mucosa distal do intestino delgado e ceco.

Posteriormente, as larvas já podiam ser observadas, no interior de vasos linfáticos e veia porta hepática, finalmente alcançando o parênquima hepático e pulmões, em um período variável entre 24 e 48 horas (CAMPOS et al.,1992). Segundo esses autores, após o período de migração, as larvas encistam-se principalmente no tecido subcutâneo e músculos esqueléticos dos camundongos, considerados hospedeiros intermediários do verme. Quando gatos domésticos são infectados experimentalmente com ovos de *L. minor*, o parasito não alcança sua maturidade sexual, não completando o seu ciclo evolutivo. No entanto, quando gatos são alimentados com carcaças de camundongos infectados, as larvas de terceiro estágio presentes nos cistos, eclodem no estômago do hospedeiro felino (hospedeiro definitivo), alcançam regiões como rino e orofaringe, região cervical, globo ocular, sofrendo 2 mudas (L3→ L4) e ( L4→ verme adulto) (CAMPOS et al.,2017; SUDRÉ et al., 2012; VOLCAN; MEDRANO,1990).

As lesões no rino-orofaringe dão origem a fístulas e ovos do verme são eliminados através das fezes. Graças aos trabalhos acima mencionados não há dúvida, de que a transmissão humana ocorre por ingestão de carne crua ou mal cozida de roedores silvestres e de que felídeos, até mesmo canídeos sejam hospedeiros definitivos naturais (CAMPOS et al.,2017; FALCON-ORDAZ et al.,2016; FEHLBERG et al., 2014; SUDRÉ et al., 2012; VOLCÁN; MEDRANO,1990).

Interessa-nos ressaltar aqui a manutenção de *L. minor*, pelo Laboratório de Biologia, Bioquímica de Imunologia de Helminhos (LBBIH) do Instituto de Patologia Tropical (IPTSP) da Universidade federal de Goiás (UFG), desde o ano de 1989, o que, permitiu a realização de estudos relevantes nos segmentos de Parasitologia (CAMPOS et al.,1989, 1992; PAÇÔ et al.,1999); BARBOSA et al., 2006; OLIVEIRA et al.,1995; 2002) , Histopatologia ( SEMERENE et al., 2004), Bioquímica (BARBOSA et al., 2006), Microscopia eletrônica (OLIVEIRA,1999) , Diagnostico imunológico (CALDEIRA,2005), sempre usando camundongos como hospedeiros intermediário e gato doméstico como definitivo do verme.

Ao longo do ciclo, há uma etapa *in vitro* que compreende o embrionamento de ovos em solução de formalina a 1%, sendo necessário um período de aproximadamente 30 dias para que se tornem infectantes. Essa etapa exige a utilização de camundongos para dar continuidade ao ciclo evolutivo, estes que devem ser inoculados com os ovos então obtidos. Nova etapa *in vivo* exige a utilização de gato doméstico, fase em que o ciclo se completa com a obtenção de parasitos adultos do verme. Não obstante, o benefício de se dispor do ciclo evolutivo de um verme em laboratório e a contribuição para a produção de conhecimento nessa linha de trabalho, a manutenção do ciclo exige além do rigor científico a utilização de animais em pouco espaço

de tempo. Na medida, em que alguns projetos eram desenvolvidos, observava-se que os ovos permaneciam viáveis por um período superior a 30 dias e que larvas permaneciam viáveis no interior dos nódulos granulomatosos de camundongos por um período superior a 90 dias.

Visando contribuir com aspectos relacionados à resistência de ovos desse parasito objetivou-se, através desse trabalho, verificar a embriogênese e viabilidade de ovos de *L. minor* por um período superior a 30 dias. Para tanto, utilizou-se uma suspensão de ovos mantida em laboratório *in vitro* examinada, inicialmente, a cada 2 dias e posteriormente 1 vez por semana, durante 300 dias. Com o mesmo objetivo, camundongos isogênicos da linhagem C57BL/6 foram inoculados individualmente, por via oral com 1500 ovos obtidos sob as mesmas condições.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Aspectos éticos**

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal do Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA, sob o nº001/2019.

### **2.2. O parasito**

Foi empregado o isolado de *L. minor*, cujo material foi obtido por Campos et al., (1992) em lesões da paciente ACS 22 anos de idade, procedente de Conceição do Araguaia (PA). O parasito tem sido mantido no Laboratório de Biologia Bioquímica e Imunologia de Helminhos (LBBIH) do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) na Universidade Federal de Goiás (UFG).

### **2.3. Ovos infectantes**

Utilizou-se uma suspensão de ovos *L. minor* cedida por pesquisadores do LBBIH-IPTSP que foi mantida no biotério do Centro Universitário de Anápolis, em solução de formalina 1%, por um período de 300 dias à temperatura ambiente. Foram adicionados aproximadamente, 100.000 ovos em 10 mL de solução de formalina, conforme Oliveira et al., (2002). Essa suspensão foi examinada, com auxílio de microscópio biológico, a cada 2 dias

durante 30 dias (período que corresponde ao desenvolvimento da larva de 3º estágio no interior do ovo) e em seguida 1 vez por semana, para verificar a viabilidade dos ovos, por um período de 300 dias. A observação morfológica das larvas foi feita após compressão entre lâmina e lamínula.

#### **2.4. Camundongos (*Mus musculus*)**

Foram empregados 18 camundongos isogênicos da linhagem C57BL/6, obtidos do biotério do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás. O tamanho da amostra de camundongos foi definido segundo critérios propostos por Campos et. al., (2016) e Barbosa et. al., (1998). Trabalhou-se com o menor número possível de animais na realização desse projeto, considerando uma margem de segurança no intuito de evitar repetição dos experimentos. A mortalidade é baixa, provavelmente pela relação de equilíbrio estabelecida entre hospedeiro e parasito (CAMPOS et. al., 2016).

#### **2.5. Descrição do alojamento e manejo**

Os camundongos tinham idade aproximada de 3 meses e foram mantidos em gaiola de polipropileno, com cama de maravalha estéril trocada a cada dois dias, no Biotério Central do Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, mantendo-se uma quantidade de cinco animais por gaiola. A alimentação e hidratação foram administradas *ad libitum* com ração balanceada e específica para camundongos.

#### **2.6. Preparação do inóculo**

Decorridos 300 dias, a suspensão de ovos foi centrifugada em solução fisiológica, três operações, para substituição da formalina 1%. Em seguida, foi transferida para tubos graduados de centrifugação e uma vez ajustado os volumes, foram retiradas três alíquotas de 100 µL, examinadas entre lâmina e lamínula, com auxílio de microscopia de luz. A concentração de ovos por mL foi calculada através do emprego de uma regra de três simples sobre o resultado da média aritmética das três observações.

## **2.7. Animais e vias de inoculação- camundongos**

Foram utilizados 18 camundongos *Mus musculus* isogênicos da linhagem C57Bl/6 divididos em 2 grupos, sendo Grupo 1 (TESTE - 12 animais) e Grupo 2 (CONTROLE - 5 animais). Cada animal do Grupo 1 foi inoculado com aproximadamente 1500 ovos infectantes de *L. minor*, utilizando-se uma sonda esofagiana (método de gavagem). Cada camundongo do Grupo 2 recebeu, por via oral, pelo método de gavagem 0,1 mL de solução salina. Todos os animais foram examinados clinicamente, 1 vez por semana, até o final do experimento.

## **2.8. Necrópsia de camundongos**

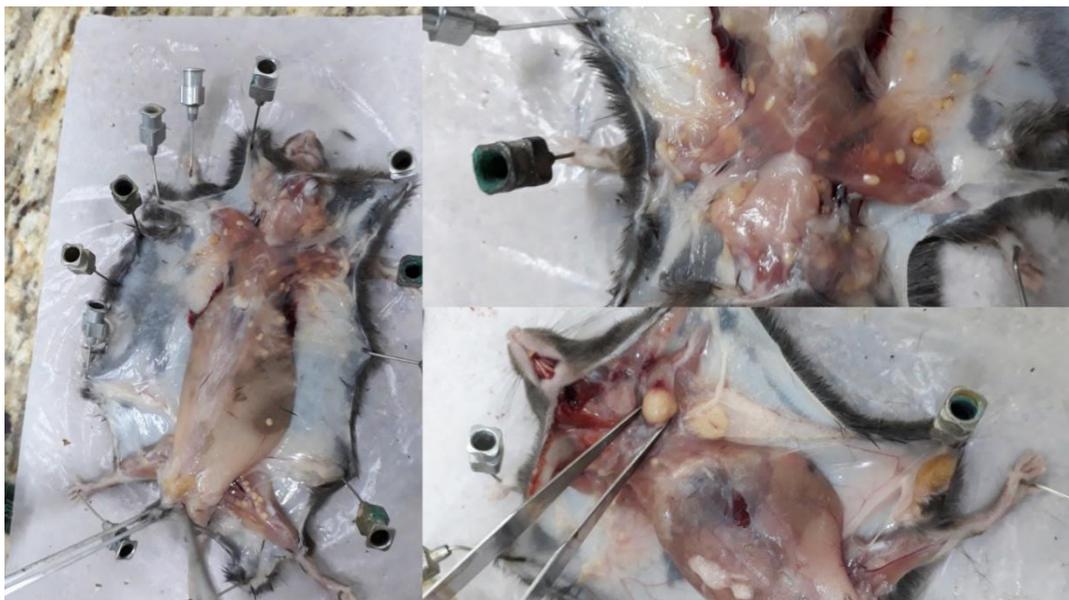
Após 90 dias da inoculação, os camundongos do Grupo 1 foram sacrificados por fratura cervical. Após exposição das cavidades torácica e abdominal, todos os órgãos foram examinados. Os tecidos foram examinados com auxílio de microscópio entomológico e as larvas retiradas dos nódulos (cistos) eram contadas e fixadas em solução de formalina a 10% a quente.

Procedimento semelhante foi usado para os animais do Grupo 2, grupo controle.

## **3. RESULTADOS**

Inicialmente, observou-se a embriogênese dos ovos (ovos com 2, 4, 8 blastômeros), e em seguida, ovos larvados. Durante a microscopia, observavam-se larvas movimentando-se no interior dos ovos, uma evidência da vitalidade das mesmas. Havia, também, ovos que ao serem comprimidos liberavam uma massa amorfa, sem larvas no seu interior.

Entre 12 camundongos inoculados, com os ovos mantidos por 300 dias em solução de formalina 1%, houve 92,3% (12/13) de infectividade, sendo que um camundongo foi ao óbito 24 h após a inoculação (HPI). Um animal, entre os 5 camundongos do grupo controle foi ao óbito 48h HPI. Acredita-se que essa letalidade tenha sido decorrente dos procedimentos de gavagem. Em todos os animais do grupo teste, observou-se a presença de nódulos na musculatura esquelética e tecidos subcutâneo (Figura 6).



**Figura 6.** Nódulos granulomatoso presentes em camundogos inoculados com 1500 ovos de *Lagochilascaris minor* mantidos em solução de formalina a 1% durante 300 dias.

Foram recuperadas 443 larvas vivas, em movimento, após extração do interior dos nódulos (Tabela 1). Os animais do grupo controle não se infectaram.

**Tabela 1.** Total de larvas recuperadas dos tecidos de 12 camundongos inoculados com 1500 ovos de *Lagochilascaris minor* mantidos em solução de formalina a 1 % durante 300 dias

<b>Animais</b>	<b>Número de larvas recuperadas por animal</b>
1	21
2	19
3	18
4	17
5	94
6	12
7	20
8	69
9	84
10	41
11	22
12	26
<b>Média de larvas recuperadas por animal</b>	<b>36,91</b>
<b>Total de larvas recuperadas</b>	<b>443</b>

#### 4. DISCUSSÃO

O termo “helminthíases transmitidas pelo solo” (do inglês STH) ou também geo-helminthíases caracteriza um grupo de helmintos, transmitidos ao homem através da contaminação do solo. Neste grupo de helmintos ou vermes ressaltam-se *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Necator americanus* e *Ancylostoma duodenale*. Estimativas mundiais, afirmam que cerca de 2 bilhões de pessoas em todo o mundo albergam estes parasitos. Dentre as populações mais acometidas, estão aqueles que vivem em áreas deficientes de sistema de saneamento básico ou ainda aqueles não possuem um abastecimento de água devidamente tratado (WHO, 2011).

Considera-se que nas infecções causadas por STH, o parasitismo evolui de forma crônica e insidiosos mais do que à letalidade. Deve-se levar em consideração, que em infecções maciças por estes parasitos, pode-se observar um déficit no desenvolvimento físico e cognitivo, que podem, pela escassez de micronutrientes, levar ao desenvolvimento, de anemias carenciais em crianças, podendo ocasionar o mau desenvolvimento escolar, em adultos existe a possibilidade da diminuição da produtividade no ambiente de trabalho, ressaltando ainda que em gestantes estas enfermidades, podem alcançar desfechos variados (HALL et al., 2008). A infecção por *L. minor*, também se enquadra na categoria de geo-helminthíases, proposto por Campos e colaboradores (2017). (CAMPOS et al., 2017).

Em 2001, durante 54<sup>o</sup> Assembleia Mundial da Saúde, foi aprovada a resolução WHA 54.19 (*World Health Assembly*), que entre outras prerrogativas, fazia menção a obrigatoriedade, de acesso à medicamentos essenciais para o tratamento das HTS para populações de áreas endêmicas (América Latina e Caribe) para grupos populacionais de alto risco de morbidade. Esta mesma resolução, fazia especificação pontual, sobre uma meta mínima para cobertura global, objetivando que, até 2010, no mínimo 75% de todas as crianças em idade escolar, que possuíssem risco de morbidade das HTS, deveriam receber tratamento regularmente, no intuito de eliminar essas parasitoses dos problemas de saúde pública (WHO, 2011, 2012). Sabe-se, que apesar dos esforços e estratégias, empregadas por vários países, essa meta mundial não foi atingida, e apenas, um terço de todas as crianças necessitadas recebeu tratamento medicamentoso adequado. Nesta direção, novas metas e estratégias no âmbito global foram traçadas para serem alcançadas até 2020 (WHO, 2011, 2012). Diante do cenário atual no âmbito da saúde pública, observa-se, que embora esforços tenham sido empregados, no sentido de tratar essas helminthíases, as metas ainda não foram alcançadas.

Ovos de helmintos pertencentes à Classe Nematoda, são bastante resistentes às condições ambientais externas. A estrutura da casca dos ovos desses parasitos apresenta resistência, complexidade que deve ser vista, como possíveis formas de adaptação, que por sua vez viria a aumentar a sobrevivência do embrião no ambiente. Ressalta-se, que a casca do ovo de helmintos é responsável pela resistência à algumas classes de anti-helmínticos (WHARTON,1980)

Esses ovos de helmintos, possuem a característica de serem extremamente resistentes, sendo impermeável à maioria das substâncias, abrindo exceção aos gases e solventes lipídicos. Essa capacidade de resistência química observada na casca do ovo de acarídeos é dada principalmente pela camada de quitina presente nessa estrutura (ARTHUR; SANBORN, 1969 apud WHARTON, 1980). Concordando com a literatura foi possível observar, através do presente trabalho, que ovos de *L. minor* permaneceram viáveis, por um período, de tempo superior aos descritos em literatura, o que estimula a realização de novas pesquisas sobre o tema.

Durante testes que envolvia helmintos, Massara (1988) descreveu a extrema resistência química da casca do ovo de *Ascaris lumbricoides*, uma vez que estes, em testes de embrionamento, foram incubados em meios que continham  $H_2SO_4$  a 0,1N e, a despeito, da substância corrosiva utilizada, os ovos não apresentaram alterações consideráveis, permanecendo viáveis pós procedimento.

Massara, Costa e Carvalho (1990), ao avaliarem a viabilidade dos ovos de *Ascaris lumbricoides* em laboratório, puderam concluir, que estes, quando incubados em solução de  $H_2SO_4$  0,1 N<sup>4</sup>, por um período máximo de 100 dias, apresentaram um índice maior de embrionamento somente após o 80º dia, a despeito de outros estudos, que conseguiram infectar camundongos, com ovos embrionados obtidos de fêmeas de *A. lumbricoides* e incubados por apenas 18 dias (SOUZA et al.,1977; 1985). É interessante ressaltar, que os ovos de ascarídeos, podem ficar viável por até sete anos (THOMAZ-SOCCOL; PAULINO; CASTRO., 1999).

Campos et al. (1989) observaram a ocorrência de duas mudas larvárias no interior dos ovos de *L. minor*, sendo que a larva de 3º estágio foi vista, por volta de 23 dias, quando ovos desse parasito foram colocados em solução de formalina a 0,1%, à temperatura ambiente. A partir daí, em todos os projetos pertinentes a *L. minor* desenvolvidos por essa equipe de pesquisadores compreendia a utilização de ovos mantidos em laboratório, até 30 dias, visando não perder a infectividade dos mesmos (CAMPOS et al., 1989; Campos et al., 1992; OLIVEIRA et al., 2002; PAÇO et al., 1999; SEMERENE et al., 2004).

Na perspectiva de aprimorar a manipulação de ovos em laboratório Oliveira et al. (2002) empregaram o método de Centrifugo-Flutuação em sulfato de zinco (FAUST et al., 1938) após o Método de Sedimentação Espontânea, em fezes de gatos infectados, o que permitiu a obtenção de ovos livres de detritos fecais e em maior proporção do que por dissecação de alças uterinas do verme. Esses autores observaram, que 98,13% dos ovos recuperados de fezes de gatos infectados se embrionaram, enquanto, que houve embrionamento em apenas 2,7% dos ovos retirados das alças uterinas. Esses resultados motivaram a escolha desta metodologia em infecções experimentais e conseqüentemente, na manutenção do “isolado” de *L. minor* por 31 anos em ambiente laboratorial.

Ovos de *L. minor*, resistem por um período de 24 h à ação de solução de formaldeído à 5, 10 e 20 %, ao álcool etílico nas concentrações de 70 e 80 °GL e à solução de sulfato de zinco 33 %. São sensíveis por 24 h à solução de lugol nas concentrações de 3, 6, 12, 25, 50 e 100%, às temperaturas de 70, 80 e 90°C e ao congelamento à -10 °C (CAMPOS; BARBOSA,2016)

Observou-se, na oportunidade, que ovos de *L. minor*, mantidos durante 300 dias em solução de formalina à 1%, permaneceram viáveis. Foi possível acompanhar as diferentes etapas de embrionamento, a eclosão de larvas em movimento (por compressão dos ovos entre lâmina e lamínula) e em seguida a infecção de camundongos. Além da observação microscópica sobre a viabilidade das larvas eclodidas do interior dos ovos, destaca-se que houve 93% de positividade em camundongos, inoculados com ovos mantidos por 300 dias, em condições de laboratório.

Através do presente trabalho foram utilizados ovos colhidos de fezes de gato doméstico, hospedeiro definitivo experimental. Ressalta-se, que nas alças uterinas de fêmeas de ascarídeos podem ser observados a presença de ovos estéreis, férteis bem como ovos inférteis. Contudo, os ovos expulsos pela fêmea do verme, e presentes nas fezes são, em sua maioria, ovos férteis.

Segundo Campos (2010) ovos expulsos em fezes de carnívoros silvestres, hospedeiros naturais de *L. minor*, contaminam o solo. Admite que esses ovos se embrionem no meio externo e conseqüentemente, infectem os hospedeiros intermediários (roedores silvestres) quando esses animais se alimentam de vegetais presentes no solo. No hospedeiro intermediário o parasito evolui para formas larvárias e se encista na musculatura esquelética e tecido sub cutâneo. O ciclo se completa no ambiente natural, quando carnívoros utilizam roedores infectados como alimento (CAMPOS et al., 1992; CAMPOS DMB, 2010; PAÇO et al.,1999).

É importante ressaltar, que o meio ambiente, pode ser visto como um importante veiculador de doenças, tanto para humanos como para animais, uma vez, que ele pode oferecer as condições pertinentes, para que ocorra a manutenção de ciclo evolutivo de parasitos. Denota-se a importância do solo na disseminação de importantes zoonoses, especialmente, se este é compartilhada por animais e pessoas. Segundo Vinha (1965), é possível definir o solo, na relação parasito-ambiente, como se fosse um hospedeiro intermediário, uma vez que o solo receberia dejetos contaminados, por parasitos em fase ainda não infectante, oferecendo aos parasitos condições para seu desenvolvimento, bem como proteção para posteriormente, tornarem-se infectantes.

Tem-se o saneamento básico, como sendo um importante indicador da qualidade ambiental, e conseqüentemente, da qualidade de vida e mesmo da saúde das populações residentes em áreas urbanizadas, em especial no Brasil, que segundo dados do IBGE (2008), aproximadamente 40 milhões de pessoas não possuem acesso à água tratada e 100 milhões não possuem acesso a redes de esgoto. Ludwing et al. (1999) afirmam, que o saneamento ambiental está de forma direta, relacionada a transmissão de parasitos intestinais. Todavia, as questões de esgotamento sanitário não se aplicam à lagochilascaríase, uma vez que, seu hospedeiro definitivo deva ser um carnívoro silvestre, e o homem um hospedeiro acidental do verme. Mas, como em outros ascarídeos o solo deva ter uma importância fundamental no embrionamento de ovos de *L. minor*. Finalmente, a Região Neotropical possui características climáticas e de solo propícios ao desenvolvimento do parasito (PAIXÃO,2019).

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os resultados encontrados evidenciam uma notável resistência de ovos de *L. minor* em condições de laboratório. Essa resistência é comparável a ovos de outros ascarídeos presentes na região neotropical.
- Essa capacidade de se manter infectante por um longo período de tempo é importante do ponto de vista epidemiológico, ou seja, de transmissibilidade do parasito;
- Do ponto de vista bioético, especialmente em pesquisa experimental, a manutenção de ovos de *L. minor* por um período de 300 dias, significa redução do número de animais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARTHUR, E. J.; SANBORN, R. L. Osmotic and ionic regulation in nematodes. In: **Chemical Zoology**, vol. 3 (ed. M. Florkin and B. T. Scheer). Academic Press: London & New York, 1969 apud WHARTON, D. A Nematode egg-shells. *Parasitology*, Cambridge University Press, n.81, p. 447-463, 1980.
- BARBOSA, A.P.; CAMPOS, D.M.B.; SEMERENE, A.R.; TEIXEIRA, A.R.; SANTONE, J.M. *Lagochilascaris* Larvas de terceiro estágio *secundárias* secretam metaloproteases com especificidade para o fibrinogênio e colágeno nativo. **Microbes. Infect.**, v.8, p. 2725-2732, 2006.
- CALDEIRA, N.M.S. Padronização de ensaio imunoenzimático e cinética de produção de anticorpos das classes IgM, IgG e IgA na *Lagochilascariase* murina experimental. 2005. 59 p. Dissertação de mestrado, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública - Universidade Federal de Goiás.
- CAMPOS, D.M.B.; BRESSAN, M.C.R.V.; ROSA, Z.S. Considerações sobre a evolução do *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. I - Número de mudas de larvas no interior do ovo. In: **Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 25. Florianópolis, 1989. Resumes, p. 198.
- CAMPOS, D.M.B.; FREIRE FILHA, L.G.; VIEIRA, M.A.; PAÇÔ, J.M.; MAIA, M.A. Experimental life cycle of *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo.v.34, n.4, p.277-287, 1992.
- CAMPOS, D. M. B. *Lagochilascariase*. In: Benjamin Cimerman & Sergio Cimerman. (Org.). **Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais**. 2ªed. Rio de Janeiro. São Paulo: Atheneu, 2010, v., p. 321-333.
- CAMPOS, D.M.B; BARBOSA, A.P. *Lagochilascaris*. In: NEVES, D.P.; MELO, A.L.; LINARDI, P.M.; VITOR, R.W.A. editors. **Parasitologia humana**. 13ªed. São Paulo: Atheneu; 2016. p.514±23.
- CAMPOS D.M.B.; BARBOSA, A.P.; OLIVEIRA, J.A.D.; TAVARES, G.G.; CRAVO, P.V.L.; OSTERMAYER, A. L. Human *lagochilascariasis* DA rare helminthic disease. **Rev. Plos. Negl. Trop. Dis.** San Francisco, v. 11 n.6, 2017.
- FALCON-ORDAZ, J.; ITURBE-MORGADO, J.C.; ROJAS-MARTÍNEZ, A.E.; GARCÍA-PRIETO, L. *Lagochilascaris minor* (Nematoda: Ascaridae) from a Wild Cougar (*Puma concolor*) in Mexico. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v.52, N.3, p.000-000,2016.
- FAUST, E.C.; D'ANTONI, J.S.; ODOM, V.; MILLER, M.J.; PERES, C.; SAWITZ, W.; THOMEN, L.F.; TOBIE, J.; WALKER, J.H. A critical study of clinical laboratory techniques for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. I: preliminary communication. **Am J Trop Med Hyg**, v.18, p.169-183, 1938.
- FEHLBERG, MF; SILVA, DS; LANGONE, PQ; SILVA, MAMP; PESENTI, TC; MASCARENHAS, CS et al. *Lagochilascariasis* in cats (*Felis catus domesticus*) in southern Brazil. **J Feline Med Surg**, v.16, n. 12, p. 1007 – 1009, 2014.
- FRAIHA-NETO,H.;ROCHA, M.C.P.; ARAÚJO,O.J.; BARROS, V.L.R.S.; PRIMO,A.; MORAES, M.A.P.; CONCEIÇÃO, J.R.; OLIVEIRA, J.E.G. Patologia Amazônica II. Infecção humana por *Lagochilascaris* Leiper, 1909 (Nematoda-Ascaridae). Registro de três

novos casos e formulação de nova hipótese para o mecanismo de transmissão. In: **Congresso da Federação Latino-Americana de Parasitólogos, 6., Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, 8. e Jornada Paulista de Parasitologia, 5.**; São Paulo, Resumos. São Paulo, FLAP, 1983. P.146.

FRAIHA-NETO, H.; LEÃO, R.N.; BARROS, V.L.; CARVALHO, R.A. Lagochilascariase. In: **Instituto Evandro Chagas: 50 anos de contribuição às Ciências Biológicas e Medicina Tropical.** Belém, PA., Fundação Secretaria do Estado de Saúde Pública; p. 221-42, 1986.

FRAIHA, H.; LEÃO, R.N.Q.; COSTA, F.S.A. - Lagochilascariase humana e dos animais domésticos. **Zoon. Rev. Int.**, v.1, N.1, p.25-33, 1989.

HALL, A.; HEWITT, G.; TUFFREY, V.; DILVA, N. A review and meta-analysis of the impact of intestinal worms on child growth and nutrition. **Maternal & Child Nutrition**, n.4 v.1 p. 118-236. 2008.

IBGE. **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2008.** Rio de Janeiro, 2008.

LEIPER, R.T. A new nematode worm from Trinidad, *Lagochilascaris minor*. **Proc. Zool Soc.**, London, v.4, p. 742-743, 1909.

MASSARA, C. L. **Viabilidade de ovos de Ascaris lumbricoides eliminado após terapêutica anti-helmíntica.** 1988. Dissertação (Mestrado em Parasitologia). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

MASSARA C. L; COSTA, H.M.A.; CARVALHO, O.S. Contribuição para o estudo do *Ascaris lumbricoides* em laboratório. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v.23, p. 43-47, 1990.

OLIVEIRA, J.A.; VIEIRA, M.A.; SILVA, A.C.; BARBOSA, C.A.L.; VELOSO, A.P. Ação de agentes químicos e físicos sobre ovos de *Lagochilascaris minor*. (Leiper, 1909). **Rev. Pat. Trop.** v.24, n.2, p.301-311, 1995.

OLIVEIRA, J. A. **Caracterização morfológica do verme adulto macho de Lagochilascaris minor Leiper, (1909) através de técnica de microscopia eletrônica de transmissão convencional.** 1999. 97 p. Dissertação de mestrado - Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública - Universidade Federal de Goiás.

OLIVEIRA, J.A.; BARBOSA, C.A.L.; VIEIRA, M.A.; PAÇÔ, J.M.; CARRIJO, A.S.; FIORINI, M.P.; CAMPOS, D.M.B. Isolado de *Lagochilascaris minor*: Procedimentos para obtenção de ovos infectantes. **Rev. Pat. Trop.** v.31, n.1, p.121-128, 2002.

PAÇÔ, J.M.- **Comprovação experimental da importância de roedores silvestres na transmissão da lagochilascariase.** Goiânia, 1994. 82 p. (Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Patologia Tropical para obtenção do Título de Mestre em Patologia Tropical, área de concentração parasitologia. Curso de Pós Graduação em patologia Tropical, Universidade Federal de Goiás).

PACÔ, J.M.; CAMPOS, D.M.; OLIVEIRA, J.A. Wild rodents as experimental intermediate hosts of *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** Rio de Janeiro, v.94, p.441-9, 1999.

PAIXÃO, T.F.P. **LAGOCHILASCARIASE HUMANA: fatores bióticos e abióticos envolvidos na transmissão da lagochilascariase humana na região neotropical.**

2019. Dissertação (Mestrado em Sociedade Tecnologia e Meio Ambiente) Centro Universitário de Anápolis – UniEvangélica, Anápolis-2019.

SEMERENE, A.R.; LINO JUNIOR, R.S.; OLIVEIRA, J. AJ.; MAGALHÃES, A.V.; STEFANE, M.M.A.; BARBOSA, A.P.; CAMPOS, D.M.B. Experimental lagoscharioses: Histopathological study of inflammatory response to larval migration in the murine model. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v.99, n.4, p.393-398, 2004.

SMITH, J.L.; BOWMAN, D.D.; LITTLE, M.D. Life cycle and development of *Lagochilascaris sprengi* (Nematoda: Ascarididae) from opossums (Marsupialia: Didelphidae) in Louisiana. **J. Parasitol**, Lawrence, v.69 n.4, p.736-45, 1983.

SOUZA, D.W.C.; CARVALHO, O.S.; SAVI, A. Viabilidade de ovos de *Ascaris lumbricoides* expelidos após terapêutica humana. I. Levamisole e pamoato de pirantel. *In: Resumos do XIII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Brasília p. 170. 1977

SOUZA, M.S.L.; SOUZA, D.W.C.; CARVALHO, O.S.; NEVES, J.; MASSARA, C.L. Viabilidade de ovos de *Ascaris lumbricoides* após tratamento humano com medicamentos específicos. I. Levamisole e pamoato de pirantel. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo v.27, p.197- 200, 1985.

SPRENT, J.F.A. Speciation and development in the genus *Lagochilascaris*. **Parasitology**, v.62, p.71-112, 1971.

SUDRÉ, AP; UCHÔA, F; BRENER B. Lagochilascariasis in a housecat and the potential risk for human disease. **Braz J Infect Dis**, v. 16, n.1, p. 111-112, 2012.

THOMAZ-SOCCOL, V.; PAULINO, R. C.; CASTRO, E. A. Agentes patogênicos: helmintos e protozoários. *In: ANDREOLI C. V.; FERNANDES F.; LARA I. A. (Org.). Reciclagem de Biossólidos: Transformando Problemas em Soluções*. Curitiba: SANEPAR/FINEP, 1999, cap. 3, p.156-174.

VINHA, C. Fundamentos e importância das campanhas contra geohelmintos no Brasil. **Rev Bras Malariol e Doenç Trop.** n.17, p.379-406, 1965.

VOLCÁN, G.G.S.; MEDRANO, P.C.E. Infección inducida em El roedor selvático *Dasyprocta leporina* (Rodentia: Dasyproctidae), com huervos larvados de *Lagochilascaris minor* (Nematoda: Ascarididae), **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo, v.32, n.6, p.395-402, 1990.

VOLCÁN, G.S.; MEDRANO, C.E.; PAYARES, G. Experimental heteroxenous cycle of *Lagochilascaris minor* Leiper, 1909 (Nematoda: Ascarididae) in white mice and cats. **Mem Inst Oswaldo Cruz** .v.87, p. 525-532, 1992.

WHARTON, D. A Nematode egg-shells. **Parasitology**, Cambridge University Press, v.81, p. 447-463, 1980.

WHO - World Health Organization. Soil-transmitted helminthiasis: estimates of the number of children needing preventive chemotherapy and number treated, 2009. **Weekly Epidemiological Record**, n. 25, v.86 p.257–268, 2011.

WHO – World Health Organization. Eliminating soil-transmitted helminthiasis as a public health problem in children. WHO, 78 p., 2012. ISBN: ISBN 978 92 4 150 312 9.

WINCKEL, W.E.F.; TREURNIET, A. E. Infestation with *Lagochilascaris minor* (Leiper) in man. **Doc. Med. Geo. Trop.**, v.8, p.23-8, 1956.