

# CAPILLARIA HEPATICA, ESTUDO DA INCIDÊNCIA EM RATOS DE SALVADOR, BAHIA, E DADOS IMUNOPATOLÓGICOS PRELIMINARES\*

Virginia Andrade Galvão\*\*

*Foi encontrada uma incidência de Capillaria hepática de 57% entre ratos capturados na cidade do Salvador.*

*Destes animais infectados foram isolados ovos do parasito e se obteve a infecção experimental em camundongos. Foi demonstrada a presença de anticorpos circulantes contra Capillaria hepatica no soro destes camundongos, tendo sido feito o estudo através de técnicas de eletroforese e imunofluorescência. Estes anticorpos se fixam em todas as estruturas parasitárias, (seja larva, verme ou ovo) e estão presentes no soro dos camundongos já a partir da primeira semana de infecção.*

## INTRODUÇÃO

A *Capillaria hepatica* é um helminto que parasita o fígado de roedores, podendo também parasitar vários outros mamíferos. Os casos humanos são raros<sup>2, 3, 5, 11</sup> (segundo Rey<sup>13</sup>, já foram publicados 11 casos humanos, sendo o 10º em São Paulo em 1963<sup>12</sup>) e representam geralmente infecções maciças e fatais<sup>1</sup>. É possível que muitos casos não fatais existam e passem despercebidos, uma vez que os ovos do parasita não aparecem nas fezes nos casos de infecção verdadeira. A possibilidade de diagnóstico destes casos residiria pois, em testes imunológicos. Não existem, todavia, dados adequados sobre a imunologia desta parasitose. O presente trabalho, além de uma pesquisa da incidência de *Capillaria hepatica* em ratos capturados na cidade do Salvador, inclui uma tentativa de verificação dos principais elementos imunológicos relacionados com a reação hospedeiro-parasito.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo da incidência, foram necropsiados 138 *Rattus norvegicus*, 4 *Rattus rattus*, 23 *Mus musculus*, capturados em diversos pontos da cidade do Salvador. O reconhecimento da infecção pela *Capillaria hepatica* foi feito através do exame macro e microscópico do fígado. Para o exame microscópico, que também se destinava ao exame histológico das lesões, os fragmentos hepáticos fixados em Formol neutro à 10%, foram incluídos em parafina, e as secções de 3 a 5 micra de espessura foram coradas pelos seguintes métodos: Hematoxilina-eosina, PAS, Tricômico de Masson e impregnados para reticulina pelo método de Gomori.

O estudo experimental foi feito através de infecção de camundongos albinos jovens e com acompanhamento das alterações plasmáticas através de eletroforese e com a identificação de anticorpos específicos e de antígenos parasitá-

\* Trabalho realizado no Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFBA.

\*\* Monitora de Patologia da Faculdade de Medicina da UFBA.  
Recebido para publicação em 11-7-1976.

TABELA 1 – Incidência de Infecção por *Capillaria hepatica* obtida por diferentes autores

<i>Autores</i>	<i>Ano</i>	<i>Local</i>	<i>Animal</i>	<i>Nº</i>	<i>% positivos</i>
Momma, K <sup>10</sup>	1929	Japão	Rato	2.222	57,2
Wright, W.H. <sup>15</sup>	1930	U.S.A.	Cão	216	3,0
Shorb, D.A. <sup>14</sup>	1931	U.S.A.	Rato	71	47,9
Meira, J.A. <sup>9</sup>	1931	Brasil, SP	Rato	123	43,0
Luttermoser, G.W. <sup>7</sup>	1936	U.S.A.	Rato	2.576	85,6 (adultos) 21,5 (jovens)
Mc Quown, A.L. <sup>8</sup>	1954	U.S.A.	Esquilo	79	3,7
Cochrane, J.C. et al. <sup>4</sup>	1956	África do Sul	Rato	40	47,5
Galvão, V.A.	1976	Brasil, BA	Rato	138	64,0 (adultos) 49,0 (jovens)

TABELA 2 – Incidência de *Capillaria hepatica* em *Rattus Norvergicus* da cidade do Salvador, Bahia (1976)

<i>Ratos</i>	<i>Nº</i>	<i>Positivos</i>	<i>%</i>
Jovens	68	33	49
Adultos	70	45	64
Total	138	78	57

TABELA 3 – Variação eletroforética das proteínas séricas (%) em camundongos normais e experimentalmente infectados com *Capillaria hepatica*

	<i>Albumina</i>	<i>Globulinas</i>		
		Alfa	Beta	Gama
Normal	64,3	9,5	16,1	10,1
Inf. 1ª semana	43,7	6,7	39,4	10,1
Inf. 2ª semana	43,7	10,7	28,5	17,1
Inf. 3ª semana	40,6	9,9	32,1	17,4
Inf. 5ª semana	41,0	14,3	24,9	19,8

(Pool de soros de 5 animais em cada grupo)

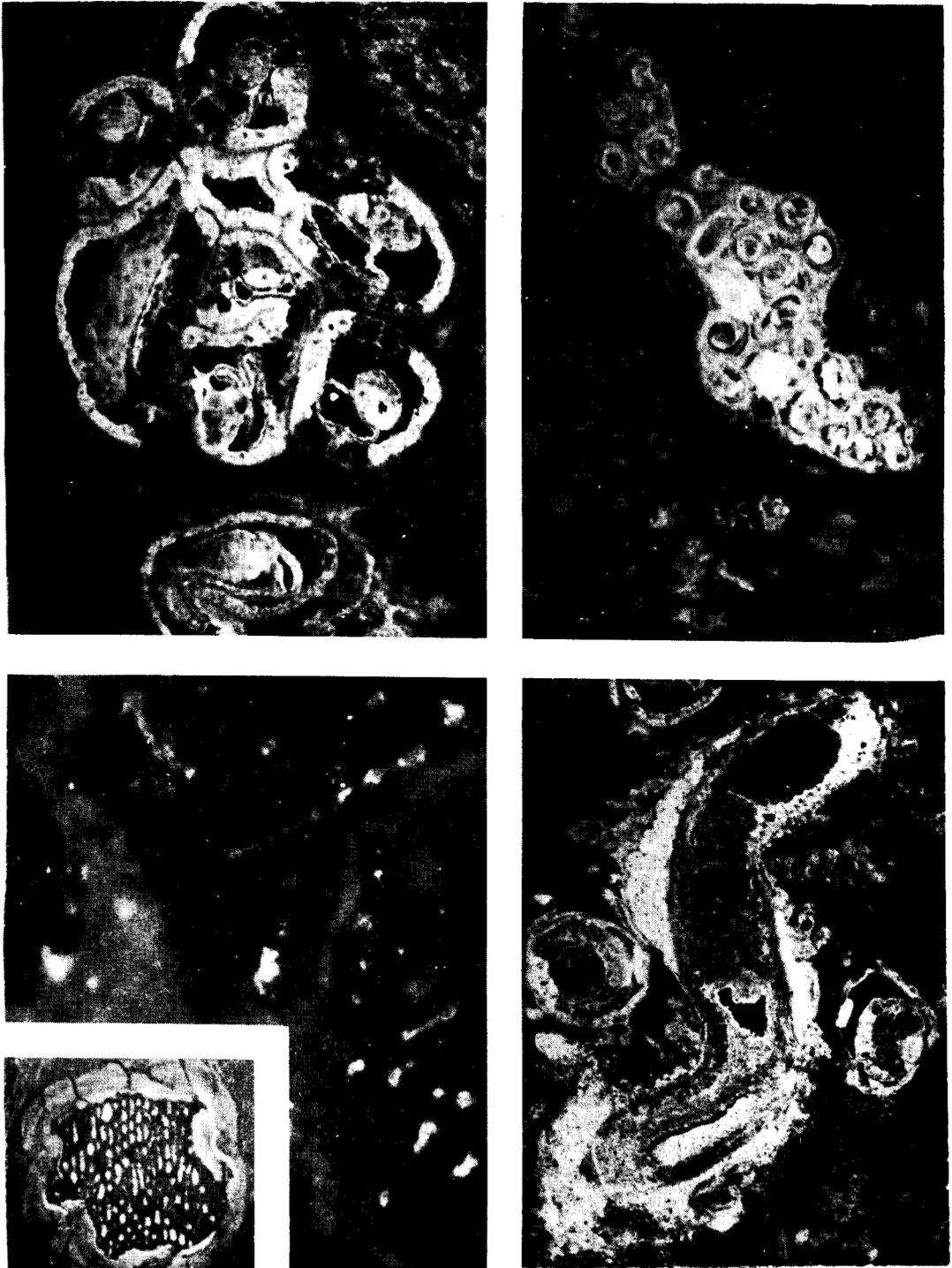


Fig. 1 — Fluorescência específica obtida em cortes de fígado de camungongos e localizada em diversas estruturas de *Capillaria hepatica*, quais sejam: ovos (foto superior direita), vermes e ovos (superior esquerda) e vermes (inferior direita). Na foto inferior esquerda aparecem os fragmentos fluorescentes observados no interior da área necrótica de um fígado humano que aparece corado pela hematoxilina-eosina no ângulo inferior esquerdo. Todos os cortes feitos em criostato (exceto o fígado humano que foi fixado em formol e incluído em parafina) foram tratados por soros de camundongos infectados pela *Capillaria hepatica* seguido do soro fluoresceinado anti-globulina de camundongo. Aumentos: 120x, 70x, 150x, 350x.

rios através de técnicas de imunofluorescência.

Para a obtenção de inóculo para a infecção experimental, os fígados contendo ovos de *Capillaria hepatica* foram triturados em um liquidificador comum, durante um minuto, com salina fisiológica. O material foi passado por um tamis e os ovos foram purificados e concentrados por lavagens e decantações sucessivas.

Para o embrionamento dos ovos, os mesmos foram mantidos em câmara úmida com Formol à 0,5%, sobre papel de filtro, à temperatura ambiente durante 28 a 30 dias.

A infecção foi feita com os ovos embrionados, por entubação gástrica com um fino tubo de polietileno, sendo o inóculo de 500 a 1.300 ovos, em camundongos albinos.

A eletroforese foi feita em suporte de Acetato de celulose (Celogel), sendo utilizado o tampão veronal pH 8.2. O soro foi obtido, com intervalos de uma semana, através de punção intraorbitária dos camundongos infectados, com tubo capilar não heparinizado. Foi utilizado o método da semi-microeletroforese, 200 milivolts por 35 minutos. As fitas foram coradas com Amido Schwartz, e a leitura feita no densitômetro.

Para a técnica de imunofluorescência, fragmentos de fígado foram retirados após anestesia dos animais e congelados instantaneamente em uma mistura de gelo seco e acetona (-70°C) e seccionados em criostato (-20°C). Estes fragmentos de fígado foram obtidos de camundongos com infecção de uma até cinco semanas de duração. Foram também utilizadas secções de fígado fixado em líquido de Bouin ou Formol neutro à 10% e incluído em parafina.

As secções devidamente fixadas em acetona desidratada e lavadas repetidamente em salina tamponada gelada (pH 7.2) foram tratadas com: soro de camundongos infectados (da primeira à quinta semana de infecção) ou soro de camundongo normal, controle, em ambos os casos seguindo-se diversas lavagens com salina tamponada gelada e tratamento com uma antiglobulina de camundongo fluoresceinada produzida no coelho (esta última obtida comercialmente do Lab. Hyland, EEUU).

Foram examinadas também secções não tratadas com qualquer soro, para observação de autofluorescência, e secções tratadas simplesmente com o antisoro fluoresceinado para observação de fluorescência inespecífica. As secções montadas em Glicerina tamponada (pH 7.2) foram examinadas dentro de 24 horas em microscópio Zeiss, equipado com lâmpada de halogenio com 100 watts, filtro de fluores-

cência (FITC) e filtro barreira BG-52. Os soros foram diluídos em salina 1:2, 1:4 e 1:8 e o anti-soro fluoresceinado foi diluído a 1:80. Por vezes foi usado o azul de Evans (1:10.000) para obtenção de coloração de fundo.

## RESULTADOS

a) Incidência — o resultado do estudo feito com *Rattus norvegicus* aparece comparado com aqueles de estudos semelhantes feitos em diversas partes do mundo (Tabela 1) e o resultado limitado ao presente estudo consta da Tabela 2. Não foi observada variação evidente da incidência no que diz respeito ao sexo.

Dos quatro *Rattus rattus* examinados nenhum se apresentava parasitado por *Capillaria hepatica*, enquanto que dos 23 camundongos *Mus musculus*, três foram positivos e vinte foram negativos para este parasito.

b) Eletroforese — as variações das proteínas séricas encontradas em camundongos infectados por *Capillaria hepatica* (da primeira à quinta semana de infecção) constam da Tabela 3.

c) Imunofluorescência — a técnica da imunofluorescência revelou a presença de anticorpos circulantes no soro de camundongos infectados, já a partir da primeira semana após infecção experimental. Estes anticorpos se fixam no corpo das larvas e dos vermes de uma maneira difusa e moderada, e impregnam fortemente o conteúdo dos ovos e do material hialino situado em torno dos mesmos. A casca dos ovos mostra autofluorescência amarelada. Tal foi constatado de maneira semelhante, tanto nos cortes em criostato, como em parafina. As secções controles não mostraram fluorescência específica nos elementos parasitários.

## COMENTÁRIOS

A incidência de capilaríase hepática encontrada entre os ratos de Salvador, é sem dúvida bastante alta. Meira<sup>9</sup>, que encontrou entre ratos de São Paulo uma incidência de 43,08%, concluiu ser tal helmintose a mais freqüente entre os murídeos de São Paulo.

Foi observado no presente estudo que os antígenos deste verme sensibilizam camundongos infectados, que produzem anticorpos que se fixam ao parasito desde o estágio larvar, até vermes e ovos provavelmente através de várias reações cruzadas. Estes antígenos apareceram resistentes à fixação histológica, uma vez que o teste da imunofluorescência foi positivo até mesmo para cortes convencionais em parafina,

o que sugere para os mesmos uma natureza não simplesmente proteica, mas algo complexo, talvez com boa parte de polissacarídeos.

A produção de anticorpos inicia-se logo na primeira semana de infecção, onde há um aumento na faixa de Beta-globulinas, que corresponde provavelmente a um aumento de IgM (que migra entre Beta e Gama globulinas) que é a imunoglobulina característica de início de imunização. Já na quinta semana de infecção, nota-se que esta intensificação na faixa das Beta globulinas deixa de ser tão acentuada, dando lugar a um aumento na concentração de gama globulinas (faixa que corresponde realmente a IgG), aumento este que já havia se iniciado após a segunda semana da infecção.

Sendo tão alta a incidência de *Capillaria hepatica* em ratos, aliada ao grande número destes roedores existentes em nossas cidades e às baixas condições de higiene encontradas em certas camadas da nossa população, a infecção do homem por este helminto provavelmente é mais freqüente do que se tem notícia.

Os dados imunológicos podem servir como elementos de importância para se planejar uma

investigação epidemiológica mais ampla, especialmente em crianças vivendo sob baixas condições de higiene.

Recentemente em um material de necropsia humana foi encontrado, como achado incidental, uma área de necrose hepática circundada por um halo de fibrose, contendo no seu interior estruturas que lembravam restos de vermes (Fig. 1). Os testes de imunofluorescência feitos em cortes de parafina se revelaram negativos com anti-soro específicos para *Schistosoma mansoni* e positivos quando tratados com soro de camundongo infectado pela *Capillaria hepatica*. Embora não se possa ainda ter segurança absoluta sobre a especificidade de tal reação, é bem provável que este tenha sido um caso assintomático de *Capillaria hepatica* no homem. Casos semelhantes poderão vir a ser investigados com outras técnicas imunológicas, quando por exemplo se dispuser do soro do indivíduo. A identificação, isolamento e purificação dos antígenos da *Capillaria hepatica* significam assim uma etapa necessária para o entendimento do significado desta parasitose no homem.

#### SUMMARY

*Capillaria hepatica* was found in 57% of rats captured in the city of Salvador, Bahia — Brazil. Worm eggs were then isolated from animals with natural infection and used to infect albino mice experimentally. Circulating antibodies were demonstrated by immunofluorescence in the sera of mice during the course of experimental infection, from the first to the 5th week following inoculation. Such antibodies were seen to bind to eggs, larvae and worms present in the liver.

These preliminary data suggest that immunological tests may be of value to detect human cases with non-fatal infection caused by *Capillaria hepatica*.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AREAN, V.M. — Capillariasis. In Marcial — Rojas, R.A., Pathology of Protozoal and helminthic disease. Williams and Wilkins Baltimore, 1971.
2. CALLE, S. — Parasitism by *Capillaria hepatica*. *Pediatrics* 27:648-655, 1961.
3. CISLACHI, F. & RADICE, C. — Infection By *Capillaria hepatica*. First case report in Italy. *Helvetica Paed. Acta* 25:647-654, 1970.
4. COCHRANE, J.C., SAGORIN, L. & WILCOCKS, M.G. — *Capillaria hepatica* infection in man. *S.Afr. Med. J.* 31:751-757, 1957.
5. KALLICHURUM, S. & ELSDON-DEW, R. — *Capillaria* in man *S. Afri. Med. J.* 25:860-861, 1961.
6. LARSON, P.H. — Serum proteins: Diagnostic significance of electrophoretic patterns. *Hum Path.* 5:629-640, 1974.

7. LUTTERMOSER, G.W. — An experimental study of *Capillaria hepática* in the rat and the mouse. *Amer. J. Hyg.* 27:321-340, 1938.
8. Mc QUOWN, A.L. — *Capillaria hepática*: Report of genuine and spurious cases. *Amer. J. Trop. Med.* 30:761-767, 1950.
9. MEIRA, J.A. — Nota sobre os helmintos encontrados nos ratos de São Paulo. *Brasil Méd.* 45:1212-1216, 1931.
10. MOMMA, K. — Notes on modes of rat infestation with *Hepaticola hepatica*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 24:109-113, 1930.
11. OTTO, G.F. et al. — Eosinophilia and hepatomegaly due to *Capillaria hepatica* infection. *Bull. Johns. Hopk. Hosp.* 94:319-336, 1954.
12. PIAZZA, R.; CORREA, M.A. & FLEURY R.V. — Sobre um caso de infestação Humana por *Capillaria hepática*. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 5:37-41, 1963.
13. REY, L. — Parasitologia 1ª Edição — Ed. Guanabara, Rio, 1973.
14. SHORB, D.A. — Experimental infestation of white rats with *hepaticola hepatica*. *J. Parasit.* 17:151-154, 1931.
15. WRIGHT, K.A. — Observations on the life cycle of *Capillaria hepática* (Bancroft 1893) with a description of the adult. *Can. J. Zool.* 38:167-182, 1961.