

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO ALBENDAZOL SOBRE A LARVA MIGRANS VISCERAL MURINA EXPERIMENTAL POR *Toxocara canis*

Miguel Alipio Vieira^{*}, Fernanda Rassi Alvarenga^{**}, Eberson Coimbra Pires Moreira dos Santos^{**}, Jayrson Araújo de Oliveira^{***}

RESUMO

Para realização deste trabalho foram utilizados 45 camundongos da linhagem C57Bl/6, divididos em 2 grupos, sendo o do Grupo I com 30 animais e do Grupo II com 15 animais. Cada animal foi inoculado com 10^3 ovos infectantes de *Toxocara canis*, via oral, através de uma sonda introduzida diretamente no esôfago. Os ovos utilizados como inóculo foram obtidos por dissecação de exemplares fêmeas do parasito e mantidos em solução formaldeído a 1%, por um período de 40 dias, até a obtenção do estágio infectante. Os animais do Grupo I foram submetidos a tratamento com Albendazol após o 7º dia de infecção, na dosagem de 400mg/kg/dia, por via oral, durante 30 dias. Os camundongos do Grupo II (grupo controle) não foram tratados com a droga. No 5º dia após o término do tratamento, todos os animais foram necropsiados sendo examinados cérebro e olhos através da técnica de compressão entre lâminas, ao microscópio óptico. Foi observado nível de eficácia de 76,36%. Concluímos que o esquema terapêutico utilizado neste experimento foi ineficaz no tratamento da Toxocaríase experimental.

UNITERMOS: Larva migrans visceral; *Toxocara canis*; Albendazol.

INTRODUÇÃO

A síndrome Larva Migrans Visceral (LMV) foi conceituada por BEAVER² como resultado da migração prolongada de certas larvas de helmintos através de tecidos de hospedeiros não habituais, particularmente o homem. As espécies mais comumente envolvidas na gênese da LMV são ascarídeos de cães e gatos como *Toxocara canis*, *Toxocara cati*, *Toxocara leonina*.

^{*} Prof. Adjunto do Departamento de Parasitologia do IPTSP/UFG.

^{**} Bolsista do CNPq

^{***} Técnico do Departamento de Parasitologia do IPTSP/UFG

Recebido 07/01/96. Revisto em 16/09/96. Aceito em 05/10/96.

VIEIRA, M.A.; ALVARENGA, F.R.; SANTOS, E.C.P.M.; OLIVEIRA, J.A. Avaliação da eficácia do Albendazol sobre a Larva Migrans Visceral murina experimental por *Toxocara canis*. Rev. Pat. Trop.25 (1): 23-29, jan/jun. 1996

A gravidade do quadro clínico no homem depende do número de larvas invasoras e da resposta imunitária do organismo acometido, embora a maioria dos casos seja considerada assintomática. O quadro da síndrome compreende hipereosinofilia sangüínea, leucocitose, hepatomegalia, acompanhada ou não de esplenomegalia. Há comprometimento pulmonar, bem como do sistema nervoso central (presença de larvas não encapsuladas). Além da forma visceral pode haver comprometimento apenas ocular ou ocorrer a forma mista: ocular e visceral^{1, 4, 16}.

A infecção de seres humanos por larvas de *T. canis* depende de cães infectados, da contaminação do solo por larvas deste nematódeo e do desenvolvimento de larvas infectantes no interior dos ovos^{2, 3, 6, 4, 9, 10}.

Várias linhagens de camundongos (Swiss, Albino, Balb/c, CDI etc.) têm sido utilizadas como modelo experimental para testes de eficácia de drogas na Larva Migrans Visceral. Todavia, no que se refere à terapêutica, ainda não existe um esquema totalmente eficaz no tratamento da LMV^{1, 13, 16}. O Tiabendazol e o Ivermectim tem sido empregados no tratamento da LMV^{16, 18}, no entanto, nenhum parece fornecer eficácia satisfatória. VIEIRA et al²³, estudando a eficácia do Ivermectin na LMV experimental, constataram que em diversos esquemas terapêuticos, este medicamento não apresentou resultados significativos, mesmo usando doses elevadas da droga. ABDEL-HAMEED¹ observou que em camundongos albinos CDI o Tiabendazol apresentava uma ação limitante na atividade migratória da larva, porém observou que esta droga não manifestava efeito larvicida.

O Albendazol é um novo derivado de benzimidazole, com rápida absorção intestinal e já está provada sua eficácia anti-helmíntica. Exerce sua atividade por inibição da polimerização dos túbulos do ascarídeo; com isto, o nível de energia se torna inadequado à sobrevivência do parasito^{11, 17, 22}. Estudos nos animais e no homem mostraram que o Albendazol exibe atividade vermífuga, ovocida e larvicida, controlando a migração intestinal da larva, reduzindo, assim, o número de larvas de *T. canis* no cérebro. Na Larva Migrans Cutânea, TORRES et al²² constataram que todos os pacientes tratados com Albendazol mostraram excelente resposta clínica e a maioria deles estava assintomático 72 horas após o tratamento. Finalmente, na terceira semana após o tratamento, não foi constatado a presença de larvas nos pacientes.

Segundo os resultados promissores de OOSTBURG¹⁸ ao tratar um caso de lagochilascariase humana com albendazol na dosagem de 400 mg/kg, por um período de 36 dias e sendo o *Toxocara canis* um ascarídeo, foi escolhido, para este trabalho, o mesmo esquema terapêutico, reduzido de seis dias.

Tendo em vista o índice de 19,7% de Toxocaríase no estado de Goiás comprovado por CAMPOS et al^{5, 7}, através do método de ELISA em soros de

VIEIRA, M.A.; ALVARENGA, F.R.; SANTOS, E.C.P.M.; OLIVEIRA, J.A. Avaliação da eficácia do Albendazol sobre a Larva Migrans Visceral murina experimental por *Toxocara canis*. Rev. Pat. Trop.25 (1): , jan/jun. 1996. Rev. Pat. Trop.25 (1): 23-29, jan/jun. 1996

pacientes suspeitos de LMV, e a falta de um esquema terapêutico totalmente eficaz^{8, 13}, avaliou-se a eficácia do Albendazol, na dosagem de 400mg/kg/dia por via oral, sobre larvas de *T. canis* em camundongos experimentalmente infectados.

MATERIAL E MÉTODOS:

Animais

Foram utilizados 45 camundongos C57Bl/6 machos e fêmeas, com aproximadamente 45 dias de idade, provenientes do Biotério do Departamento de Parasitologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da U.F.G.. Todos os animais foram previamente vermífugados para controlar uma possível infecção natural por helmintos, impedindo assim alguma interferência no experimento.

Obtenção da suspensão de ovos

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

Após este período os ovos larvados foram transferidos para tubos de centrifuga graduados. A suspensão contendo os ovos foram homogeneizados e retirados cinco alíquotas de 0,01ml, os quais foram examinados entre lâmina e lamínula com auxílio de microscópio óptico. Os ovos foram contados e a média das cinco contagens determinou a concentração de ovos infectantes por ml.

Infecção dos animais

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

Tratamento

Foram empregados 2 grupos de animais sendo o primeiro grupo constituído de 30 camundongos e o segundo (grupo controle) constituído por 15 camundongos.

VIEIRA, M.A.; ALVARENGA, F.R.; SANTOS, E.C.P.M.; OLIVEIRA, J.A. Avaliação da eficácia do Albendazol sobre a Larva Migrans Visceral murina experimental por *Toxocara canis*. Rev. Pat. Trop.25 (1): 23-29, jan/jun. 1996

No sétimo dia após inoculação com 10^3 ovos de *T. canis* os animais do primeiro grupo foram tratados com Albendazol na dosagem de 400mg/kg/dia durante 30 dias. O medicamento foi diluído em água destilada, administrado oralmente através de sonda, introduzida diretamente no esôfago.

No segundo grupo (controle), os 15 camundongos que foram inoculados com 10^3 ovos de *T. canis* por via oral, foram mantidos em gaiolas separadas, não recebendo tratamento. Foram necropsiados juntamente com os animais tratados, observando-se a migração larvária.

Necropsia e visualização das larvas

Os animais foram sacrificados por inalação com éter no trigésimo quinto dia após tratamento ou no quadragésimo segundo dia após inoculação (DAI). Foram retirados o cérebro e olhos; estes foram comprimidos entre 2 lâminas, examinados em microscópio óptico e contadas as larvas.

O grupo dos animais tratados foi comparado com o grupo controle.

Avaliação da eficácia da droga

A avaliação da eficácia da droga foi feita pela comparação da média de larvas obtidas à necropsia do grupo controle, com a média de larvas do grupo tratado, aplicando-se a fórmula segundo THOMPSON & REINERSTON²¹, PUMAROLA et al¹⁹.

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

E% = percentual de eficácia

XLC = média de larvas recuperadas no grupo controle

XLT = média de larvas recuperadas no grupo tratado

RESULTADOS

Os resultados da pesquisa de larvas no cérebro e olhos de camundongos infectados com ovos de *T. canis*, do grupo tratado, e o percentual de eficácia do medicamento na concentração de 400mg/kg, são apresentados na Tabela 1, juntamente com os resultados do grupo controle.

VIEIRA, M.A.; ALVARENGA, F.R.; SANTOS, E.C.P.M.; OLIVEIRA, J.A. Avaliação da eficácia do Albendazol sobre a Larva Migrans Visceral murina experimental por *Toxocara canis*. Rev. Pat. Trop.25 (1): , jan/jun. 1996. Rev. Pat. Trop.25 (1): 23-29, jan/jun. 1996

Tabela 1. Número total de larvas recuperadas no cérebro e olhos de dois (2) grupos de camundongos inoculados com 10^3 ovos de *T. canis*. Grupo I: tratados com Albendazol e Grupo II: Controle. Necropsiados no 42^o dia após inoculação.

Grupo	Número de animais	Número total de larvas	Média de larvas recuperadas por animal	Dose da droga	Eficácia
I	30	69	2,3	400mg/kg	76,36%
II	15	146	9,73	—	—

DISCUSSÃO

Com base no relato de diversos autores^{8, 13, 23}, examinando fígado, pulmões, carcaça, cérebro de camundongos infectados experimentalmente com ovos de *T. canis*, após um período superior a 30 dias, a maioria (96%) das larvas concentrava-se no cérebro, por esta razão, este foi o órgão de escolha para avaliação da eficácia do ALBENDAZOL.

O Albendazol, disponível na indústria farmacêutica para ser administrado por via oral, exibe atividade vermífida, ovífida, larvífida. Inicialmente, imobiliza os helmintos para depois os destruir. Sendo pouco absorvido via oral, a maior parte de sua ação se dá na luz intestinal onde age sobre os parasitas impedindo-os de atingirem os órgãos alvos²².

Estudos clínicos^{11, 12, 22} e experimentais^{14, 17} mostraram que o Albendazol é efetivo no tratamento da Ascariíose, Enterobiose, Ancilostomose (*Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*), Teníase, Estrongiloidose (*Strongyloides venezuelensis*) e Larva Migrans cutânea.

VIEIRA et al²³ verificaram a ocorrência de LMO (larva migrans ocular) em 20 a 30% de camundongos dos grupos tratados com Ivermectin na dosagem de 800 e 400µg/kg, respectivamente, sendo que destes, um caso foi de LMO bilateral. Neste experimento observou-se a ocorrência de LMO unilateral em apenas um camundongo do grupo controle, o que veio comprovar a baixa ocorrência e, geralmente, unilateralidade dos casos de LMO^{15, 20}.

À semelhança do que constatou DELGADO et al¹³, observamos uma considerável diminuição do número de larvas nos animais do grupo tratado, porém o Albendazol, na dosagem preconizada neste experimento (400mg/kg), mostrou eficácia de 76,36%, não sendo satisfatória no tratamento da LMV.

VIEIRA, M.A.; ALVARENGA, F.R.; SANTOS, E.C.P.M.; OLIVEIRA, J.A. Avaliação da eficácia do Albendazol sobre a Larva Migrans Visceral murina experimental por *Toxocara canis*. Rev. Pat. Trop.25 (1): 23-29, jan/jun. 1996

Apesar do pequeno número de animais utilizados neste experimento, podemos inferir que o esquema terapêutico empregado não deve ser o de escolha no tratamento da LMV murina.

Em estudos futuros com administração do Albendazol, por outras vias, como por exemplo, a possível administração via líquórica (intra-tecal), poderíamos, talvez, constatar uma melhor eficácia, uma vez que a maioria das larvas neste período de infecção estão concentradas no cérebro neste período de infecção^{8, 13, 23}. Desta forma, a droga agiria *in loco* para imobilizá-las e destruí-las.

SUMMARY

Evaluation of the Efficacy of Albendazol over the Experimental Murine larva migrans

Forty-five mice of the C57B1/6 strain were divided in 2 groups, group I with 30 animals and group II with 15 animals. Each animal was inoculated with 10^3 infecting eggs of *Toxocara canis*, per os, by means of a probe inserted directly into the esophagus. The eggs used for the inoculum were obtained by dissection of female specimens of the parasite, and kept in formaldehyde 1%, during 40 days, until the infecting stage was obtained. The animals of group I were treated with Albendazol after the 7th day of infection, at the dose of 400mg/Kg/day, per os, during 30 days. The mice in group II (control group) were not treated with the drug. On the 5th day after the end of the treatment, all animals were sacrificed, and the eyes and brain were examined in the optical microscope, using the slide - compression technique. An efficacy level of 76,36% was observed. We conclude that the scheduled treatment followed in this experiment was inefficient on the treatment of *Toxocara canis*.

KEYWORDS: Visceral larva migrans; *Toxocara canis*; Albendazol.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01.ABDEL-HAMEED, A.A. Effect of thiabendazole on the migration of *Toxocara canis* larvae in the mouse. *J. Parasitol.*, 70(2):226-231, 1984.
- 02.BEAVER, P.C. The nature of visceral larva migrans. *J. Parasitol.*, 55:3-12, 1973.
- 03.BORG, O.A. & WOODRUFF, A.W. Prevalence of infective ova of *Toxocara* species in public places. *Brit. Med. J.*, 24:470-2, 1973.
- 04.BRAINS, R. & ALLAN, B. Encephalitis due to infection with *Toxocara canis*. Reported of suspected case. *Lancet*, 1:1335-7, 1964.
- 05.CAMPOS, D.M.B.; CAMPOS, M.L.L.; CAMARGO, E.D. & BARRO, S.A. Diagnóstico da Larva Migrans Visceral através do método imunoenzimático ELISA. XXVI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Natal 1990. In resumos. p.167, 1990.

VIEIRA, M.A.; ALVARENGA, F.R.; SANTOS, E.C.P.M.; OLIVEIRA, J.A. Avaliação da eficácia do Albendazol sobre a Larva Migrans Visceral murina experimental por *Toxocara canis*. Rev. Pat. Trop.25 (1): , jan/jun. 1996. Rev. Pat. Trop.25 (1): 23-29, jan/jun. 1996

- 06.CAMPOS, D.M.B.; LEÃO, D.A. & ISAAC, E. Pesquisa de ovos de *Toxocara sp.* em localidades públicas da cidade de Goiânia, Goiás. I. Comparação de métodos de exames. *Rev. Pat. Trop.* 16(11:7-11), 1987.
- 07.CAMPOS, D.M.B.; SOUZA, M.; ZACARIOTTI, E.T.; VEDA, M.; CAMPOS, M.L.; BARBOSA, A.; GEBRIN, M.C.E. & LIMA, F.M. Larva migrans visceral. Relato de três casos. *Rev. soc. Bras. Med. Trop.*, (2):117-120, 1990.
- 08.CARRILLO, M.M.S.; BARRIGA, O.O. Anthelmintic effect of lavamisole hydrochloride or Ivermectin on tissue toxocaríasis of mice. *Vet. res.*, 48(2): 281-283, 1987.
- 09.CASTANHO, R.E.P.; FURTADO, J.L.; CORREA, M.E.S.H.; GAMBARINI, M.A. Presença de ovos de *Toxocara sp.*, em localidades públicas do município de Marília-SP. XIV Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical e III Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, João Pessoa, 1978. In resumos. p.207, 1978.
- 10.CHIEFFI, P.P. & MULLER, E.E. Prevalência do parasitismo por *Toxocara canis* em cães e presença de ovos de *Toxocara* no solo de localidades públicas da zona urbana do município de Londrina, Est. do Paraná, Brasil. *Rev. Saúde Pública. S. Paulo*, 10:367-72, 1976.
- 11.CLIN, B.L.; LITTLE, M.D.; BARTHOLOMEU, R.K. & HALSEY, N.A. Larvicidal activity of albendazol against *N. americanus* in human volunteers. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 33(3):387-394, 1986.
- 12.CRUZ, M.; CRUZ, I. & HORTON, J. Albendazol versus praziquantel in the treatment of cerebral cysticercosis clinical evaluation. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.*, 85:244-247, 1991.
- 13.DELGADO, O.; BOTTO, C. & MATTEI. Effect of albendazole in experimental toxocaríasis of mice. *Am. Trop. Med. and parasitology.*, 83(6) 621-624, 1989.
- 14.HWANG, Kao-Ping; CHEN, Eng-Ping. Larvicidal effect of albendazole against *Angiostrongylus cantonensis* in mice. *The Am. Soc. of Trop. Med. and Hyg.*, 39(2): 191-195, 1988.
- 15.KHALDI, F.; ZAIDI, T.; KHIARI, S.; MATRI, L. & BENNACEUR, B. Toxocarose ocular. A propos d'un cas. *Ann. Pediatr.*, 37(3):185-188, 1990.
- 16.NELSON, D.N.; Mc CONNELL, T.H. & MOORE, D.V. Thiabendazole therapy of visceral larva migrans: a case report. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.*, 15(6), Part 1, 1966.
- 17.NETO, V.A.; PINTO, P.L.S.; MOREIRA, A.A.B.; CAMPOS, R.; SANTANA, E.J.; LEVAI, E.V.; PADILHA, L.A.A. & TAKIGUTTI, C.K. Avaliação da atividade terapêutica de albendazol em ratos experimentalmente infectados com *Strongyloides venezuelensis*. *Rev. Inst. Med. Trop., São Paulo.*, 28(3): 181-184, maio-junho, 1986.
- 18.OOSTBURG, B.F.J. The sixth case of Lagochilascariase minor in Surinam. *Trop. Geog. Med.*, 44(1,2):154-159, 1992.
- 19.PUMAROLA, D.; ALONSO, M.T.; BERENQUER, F.J.; GALLEGO, J. Ensayo de la actividad antihelmintica de productos de nueva síntesis derivados del 2-iminotiazol y del 2-iminotiadiazol. III. Actividad anguilicida. *Rev. Iber. Parasitol.*, v.4, n.47, p. 403-408, 1987.
- 20.SCHANTZ, P.H. *Toxocara larva migrans* now. *Ann.J. Trop. Med. Hyg.*, 41(3) Suppl: 21-34, 1989.
- 21.THOMPSON, P.E.; REINERTSON, J.W. Chemotherapeutic studies of natural pinworm infections in mice. *Exp. parasitol.* n.1, p.384-391, 1952.
- 22.TORRES, J.R.; ORHUELA, A.R.; GARCIA, D. & ABDUL-HADI, S. Treatment of cutaneous larva migrans with Albendazole preliminary report. *Rev. Inst. Med. Trop., São Paulo.*, 31(1):56-58, janeiro-fevereiro, 1989.
- 23.VIEIRA, M.A.; SILVA, A.C.; FREIRE-FILHA, L.G.; BARBOSA, C.A.L.; CAMPOS, D.M.B. Eficácia do Ivermectin na Larva migrans experimental. *Rev. Pat. Trop.*, 22(1):1-8, 1993.