

# *Strongyloides venezuelensis*: efeito de antimicrobiano e imunossupressor no curso da infecção em camundongos da linhagem AKR/J

Wanderlany A. Martins<sup>1</sup>

Jacques R. Nicoli<sup>2</sup>

Luiz M. Farias<sup>2</sup>

Maria A. R. Carvalho<sup>2</sup>

Denise C. Cara<sup>3</sup>

Alan L. de Melo<sup>1</sup>

## Resumo

Camundongos da linhagem AKR/J infectados pelo *Strongyloides venezuelensis* e tratados com Cefotaxima, Dexametasona ou com ambas as drogas foram sacrificados no terceiro, sétimo e décimo segundo dia após infecção. Pulmões e intestino delgado foram processados para histologia. Verificaram-se, nos pulmões dos quatro grupos infectados, infiltrados inflamatórios (neutrófilos e mononucleares) no terceiro dia após a infecção. No sétimo e décimo segundo dia após a infecção, o processo inflamatório se torna reduzido nos animais controle e tratados com antimicrobiano, mas não nos animais imunossuprimidos (com ou sem tratamento com antimicrobiano). A análise da mucosa duodenal confirmou a presença de parasitos em todos os grupos de animais. No 7º dia após a infecção, foram observadas alterações significativas no duodeno dos grupos controle (infectados) e dos infectados e tratados com antimicrobiano, com presença de infiltrado inflamatório, constituído de mononucleares e eosinófilos na mucosa, associada a uma maior quantidade de parasitos, principalmente na região do epitélio e sub-epitélio. Os outros dois grupos (camundongos infectados e imunossuprimidos com ou sem antimicrobiano), não apresentaram processo inflamatório. A mucosa apresentou células caliciformes menos evidentes, sugerindo uma redução de produção de muco. No décimo segundo dia da infecção, os grupos não tratados e tratados apenas com antimicrobiano apresentaram um número reduzido de parasitos e um discreto processo inflamatório no duodeno, enquanto os grupos tratados com imunossupressor (com ou sem antimicrobiano) mostraram presença de um maior número do parasito no duodeno. A permanência da infecção do *S. venezuelensis* foi mais prolongada nos animais imunossuprimidos em relação aos demais grupos, permanecendo até o 49º dia após infecção. Os resultados indicam que a interferência dos tratamentos no equilíbrio da microbiota intestinal favoreceu o parasitismo pelo *S. venezuelensis*.

**Palavras-chave:** Estrongiloidose – *Strongyloides venezuelensis* – Glucocorticoide – Antimicrobiano – Imunossupressor.

## INTRODUÇÃO

A estrongiloidose humana é uma doença de distribuição cosmopolita, ocorrendo

principalmente em países tropicais nos quais ambientes quentes e úmidos propiciam o desenvolvimento das larvas infectantes e

<sup>1</sup> Departamento de Parasitologia- Instituto de Ciências Biológicas (ICB) - Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

<sup>2</sup> Departamento de Microbiologia – ICB – UFMG.

<sup>3</sup> Departamento de Patologia Geral – ICB – UFMG.

Correspondência para / Correspondence to:

Alan L. de Melo

Universidade Federal de Minas Gerais

Caixa Postal 486.

30123-970 Belo Horizonte - Minas Gerais – Brasil.

E-mail: aldemelo@icb.ufmg.br

condições sanitárias precárias aumentam a exposição do homem a tais larvas (GROVE, 1989).

Existem relatos que sugerem, para essa parasitose, a relação de alguns sintomas, como a diarreia, com a presença concomitante de determinados microrganismos indígenas. Entretanto, os estudos, principalmente aqueles conduzidos em áreas endêmicas da África, não permitiram esclarecer a relação existente entre os sintomas observados e a microbiota indígena do trato gastrointestinal do hospedeiro (PETITHORY; DEROUIN, 1987).

Estudos voltados para a principal lesão que ocorre na mucosa do duodeno relatam que a presença da microbiota indígena protege o hospedeiro, amenizando a doença (MARTINS et al., 2000).

Os dados obtidos de infecções experimentais em camundongos e outros roedores têm sido valiosos para esclarecer diversos aspectos da estrogiloidose em seres humanos, apesar de a utilização de modelos animais restringir as extrapolações para a doença que acomete seres humanos (GENTA; GROVE, 1989; MELO; MARTINS, 1999; MARTINS et al., 2000; MELO; VASCONCELOS; GAZZINELLI, 2006).

A utilização de roedores imunossuprimidos como modelos é particularmente relevante para o esclarecimento da infecção em seres humanos, já que é frequente a ocorrência de estrogiloidose disseminada em indivíduos comprometidos imunologicamente (SCOWDEN; SCHAFFNER; STONE, 1978).

Por apresentarem deficiência do fator C<sub>5</sub> do sistema de complemento e alta incidência de leucemia (BEN-EFRAIN; CINADER, 1964), camundongos da linhagem AKR/J têm sido utilizados como modelo experimental para várias parasitoses (BICALHO; MELO; PEREIRA, 1993; BICALHO, 2003; MELO; VASCONCELOS; GAZZINELLI, 2006).

Sabendo-se que a estrogiloidose disseminada, a mais grave, ocorre em indivíduos comprometidos imunologicamente, por serem mais suscetíveis às infecções

bacterianas, fúngicas e viróticas, o presente trabalho tem como objetivo verificar os efeitos da terapia com antimicrobiano e imunossupressor durante o curso da infecção por *S. venezuelensis* em camundongos da linhagem AKR/J.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Parasito

A linhagem de *S. venezuelensis* utilizada vem sendo mantida, desde 1987, no Laboratório de Taxonomia e Biologia de Invertebrados do Departamento de Parasitologia do ICB / UFMG, com passagens sucessivas em camundongos da linhagem AKR/J (MELO et al., 1990).

### Animais

Foram utilizados, para os experimentos, camundongos convencionais da linhagem AKR/J, machos, adultos, com peso de cerca de 30 gramas.

A manutenção, assim como o uso de animais nos experimentos, foram conduzidos respeitando o Guide for the care and use of experimental animal, Canadian Council on Animal Care, volume 1, 1993.

### Obtenção de larvas infectantes (L<sub>3</sub>) de *S. venezuelensis*

Para a obtenção de larvas infectantes de *S. venezuelensis*, foi realizada a coprocultura. Fezes de camundongos da linhagem AKR/J infectados pelo *S. venezuelensis* foram misturadas à vermiculita e incubadas em estufa, a 27°C, por 3 dias. A seguir, para recuperação das larvas L<sub>3</sub>, a coprocultura foi submetida ao método de Baermann, modificado por Morais (1948).

O número médio de larvas foi calculado mediante a contagem de, pelo menos, três alíquotas. Quando necessário, o líquido com as larvas foi concentrado ou diluído, procedendo-se a novas contagens, de forma a se obter uma concentração de 500 L<sub>3</sub>/0,5ml.

### Obtenção de larvas infectantes (L<sub>3</sub>) axênicas

Os experimentos para axenização das larvas foram realizados em capela de fluxo laminar (Vecco, Campinas, SP). Assim, as larvas (L<sub>3</sub>) foram submetidas a tratamento por solução de hipoclorito de sódio 0,25% durante 10 minutos e, a seguir, expostas à 300U/mL de penicilina (Ceme, Brasil) associada a 1,0 mg/mL de ceftazidima (Glaxo, Brasil), durante 30 minutos. Todas as diluições e as três lavagens das larvas foram realizadas com água destilada esterilizada (MARTINS et al., 1999, 2000).

### Comprovação de axenização

A axenização foi avaliada pela inoculação das L<sub>3</sub> tratadas em caldo tioglicolato (Difco, USA) e caldo infuso de cérebro-coração (Difco, USA) suplementado com hemina (INLAB, Brasil) 1 mg/mL, menadiona (INLAB, Brasil), 5mg/mL e extrato de levedura (Difco, USA) 0,5% (BHI-S) e, também, pela inoculação de fezes de camundongos gnotobióticos (n=5) infectados pelas larvas de *S. venezuelensis* em caldo tioglicolato. O material foi incubado a 37°C, por até, 7 dias, e os meios examinados em intervalos regulares. Foram consideradas axenizadas as larvas em cujo caldo não houve crescimento microbiano durante o período de incubação (MARTINS et al., 2000).

### Teste de viabilidade das larvas infectantes (L<sub>3</sub>) axênicas

A viabilidade das larvas foi avaliada pela inoculação subcutânea de 0,5mL de uma suspensão com 500 L<sub>3</sub> axênicas em três camundongos da linhagem AKR/J. No 5º dia de infecção, as fezes dos animais foram colhidas e submetidas a exame parasitológico, para verificação de oviposição pelo parasito adulto (WILLIS, 1921; HOFFMAN; PONS; JANER, 1934).

### Infecção experimental de camundongos convencionais da linhagem AKR/J

Alíquotas de 0,5mL de suspensão, contendo, aproximadamente, 500 L<sub>3</sub> de *S.*

*venezuelensis* axênicas, foram inoculadas, por via subcutânea, na região dorsal dos camundongos envolvidos nos experimentos. A inoculação foi realizada em capela de fluxo laminar.

### Verificação do efeito de antimicrobiano imunossupressor no decorrer da infecção

Para a realização deste estudo, foram utilizados animais convencionais da linhagem AKR/J divididos em 4 grupos, constituídos de vinte animais cada um. O grupo 1 recebeu apenas a infecção, passando a ser o grupo controle. O grupo 2 foi tratado cinco dias antes da infecção e, após a infecção, diariamente, até o décimo segundo dia, com 0,1mL de ceftazidima na concentração de 250 mg/mL. Os animais do grupo 3 foram imunossuprimidos um dia antes da infecção com 50 mg/Kg e, diariamente, até o décimo segundo dia após a infecção, com 25 mg/Kg de fosfato sódico de dexametasona (Decadron, Prodome Brasil). Ambos os tratamentos foram realizados por via subcutânea. O grupo 4 recebeu o tratamento com antibiótico e imunossupressor, seguindo o mesmo protocolo dos grupos 2 e 3.

No quinto dia após a infecção, cinco animais de cada grupo foram separados em gaiolas individuais com fundo falso. As fezes foram colhidas diariamente até o décimo segundo dia após infecção, para realização do exame parasitológico quantitativo, e até o décimo quinto dia para os animais infectados e para os animais infectados e tratados com antimicrobiano, para o exame qualitativo. Nos animais infectados e imunossuprimidos (grupo 3) e infectados tratados com ambas as drogas (grupo 4), o exame qualitativo foi realizado até o quinquagésimo dia após a infecção (MARTINS et al., 2000).

Em outro experimento, realizado em triplicata, fezes de cinco animais de cada grupo foram colhidas para realização de exame parasitológico quantitativo no 7º dia após a infecção. Em seguida, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e a pele da região abdominal foi cuidadosamente removida. O intestino delgado foi retirado, cortado longitudinalmente e raspado com uma

lamínula. O material foi, então, transferido para peneiras de plástico em contato com solução salina 0,85% contida em cálices de sedimentação mantidos em banho-maria, a 37°C por, aproximadamente, cinco horas. Após esse período, o sobrenadante foi desprezado e os parasitos foram separados do restante do material, contados, fixados em formalina a 10% e medidos, após desenho em câmara clara, com auxílio de um curvímetro (Tokyo - Sakuray, Japan) (BICALHO; MELO; PEREIRA, 1993; MARTINS et al., 2000).

### Histopatologia

Para realização de análises histopatológicas, foram sacrificados, por deslocamento cervical, cinco camundongos do grupo controle, sem infecção, e o mesmo número de animais de cada grupo infectado (sem tratamento, tratado com antibiótico, dexametasona e antibiótico e dexametasona), no terceiro, sétimo e no décimo segundo dia após a infecção. Foram retirados fragmentos do pulmão e do intestino delgado. As amostras foram codificadas. Por não haver separação macroscópica nítida entre as diversas porções do intestino delgado de camundongos, o critério para distinção foi baseado em Ferraris, Villenas e Diamond (1992). Assim, o intestino delgado foi lavado com solução salina 0,85%, pH 7,2 a 37°C, para retirada das fezes e, então, dividido em quatro partes, no sentido proximal-distal (20%, 30%, 30% e 20%). Essas porções foram designadas como duodeno, jejuno proximal, jejuno distal e íleo. Cada porção foi aberta e enrolada, com auxílio de um palito de madeira, ficando a parte proximal no interior do rolinho. Os fragmentos do pulmão e os rolinhos de intestino delgado foram colocados em formalina 10%. Posteriormente, o material foi desidratado em séries crescentes de álcoois (70<sup>o</sup> GL a absoluto), clarificado e embebido em parafina. Após a obtenção de cortes de 4µm de espessura, procedeu-se à coloração por Hematoxilina e Eosina, e as lâminas permanentes foram examinadas com auxílio de microscopia óptica convencional. A decodificação somente foi feita após a obtenção dos resultados (MARTINS et al., 2000).

### Análise estatística

Os dados foram analisados pelo cálculo da análise de variância, utilizando-se o processo de diferença Mínima Significativa (DMS) para a comparação das médias. Os cálculos foram realizados utilizando-se o programa Sigma Stat (Statistical Software versão 1.0). Os resultados foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ .

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O curso da infecção por *S. venezuelensis* em camundongos convencionais normais da linhagem AKR/J mostrou-se bastante semelhante ao já relatado na literatura disponível (SATO & TOMA, 1989; MARTINS et al., 2000; MELO et al., 2006).

A eliminação fecal contendo ovos de *S. venezuelensis* foi observada do 5<sup>o</sup> ao 14<sup>o</sup> dia após a infecção, nos animais da linhagem AKR/J do grupo controle e grupo tratado com antimicrobiano. Verificou-se, pelos resultados do exame parasitológico quantitativo de fezes, um aumento gradual da quantidade de ovos eliminados, até alcançar o máximo por volta do oitavo dia e decrescendo, até não serem mais encontrados, a partir do décimo segundo dia após infecção. Nos resultados do exame quantitativo de fezes, diferenças significativas na quantidade de ovos eliminados foram observadas nos grupos entre o 5<sup>o</sup> ( $p = 0,0014$ ), 7<sup>o</sup> ( $p = 0,0065$ ), 8<sup>o</sup> ( $p = 0,0001$ ), 11<sup>o</sup> ( $p = 0,0163$ ) e 12<sup>o</sup> ( $p = 0,0001$ ) dias após infecção subcutânea. O número de ovos contados atingiu o nível máximo no 8<sup>o</sup> dia nos camundongos dos grupos 1, 2 e 3 e no 9<sup>o</sup> dia para os do grupo 4 (Tabela 1).

A permanência da infecção do *S. venezuelensis* foi mais prolongada nos animais imunossuprimidos em relação aos demais grupos, como foi demonstrado nos resultados parasitológicos qualitativos de fezes, permanecendo a positividade até o 49<sup>o</sup> dia após a infecção (dados não publicados). A administração de glucocorticoide a camundongos, antes de infecção por *S.*

**Tabela 1.** Resultado do exame quantitativo de fezes de grupos de camundongos da linhagem AKR/J infectados por *Strongyloides venezuelensis* do quinto ao décimo segundo dias de infecção.

Dia após infecção	Controle	Ceftazidima	Dexametasona	Ceftazidima e dexametasona	Análise de Variância (P<0,05)
5 <sup>o</sup> dia	540 ± 54,7	280 ± 116,6	1500 ± 761,6	420 ± 440,0	0,0014
6 <sup>o</sup> dia	830 ± 156,5	840 ± 531,9	1820 ± 2996,9	550 ± 635,1	0,3181
7 <sup>o</sup> dia	660 ± 376,8	980 ± 554,0	4620 ± 3627,2	2980 ± 676,0	0,0065
8 <sup>o</sup> dia	1916 ± 744,3	1940 ± 890,5	8320 ± 3286,6	3400 ± 1983,6	0,0001
9 <sup>o</sup> dia	1526 ± 388,0	1500 ± 951,3	6260 ± 4945,5	3320 ± 2567,5	0,6265
10 <sup>o</sup> dia	380 ± 334,6	240 ± 288,1	1400 ± 1228,8	940 ± 610,7	0,1400
11 <sup>o</sup> dia	40 ± 80 *	60 ± 120 *	960 ± 733,8	1900 ± 1792,2	0,0163
12 <sup>o</sup> dia	0	0	2240 ± 2632,6	560 ± 564,2	0,0001

Nota: \*Um animal positivo em cinco.

*venezuelensis*, promoveu um aumento significativo tanto do número de vermes adultos, quanto na eliminação de ovos, e a contínua administração promoveu um atraso na expulsão dos parasitos. Esses resultados são similares aos de Bailenger et al. (1974) e em parte aos de Olson e Schiller (1978), que relataram um prolongado período patente e supressão da expulsão dos parasitos em ratos tratados com corticosteroides. Entretanto, em relação ao número de parasitos, difere dos obtidos por Olson e Schiller (1978), que não verificaram diferenças na carga parasitária e na eliminação de ovos entre os animais tratados e controle. É possível que a discrepância entre esses resultados possa estar relacionada, pelo menos em parte, com as diferentes drogas e dosagens utilizadas, entre outros fatores que poderiam ser considerados.

Como pode ser observado na Tabela 2, o número de formas adultas recuperadas do intestino delgado dos animais, em todos os grupos tratados, foi estatisticamente maior ( $p < 0,05$ ), em relação ao grupo controle, tendo o grupo de animais tratado simultaneamente com imunossupressor e antimicrobiano apresentado um maior número de parasitos. Nesse grupo, a quantidade de formas adultas recuperadas, em relação à dos outros grupos, foi significativamente maior ( $p = 0,0119$ ).

Na histopatologia pulmonar, verificou-se presença de infiltrado

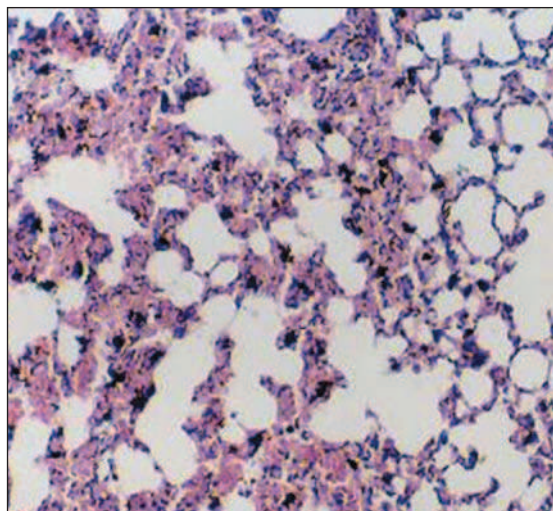
inflamatório (neutrófilos e mononucleares) no terceiro dia após a infecção, nos camundongos dos quatro grupos infectados (Figura 1). No sétimo e décimo segundo dia após a infecção, o processo inflamatório se torna reduzido nos animais controle e tratados com antimicrobiano, mas não nos animais imunossuprimidos (com ou sem tratamento com antimicrobiano) (Figura 2).

Como esperado para as infecções em camundongos, na histopatologia, a mucosa duodenal confirmou visualmente os parasitos presentes no intestino dos animais. No sétimo dia após a infecção, parasitos adultos aparecem na mucosa, ocupando locais próximos às glândulas de Lieberkühn (Figura 3). Os parasitos recuperados dos animais imunossuprimidos, apresentaram-se mais numerosos no intestino superior, levando a sinais histopatológicos mais evidentes, como a associação dos parasitos com foco e infiltração inflamatória da submucosa, em vários camundongos. A mucosa apresentou células calciformes bem evidentes, sugerindo uma maior produção de muco. Foram encontrados parasitos infiltrados no epitélio e sub-epitélio. Resultado semelhante foi relatado em seres humanos, quando vermes adultos de *S. stercoralis* foram encontrados no duodeno e jejuno (STEMMERMAN, 1967). Em *Meriones unguiculatus*, adultos de *S. venezuelensis* foram observados apenas no intestino superior

**Tabela 2.** Média e desvio padrão de número e tamanho de fêmeas recuperadas de grupos de camundongos da linhagem AKR/J no sétimo dia de infecção por *S. venezuelensis*.

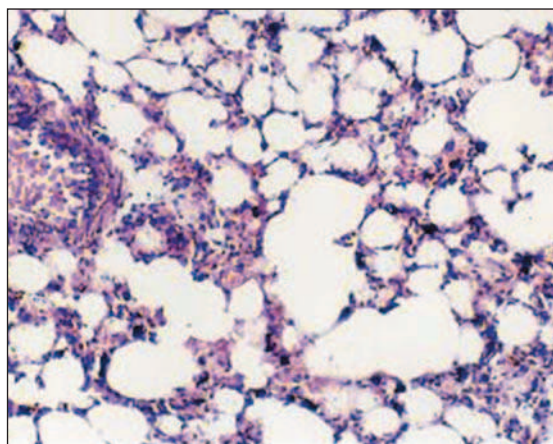
	Controle	Ceftazidima	dexametasona	Ceftazidimae dexametasona	Análise de variância (P<0,05)
Número de fêmeas	39 (44)	57 (44)	68 (47)	92 (94)	P=0,0007 (2,3) p/ (1) P=0,0119 (4) P/ (1)
Tamanho das fêmeas (um)	2026,4 (89,3)	2217,4 (90,7)	2557,8 (246,8)	2205,8 (305,6)	P< 0,05 (3) p/ (1,2 e 4)

**Figura 1.** Fotomicrografia do pulmão de camundongo convencional no 3º dia de infecção (presença de congestão e hemorragia mais evidente).



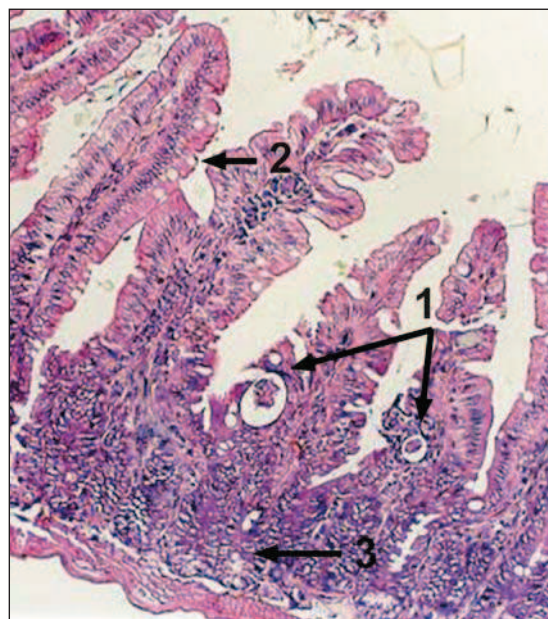
Nota: H & E, aumento de 132X.

**Figura 2.** Fotomicrografia do pulmão de camundongo convencional no 12º dia de infecção e imunossuprimido (pontos hemorrágicos).



Nota: H & E, aumento de 132X.

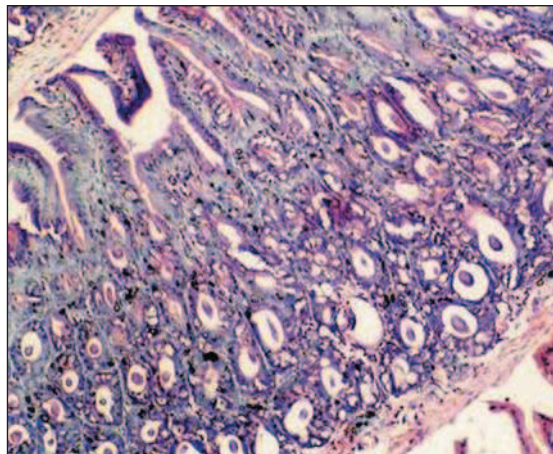
**Figura 3.** Fotomicrografia de duodeno de camundongo no 7º dia de infecção (presença do parasito na mucosa (1), células caliciformes mais evidentes (2) e discreto infiltrado inflamatório na submucosa (3)).



Nota: H & E, aumento de 132X.

(KERLIN; NOLAN; SCHAD, 1995). Aparentemente, o tratamento apenas com antimicrobiano não agravou e nem acentuou a lesão, quando comparado ao grupo controle infectado. No décimo segundo dia da infecção, os grupos não tratados e tratados apenas com antimicrobiano apresentaram um número reduzido de parasitos e um discreto processo inflamatório no duodeno. No entanto, nesse mesmo período de infecção, os grupos tratados com dexametasona (com ou sem antimicrobiano)

**Figura 4.** Fotomicrografia de duodeno de camundongo no 12<sup>o</sup> dia de infecção e imunossuprimido.



Notas: Observar a presença de vários parasitos na mucosa (1), células caliciformes menos evidentes na submucosa; H & E, aumento de 132X.

mostraram presença de um maior número de parasitos e um processo inflamatório menos acentuado no duodeno (Figura 4).

Os resultados, no presente estudo, mostram que o número de parasitos encontrados nos grupos tratados foi sempre maior que os encontrados no grupo controle, sugerindo que a dexametasona, na dose utilizada, propicia a permanência do *S. venezuelensis* no hospedeiro. A fecundidade das fêmeas partenogenéticas de *S. venezuelensis*, representada pelo número de ovos por grama de fezes do hospedeiro divididos pelo número de fêmeas recuperadas do intestino delgado do mesmo, permitiu verificar diferença significativamente maior ( $p < 0,05$ ) da fecundidade do grupo 3 em relação às fêmeas recuperadas dos demais grupos. No tratamento estatístico realizado entre os grupos de animais, o resultado obtido foi significativo ( $P = 0,0209$ ). Grove e Dawkins (1981), em trabalhos realizados com *S. rattii*, observaram uma eliminação larval bastante aumentada, devido aos números significativamente maiores de parasitos adultos e um aumento marginal da fecundidade do parasito, quando da utilização da Prednisolona. Moqbel e Denhan (1977) relataram redução no número de parasitos adultos, sendo que aqueles que se estabeleceram permaneceram por mais tempo que o normal

após o tratamento com Betametasona, ambos glucocorticoides com atuação no sistema imune do hospedeiro.

As questões que envolvem maturação, tamanho e número de fêmeas de *S. venezuelensis* recuperadas do intestino de roedores variam muito conforme a espécie de hospedeiro (BAEK et al., 2003). Camundongos SWISS não mantêm o ciclo do parasito por longo período de tempo em laboratório, enquanto *Meriones unguiculatus* permanece infectado por mais de um ano, eliminando ovos viáveis do parasito durante todo o período (TSUJI; NAKAMURA; TAIRA, 1993; BAEK et al., 2002). Neste hospedeiro, fêmeas alcançam um tamanho maior (ISLAM et al., 1999; BAEK et al., 2003). No presente trabalho, as medidas dos exemplares recuperados de camundongos AKR/J submetidos a ambos os tratamentos (grupos 3 e 4), aos 7 dias de infecção, em relação aos do grupo controle, foram significativamente maiores ( $p < 0,05$ ), como pode ser observado na Figura 4.

Sabendo-se que a alteração da microbiota e o uso de imunossupressor intensifica a estrogiloidose, e sendo essa uma parasitose oportunista, a administração de dois compostos, um antimicrobiano e um imunossupressor, poderá fornecer respostas quanto às interações que influenciam o desenvolvimento do *S. venezuelensis* em roedores. De fato, estudos anteriores realizados com animais gnotobióticos permitiram, por meio de comparação com o modelo animal convencional, verificar a relação de parasitos com o hospedeiro sem a interferência de outros microrganismos associados, e esclarecer a influência da microbiota normal no curso da parasitose (MARTINS et al., 1999, 2000). Em relação a alguns protozoários (OWEN, 1975; TORRES et al., 1992) e helmintos (WESCOTT; TODD, 1964; RUTTER; BEER, 1975), os resultados indicam que a presença da microbiota indígena agrava a doença. Em contraste, para outros microrganismos e, praticamente, todas as bactérias enteropatogênicas, a presença da microbiota gastrointestinal normal reduz a gravidade das infecções (SILVA et al., 1987; SALKOWSKI et al., 1987; WILSON, 1995).

No presente estudo, os resultados, quando comparados com anteriores que envolvem a imunossupressão, confirmam a amplificação do ciclo evolutivo, com atraso no processo de eliminação do parasito, aumento da fecundidade da fêmea, bem como

redução da resposta imunológica do hospedeiro.

Outros aspectos da relação imunossupressão, microbiota indígena e parasito estão sendo estudados, visando principalmente à identificação dos grupos bacterianos envolvidos.

*Strongyloides venezuelensis: effects of antimicrobial and immunosuppressive drugs during the course of infection in the AKR/J strain mice*

**Abstract**

Groups of AKR/J strain of mice infected by *Strongyloides venezuelensis* and treated with Ceftriaxone, Dexametasona or with both drugs concomitantly had been killed on 3<sup>rd</sup>, 7<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> day after infection and their lungs and intestines were processed for histological studies. In lungs of all infected groups, it was verified an inflammatory infiltrated (neutrophils and mononuclear cells) in the third day after the infection. In 7<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> day after the infection, the inflammatory reaction becomes reduced in control and antimicrobial treated groups, but not in immunosuppressed animals (with or without antimicrobial treatment). Analysis of the duodenal mucosa confirmed the presence of parasites in all groups of animals. On the 7<sup>th</sup> day after infection it was observed significant alterations in the small intestine of control (infected) and infected and treated with antimicrobial groups with presence of inflammatory foci, constituted by mononuclear and eosinophils in mucosa, associate to a large amount of parasites, mainly in the region of the epithelium and sub epithelium. Two others groups (infected and immunosuppressed mice with or without antimicrobial), did not present inflammatory process. Goblet cells were less evident in mucosa suggesting a reduction in mucous production. In the 12<sup>th</sup> day of the infection, the treated with antimicrobial and control groups presented a reduced number of parasites and a discrete inflammatory reaction in the small intestine while the immunosuppressed groups showed more parasites in duodenum. The permanence of the infection by *S. venezuelensis* in immunosuppressed animals was prolonged in relation to other groups, remaining until the 49<sup>th</sup> day after infection. The results indicate that the interference of treatments in the population of intestinal microbiota favours the parasitism by *Strongyloides venezuelensis*.

**Keywords:** Strongyloidiasis – *S. venezuelensis* – Antimicrobial – Glucocorticoid – Immunosuppressive drug.

**REFERÊNCIAS**

- BAEK, B.K. et al. Characterization of the protective response against a homologous challenge infection with *Strongyloides venezuelensis* in rats. *Veter. Parasitol.*, Amsterdam, v.113, p.217-227, 2003.
- BAEK, B.K. et al. Persistent infection with *Strongyloides venezuelensis* in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Korean J. Parasitol.*, Seoul, v.40, p.181-186, 2002.
- BAILLENGER, J. et al. Rôle de l'hypocortico-stéronémie dans le mécanisme de la "self-cure" des rats, parasités par *Strongyloides ratti*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, Paris, v.51, p.653-665, 1974.
- BEN-EFRAIM, S.; CINADER, B. The role of complement in the passive cutaneous reaction of mice. *J. Exp. Med.*, New York, v.120, p.925-942, 1964.
- BICALHO, R.S. *Schistosoma mansoni*: aspectos da relação parasito-hospedeiro na cavidade peritoneal de camundongos AKR/J. 2003. 126f. Tese (Doutorado em Parasitologia)- Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.



- BICALHO, R.S.; MELO, A.L.; PEREIRA, L.H. Desenvolvimento do *Schistosoma mansoni* na cavidade peritoneal de camundongos da linhagem AKR/J. **R. Inst. Med. Trop. São Paulo**, São Paulo, v.35, p.411-416, 1993.
- FERRARIS, R.P.; VILLENAS, S.A.; DIAMOND, J. Regulation of brush-border enzyme activities and enterocyte migration rates in mouse small intestine. **Am. J. Physiol.**, Bethesda, v.262, p.G1047-G1059, 1992.
- GENTA, R.M.; GROVE, D.I. Strongyloides stercoralis infections in animals. In: GROVE, D.I. (Ed.) **Strongyloidiasis: a major roundworm infection of man**. London: Taylor & Francis, 1989. cap.10, p.251-269.
- GROVE, D.I. **Strongyloidiasis: a major roundworm infection of man**. London: Taylor & Francis, 1989.
- GROVE, D.I.; DAWKINS, H.J. Effects of prednisolone on murine strongyloidiasis. **Parasitology**, London, v.83, p.401-409, 1981.
- HOFFMAN, W.A.; PONS, J.A.; JANER, J.L. The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. **Puerto Rico J. Publ. Hlth.**, San Juan, v.9, p.283-298, 1934.
- ISLAM, M.K. et al. Effects of in vitro culture methods on morphological development and infectivity of *Strongyloides venezuelensis* filariform larvae. **Korean J. Parasitol.**, Seoul, v.37, p.13-19, 1999.
- KERLIN, R.L.; NOLAN, T.J.; SCHAD, G.A. Strongyloides stercoralis: histopathology of uncomplicated and hyperinfective strongyloidiasis in the Mongolian gerbil, a rodent model for human strongyloidiasis. **Int. J. Parasitol.**, Oxford, v.25, p.411-420, 1995.
- MARTINS, W.A. et al. A method of decontaminating *Strongyloides venezuelensis* larvae for the study of strongyloidiasis in germ free and conventional mice. **J. Med. Microbiol.**, London, v.49, p.387-390, 2000.
- MARTINS, W.A. et al. Obtention of infective larvae of *Strongyloides venezuelensis* under axenic conditions. **Microecol. Ther.**, Herborn-Dill, v.28, p.63-70, 1999.
- MELO, A.L. de et al. The AKR/J mouse as a laboratory host for maintenance of cycle of *Strongyloides ratti*. INTERNATIONAL CONGRESS OF LABORATORY ANIMAL SCIENCE, 1., 1990, Águas de Lindóia. **Resumos**. Águas de Lindóia: Colégio Brasileiro de Experimentação, 1990. p.72
- MELO, A.L. de; MARTINS, W.A. *Strongyloides venezuelensis*: quimioterapia em camundongos imunossuprimidos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 16., 1999, Poços de Caldas. **Anais...** Poços de Caldas: SBP, 1999. p.126.
- MELO, A.L. de; VASCONCELOS, A.C; GAZZINELLI, S.E.P. Alterações histopatológicas em camundongos AKR/J reinfetados por *Strongyloides venezuelensis*. **R. Ci. Med. Biol.**, Salvador, v.5, p.7-12, 2006.
- MOQBEL, R.; DENHAN, D.A. *Strongyloides ratti*: parasitological observations on primary and secondary infections in the small intestines of rats. **J. Helminthol.**, London, v.51, p.301-308, 1977.
- MORAIS, R.G. Contribuição para estudo do *Strongyloides stercoralis* e da strongiloidíase no Brasil. **R. Serv. Esp. Saúde Públ.**, Rio de Janeiro, v.1, p.507-524, 1948.
- OLSON, C.E.; SCHILLER, E.L. *Strongyloides ratti* infection in rats. I. Immunopathology. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, McLean, v.27, p.521-526, 1978.
- OWEN, D. *Eimeria falciformis* (Eimer, 1870) in specific pathogen free and gnotobiotic mice. **Parasitology**, London, v.71, p.293-303, 1975.
- PETITHORY, J.C.; DEROUIN, F. AIDS and strongyloidiasis in Africa. **Lancet**, London, v.1, n.8538, p.921, 1987.
- RUTTER, J.M.; BEER, R.J.S. Synergism between *Trichuris suis* and the microbial flora of the large intestine causing dysentery in pigs. **Infect. Immun.**, Washington, DC, p.395-404, 1975.
- SALKOWSKI, C.A. et al. Colonization and pathogenesis of *Cryptococcus neoformans* in gnotobiotic mice. **Infect. Immun.**, Washington, DC, v.55, p.2000-2005, 1987.

- SATO, Y.; TOMA, H. *Strongyloides venezuelensis* infections in mice. **Int. J. Parasitol.**, Oxford, v.20, p.57-62, 1989.
- SCOWDEN, E.G.; SCHAFFNER, W.; STONE, W.J. Overwhelming Strongyloidiasis, an unappreciated opportunistic infection. **Medicine**, Hagerstown, v.57, p.527-544, 1978.
- SILVA, M.E. et al. American trypanosomiasis (Chagas disease) in conventional and germfree rats and mice. **R. Inst. Med. Trop. São Paulo**, São Paulo, v.29, p.284-288, 1987.
- STEMMERMAN, G.N. Strongyloidiasis in migrants: pathological and clinical considerations. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.53, p.59-70, 1967.
- TORRES, M.R.F., et al. Intra-gastric infection of conventional and germfree mice with *Giardia lamblia*. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, São Paulo, v.25, p.349-352, 1992.
- TSUJI, N.; NAKAMURA, Y.; TAIRA, N. Long-lasting parasitism of *Strongyloides venezuelensis* in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). **J. Parasitol.**, Lawrence, v.79, p.305-307, 1993.
- WESCOTT, R.B.; TODD, A.C.A. A comparison of the development of *Nippostrongylus brasiliensis* in germ-free and conventional mice. **J. Parasitol.**, Lawrence, v.50, p.138, 1964.
- WILLIS, H.H. A simple levitation method for the detection of hook-worm ova. **Med. J. Aust.**, Sydney, v.29, p.375-376, 1921.
- WILSON, K.H. Ecological concepts in the control of pathogens. In: ROTH, J.A. **Virulence mechanisms of bacterial pathogens**. Washington, DC: American Society of Microbiology, 1995. p.245-256.

Recebido em / Received: 22/11/2009  
Aceito em / Accepted: 29/12/2009