

Desenvolvimento e distribuição de *Rodentolepis nana* em *Meriones unguiculatus*

***Gustavo José Caldas Vianna*¹
*Alan Lane de Melo*²**

Resumo

Com o objetivo de avaliar o desenvolvimento e a distribuição de *Rodentolepis nana* em *Meriones unguiculatus* vinte animais receberam um inóculo oral de 100 ovos do parasito. A metade desses roedores recebeu, por via subcutânea, inóculo diário de dexametasona (DMS) (10mg/Kg). Aos 7 e 15 dias após a infecção (DPI), cinco animais de cada grupo foram sacrificados para a recuperação dos parasitos. Em *M. unguiculatus* não tratados, foram recuperados parasitos somente no 7º DPI, em início de maturação e distribuídos principalmente pela porção distal do intestino delgado desse roedor. Nesta mesma data, os parasitos recuperados em *M. unguiculatus* que receberam DMS, estavam possivelmente no mesmo estágio que os encontrados em *M. unguiculatus* não tratados, porém distribuídos pelas porções média e distal do intestino delgado. Aos 15 DPI, os helmintos recuperados em *M. unguiculatus* que receberam DMS estavam completamente desenvolvidos, apresentando proglotes maduras e grávidas, distribuídos principalmente pela porção média, e, secundariamente, pela porção distal do intestino delgado. Conclui-se que *M. unguiculatus* tem reduzido potencial como reservatório deste cestóide e sua resistência à infecção pelo *R. nana* tem um importante componente inflamatório, sensível à ação da DMS.

Palavras-chave: *Rodentolepis nana* – *Meriones unguiculatus* – Dexametasona – relação entre parasito e hospedeiro.

INTRODUÇÃO

Descrito em 1852 por von Siebold como *Taenia nana*, *Rodentolepis nana* Spasskii, 1954 (Cestoda: Hymenolepididae) foi considerado inicialmente como um parasito exclusivo de humanos. Entretanto, Stiles, em 1906, encontrou em roedores uma variedade do parasito, descrita naquela ocasião como *Hymenolepis nana* var. *fraterna*, apesar de morfologicamente indistinguível da variedade infectante para humanos. Trata-se de um parasito cosmopolita, que tem como principais hospedeiros vertebrados

os seres humanos e diversos roedores. Além do ciclo heteroxênico comum aos representantes da classe Cestoda, esse parasito é capaz de realizar um ciclo monoxênico completo em um hospedeiro vertebrado suscetível, que se infecta ao ingerir ovos de *R. nana* em alimento contaminado ou diretamente junto às fezes. Nesse caso, as larvas cisticercóides irão se desenvolver no interior das vilosidades intestinais desse hospedeiro. Posteriormente, elas emergem na luz intestinal e se prendem, através de seus escólices,

Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia. Departamento de Parasitologia. Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

²Professor Associado. Departamento de Parasitologia. Laboratório de Taxonomia e Biologia de Invertebrados. Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais. – UFMG

Correspondência para / Correspondence to:

Alan Lane de Melo

Laboratório de Taxonomia e Biologia de Invertebrados. Instituto de Ciências Biológicas

Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

Tel.: (31) 3499-2978. Fax: (31)3499-2970

Cx. Postal 486. 30.123-970. Belo Horizonte – Minas Gerais – Brasil

E mail: aldemelo@icb.ufmg.br

à mucosa, onde completarão seu desenvolvimento até adultos, em um período entre 15 a 20 dias (SILES-LUCAS; HEMPHILL, 2002; VIANNA; MELO, 2007).

A possibilidade de transmissão horizontal do parasito entre humanos e roedores – o que implicaria um caráter zoonótico à infecção – e entre diferentes roedores e outros possíveis hospedeiros vertebrados não está completamente elucidada (WOODLAND, 1924; FERRETTI; GABRIELE; PALMAS, 1981; MACNISH et al., 2002a, b; SILES-LUCAS; HEMPHILL, 2002).

Lussier e Loew (1970) relatam o encontro de *Meriones unguiculatus* Milne-Edwards, 1867 (Rodentia: Muridae), um interessante roedor que vem sendo progressivamente utilizado como modelo animal em laboratórios de pesquisa, naturalmente infectado pelo *R. nana*, em uma loja de animais de estimação nos EUA, sugerindo serem outros roedores mantidos em confinamento numa mesma gaiola a fonte provável de infecção dos *M. unguiculatus*.

Por outro lado, Vianna e Melo (2007) não obtiveram êxito ao tentar infectar experimentalmente *M. unguiculatus* que não foram submetidos à quimioterapia imunossupressora, utilizando uma linhagem de *R. nana* proveniente de camundongos, mesmo em diferentes esquemas de infecção. Assim, o objetivo do presente estudo foi melhor compreender o desenvolvimento e a distribuição do parasito em *M. unguiculatus* submetidos ou não à terapia imunossupressora pela dexametasona (DMS).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 20 exemplares de *M. unguiculatus* de ambos os sexos, com 6-8 semanas de idade, obtidos junto ao biotério do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Durante todo o período experimental, os animais foram mantidos em gaiolas plásticas forradas com maravalha, sendo fornecida ad libitum água e ração comercial para roedores.

A linhagem de *R. nana* utilizada no presente experimento foi inicialmente obtida no ano de 2003, a partir de fezes contaminadas com ovos do parasito procedentes de camundongos naturalmente infectados e mantida através de passagens sucessivas mensais em camundongos SWISS, heterozigotos, pelo ciclo monoxênico do parasito.

Uma amostra de aproximadamente 3g de fezes dos camundongos SWISS com ovos de *R. nana* foi inicialmente submetida ao método de sedimentação espontânea. O sobrenadante foi desprezado, de modo a se obter um volume final de aproximadamente 20ml de suspensão. Desse volume, foram retiradas três alíquotas de 100µl e preparadas três lâminas, examinadas em microscópio, procedendo-se à quantificação do número total de ovos encontrados em cada lâmina. O número médio de ovos por volume de suspensão foi obtido, sendo esta ajustada em salina fisiológica (0,85% p/v NaCl), para uma concentração final de 200 ovos/ml de salina. Cada animal recebeu um inóculo oral de 100 ovos de *R. nana*, com auxílio de agulha intragástrica adaptada a uma seringa hipodérmica (BD Cornwall de 1ml). Dos animais infectados, metade foi submetida ao tratamento diário pela dexametasona (Decadron®), por via subcutânea, na dose de 10mg/Kg de peso animal, tratamento iniciado no dia da infecção e mantido durante todo o período experimental.

Aos 7 e 15 dias após a infecção (DPI), cinco gerbilíneos de cada grupo experimental foram sacrificados por deslocamento cervical. Após a abertura da cavidade abdominal, o intestino delgado foi removido, dividido em três porções de igual tamanho (anterior, média e posterior) e transferido para placas de Petri com salina fisiológica, onde foi seccionado longitudinalmente, lavado e inspecionado à procura de helmintos. Realizou-se, então, a recuperação dos helmintos diretamente na mucosa intestinal e no material oriundo das lavagens. Os cestóides encontrados foram quantificados e sua localização anotada. Posteriormente, esses helmintos foram transferidos para discos de papel alumínio, previamente pesados e desidratados

em estufa na temperatura de 80°C por 24h, para a determinação do peso seco (ISHIH et al., 2003).

RESULTADOS

O número de animais infectados por *R. nana* e o número médio de parasitos recuperados em *M. unguiculatus* que receberam ou não DMS, aos 7 e 15 DPI, pode ser visualizado na Tabela 1.

No grupo de *M. unguiculatus* não tratados, foram recuperados parasitos somente no 7º DPI, sendo que a quase totalidade dos helmintos encontrados não apresentava proglotes formadas, ou, quando presentes, não foi possível visualizar nenhuma estrutura reprodutiva formada, sugerindo o início da fase luminal do ciclo de vida do parasito, estando supostamente esses helmintos ainda em início de maturação sexual. Nessa ocasião, os helmintos recuperados em *M. unguiculatus* tratados pela DMS, em sua maioria, também não apresentavam proglotes formadas, possivelmente no mesmo estágio que os encontrados em *M. unguiculatus* não tratados. Não foi observada diferença significativa no número médio de parasitos recuperados entre os grupos experimen-

tais (Tabela 1). O peso seco médio dos helmintos encontrados em ambos os grupos experimentais no 7º DPI foi inferior a 0,5 mg, não sendo observada diferença significativa entre os grupos nessa ocasião (Figura 1).

No 15º DPI, foram recuperados parasitos somente no grupo de *M. unguiculatus* tratados pela DMS (Tabela 1). Nessa ocasião, os

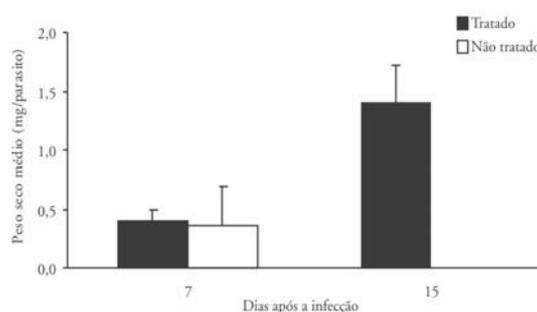


Figura 1- Peso seco médio por helminto recuperado aos 7 e 15 dias após a infecção experimental de *Meriones unguiculatus* pelo *R. nana*, em gerbilíneos submetidos ou não ao tratamento diário pela dexametasona, por via subcutânea, na dose de 10mg/Kg de peso animal

Notas: * [Trat. x NTrat.] Anova (F=0,04; p=0,8402)

** [Trat. 7 DPI x Trat. 15 DPI] Kruskal-Wallis (H_[1,10]=6,86; p=0,0088)

Tabela 1- Número de animais infectados pelo *Rodentolepis nana* e número de parasitos recuperados no intestino delgado de *Meriones unguiculatus* submetidos ou não ao tratamento diário pela dexametasona, por via subcutânea, na dose de 10mg/Kg de peso animal, aos 7 e 15 dias após a infecção.

Grupo experimental	Dias após a infecção	Nº animais infectados/Nº animais necropsiados (% de animais infectados)	Nº de parasitos recuperados (média ± desvio padrão)
Tratado	7	5/5 (100)	5,4 ± 3,05 ^{a, b}
	15	5/5 (100)	30,2 ± 11,84 ^b
Não tratado	7	4/5 (80)	7,8 ± 5,85 ^a
	15	0/5 (0)	0

^a [Trat. x NTrat.] Anova (F=0,66; p=0,4394)

^b [Trat. 7 DPI x Trat. 15 DPI] Kruskal-Wallis (H_[1,10]=6,82; p=0,0090)

helmintos encontrados já se encontravam no estágio adulto, apresentando proglotes maduras e também proglotes grávidas repletas de ovos, mostrando um significativo aumento em biomassa em relação aos parasitos encontrados no 7º DPI (Figura 1).

Os helmintos recuperados no 7º DPI em *M. unguiculatus* não tratados se distribuíram principalmente pelo terço distal do intestino delgado desse roedor (92,3% dos parasitos recuperados). Uma pequena porcentagem de helmintos (7,7%) foi recuperada na porção média do intestino e nenhum helminto foi encontrado no terço anterior. Em *M. unguiculatus* tratados pela DMS, os helmintos se distribuíram homogeneamente pelas porções média (51,9%) e distal (48,1%) do intestino delgado desse roedor no 7º DPI. Também nesse grupo, não foram registrados helmintos no terço proximal do intestino.

Aos 15 DPI, os helmintos encontrados em *M. unguiculatus* tratados pela DMS se distribuíram por todas as três porções do intestino delgado. As porções média e distal albergaram os maiores percentuais de helmintos, sendo verificado um percentual de helmintos distribuídos pela porção média (64,9%) superior à porção distal (31,8%). Recuperou-se, na porção proximal, um pequeno percentual de helmintos (3,3%).

DISCUSSÃO

Os efeitos de imunossupressores químicos sobre o estabelecimento, desenvolvimento e eliminação de diferentes espécies de cestóides em modelos animais são bem documentados na literatura (HOPKINS; SUBRAMANIAN; STALLARD, 1972; MOSS, 1972; KHAN; DE RYCKE, 1977; LUCAS et al., 1980; JOHNSON & CONDER, 1996; ISHIIH et al., 2003).

O *R. nana* é um parasito imunogênico em todos os seus estádios de desenvolvimento. Portanto, para se estabelecer com sucesso em um hospedeiro vertebrado imunocompetente, o parasito terá de lidar com um ambiente inóspito do ponto de vista bioquímico e fisiológico,

o que impõe, muitas vezes, limitações diversas ao seu desenvolvimento, desde a eclosão e ativação das oncosferas ao desenvolvimento das larvas cisticercóides no interior das vilosidades e (ou) o estabelecimento e sobrevivência do adulto na luz intestinal (FERRETTI; GABRIELE; PALMAS, 1981; ITO, 1984; ITO; OTANAKE, 1987).

A recuperação de parasitos em ambos os grupos experimentais aos 7 DPI sugere que *R. nana* não encontra restrições para se estabelecer nas vilosidades intestinais de *M. unguiculatus* onde ocorre o desenvolvimento dos estádios iniciais de seu ciclo de vida, independentemente de terapia imunossupressora. Observou-se, entretanto, que em *M. unguiculatus* não tratados, o parasito é eliminado desse hospedeiro sem que possa concluir seu desenvolvimento até adulto, num período menor que 15 DPI. Por outro lado, observou-se que o parasito é capaz de completar integralmente seu ciclo de vida em *M. unguiculatus* tratados diariamente pela DMS, como observado por Ito (1982, 1983), e Ito e Kamiyama (1987) em infecções experimentais de diferentes linhagens de ratos por isolados de *R. nana* mantidos exclusivamente em camundongos, onde os parasitos se estabelecem nas vilosidades intestinais sem, contudo, atingirem a maturidade reprodutiva, observada somente em ratos tratados com corticosteróide durante o período esperado do desenvolvimento do parasito no lúmen intestinal desse hospedeiro.

Vê-se, portanto, que a DMS exerce um efeito direto sobre o desenvolvimento do *R. nana* em *M. unguiculatus* possivelmente por um mecanismo que induz um atraso na eliminação dos parasitos, possibilitando a continuidade de seu desenvolvimento e crescimento (ganho em biomassa) até o final do período experimental, *i.e.* 15 DPI, quando os helmintos atingem a completa maturação sexual e já produzem ovos viáveis. De fato, Vianna e Melo (2007) verificaram que somente após submeter *M. unguiculatus* ao tratamento pela DMS foi possível obter exemplares eliminando ovos de *R. nana* nas fezes, o que levou a uma tentativa de adaptação da linhagem de *R. nana* obtida dos *M. unguiculatus* tratados pela DMS a exemplares

que não foram tratados. Porém, mesmo depois de 10 passagens sucessivas em exemplares imunossuprimidos, não foi possível verificar produção de ovos em *M. unguiculatus* não tratados pela DMS. Nesse mesmo estudo, os autores verificaram que, sob um protocolo diário de imunossupressão, o parasito é capaz de manter a produção de ovos durante todo o período em que foi mantido o tratamento.

A localização de helmintos no intestino delgado de seus hospedeiros vertebrados é determinada pela interação entre certos estímulos do ambiente intestinal e a habilidade do helminto em interpretar e monitorar essas condições, no sentido de se mover em direção a uma posição favorável no intestino delgado (HOPKINS; ALLEN, 1979). Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que a DMS tenha exercido influência também sobre a distribuição de *R. nana* em *M. unguiculatus*. Verificou-se a quase totalidade dos parasitos encontrados em *M. unguiculatus* não tratados pela DMS localizados no terço mais posterior do intestino delgado desses roedores, posição similar à observada por Shorb (1933) e Hunninen (1935) em camundongos experimentalmente infectados pelo *R. nana*, considerados como hospedeiros naturais do parasito. Esses dados foram concordantes com os obtidos por Schiller (1959a, b) em variados hospedeiros vertebrados, considerados como pouco adaptados ao parasito, nos quais verificou uma distribuição mais distal do parasito pelo intestino delgado desses hospedeiros.

Em infecção acompanhada durante 15 dias, Henderson e Hanna (1987) verificaram, nas primeiras 24h após o inóculo oral de larvas cisticercóides, que o estabelecimento dos helmintos é feito na região anterior do intestino delgado de camundongos da linhagem CW isentos de patógenos específicos. Subseqüentemente, a partir de 96h após o inóculo, os vermes realizam uma migração para uma posição posterior, correspondente ao íleo terminal, e onde permanecem, pelo menos, até o fim do período analisado. Embora por mecanismos ainda não totalmente esclarecidos, a migração dos helmintos para uma região mais posterior do intestino delgado de *M. unguiculatus* tratados pela DMS foi relativamente retardada, ou simplesmente houve uma maior ocupação do espaço intestinal pelos parasitos, possivelmente devido aos efeitos da droga no bloqueio de barreiras imunológicas específicas no duodeno e jejuno, ou pela modificação fisiológica no peristaltismo e no trânsito intestinal, ou ambos, sendo, portanto, observada uma maior porcentagem de helmintos distribuídos pela porção intermediária do intestino delgado desses roedores aos 7 e 15 DPI.

Conclui-se que *M. unguiculatus* tem reduzido potencial como reservatório deste cestóide em condições normais e que a eliminação do *R. nana* pelo roedor tem um importante componente inflamatório, sensível à ação da DMS.

Development and distribution of Rodentolepis nana (Cestoda: Hymenolepididae) in Meriones unguiculatus (Rodentia: Muridae)

Abstract

In order to evaluate the development and distribution of Rodentolepis nana in Meriones unguiculatus, twenty animals had been orally infected with 100 eggs of R. nana each, half of them daily treated subcutaneously with dexamethasone (DMS) (10mg/Kg). At the 7th and 15th day post-infection (DPI) five animals of each group were sacrificed for parasite recovery. In DMS untreated- M. unguiculatus, parasites were recovered only at the 7th DPI, in early stage of maturation and distributed mainly through the distal portion of this rodent small intestine. In the same date, the parasites recovered in DMS treated- M. unguiculatus were probably in the same developmental stage of those parasites found in untreated ones, although distributed through median and distal portions of the small intestine. The parasites recovered in DMS treated- M. unguiculatus were fully developed, showing sexually mature and gravid proglottids.

distributed mainly through the median portion, and secondarily, through the distal portion of the small intestine. It is concluded that M. unguiculatus has reduced potential as reservoir of this cestode and its resistance to the R. nana infection has an important inflammatory component, sensible to DMS action.

Keywords: Rodentolepis nana- Meriones unguiculatus- Dexamethasone- Host-parasite relationship.

REFERÊNCIAS

- FERRETTI, G.; GABRIELE, F.; PALMAS, C. Development of human and mouse strain of *Hymenolepis nana* in mice. *Int. J. Parasitol.*, Oxford, v.11, p.425-430, 1981.
- HENDERSON, D.J.; HANNA, R.E.B. *Hymenolepis nana* (Cestoda: Cyclophyllidea): migration, growth and development in the laboratory mouse. *Int. J. Parasitol.*, Oxford, v.17, p.1249-1256, 1987.
- HOPKINS, C.A.; ALLEN, L.M. *Hymenolepis diminuta*: the role of the tail in determining the position of the worm in the intestine of the rat. *Parasitology*, London, v.79, p.401-410, 1979.
- HOPKINS, C.A.; SUBRAMANIAN, G.; STALLARD, H. The effect of immunosuppressants on the development of *Hymenolepis diminuta* in mice. *Parasitology*, London, v.65, p.111-120, 1972.
- HUNNINEN, A.V. Studies on life history and host-parasite relations of *Hymenolepis fraterna* (*H. nana* var. *fraterna* Stiles) in white mouse. *Am. J. Hyg.*, Baltimore, v.22, p.414-443, 1935.
- ISHIH, A. et al. *Hymenolepis pseudodiminuta* Tenora et al., 1994 from *Apodemus speciosus* and *H. diminuta*: a comparison of experimental infection in rats. *Parasitol. Res.*, Berlin, v.89, p.297-301, 2003.
- ITO, A. *Hymenolepis nana* maturation in an immunosuppressed unnatural rat host. *Exp. Parasitol.*, Orlando, v.56, p.318-326, 1983.
- ITO, A. Induction of adult formation from cysticercoid of *Hymenolepis nana* established in Fischer (F344) rat with cortisone acetate. *Jpn. J. Parasitol.*, Tokyo, v.31, p.141-146, 1982.
- ITO, A. Stage-specific immunogens of *Hymenolepis nana* in mice. *J. Helminthol.*, London, v.58, p.235-238, 1984.
- ITO, A.; KAMIYAMA, T. Cortisone-sensitive, innate resistance to *Hymenolepis nana* infection in congenitally athymic nude rats. *J. Helminthol.*, London, v.61, p.124-128, 1987.
- ITO, A.; ONITAKE, K. Changes in surface antigens of *Hymenolepis nana* during differentiation and maturation in mice. *J. Helminthol.*, London, v.61, p.129-136, 1987.
- JOHNSON, S.S.; CONDER, G.A. Infectivity of *Hymenolepis diminuta* for the jird, *Meriones unguiculatus*, and utility of this model for anthelmintic studies. *J Parasitol.*, Lawrence, v.82, p.492-495, 1996.
- KHAN, Z.I.; DE RYCKE, P.H. The effect of cortisone acetate on the metabolism of *Hymenolepis microstoma* (Cestoda: Cyclophyllidea). *Z. Parasitenkd.*, Berlin, v.52, p.267-274, 1977.
- LUCAS, S.B. et al. Abnormal development of *Hymenolepis nana* larvae in immunosuppressed mice. *J. Helminthol.*, London, v.54, p.75-82, 1980.
- LUSSIER, G.; LOEW, F.M. Natural *Hymenolepis nana* in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Can. Vet. J.*, Ottawa, v.11, p.105-107, 1970.
- MACNISH, M.G. et al. Failure to infect laboratory rodent hosts with human isolates of *Rodentolepis* (= *Hymenolepis*) *nana*. *J. Helminthol.*, London, v.76, p.37-43, 2002a.
- MACNISH, M.G. et al. A molecular phylogeny of nuclear and mitochondrial sequences in

Hymenolepis nana (Cestoda) supports the existence of a cryptic species. *Parasitology*, London, v.125, p.567-575, 2002b.

MOSS, G.D. The effect of cortisone acetate treatment on the growth of *Hymenolepis microstoma* in mice. *Parasitology*, London, v.64, p.311-320, 1972.

SCHILLER, E.L. Experimental studies on morphological variation in the cestode genus *Hymenolepis*. II. Growth, development and reproduction of the strobilate phase of *H. nana* in different mammalian host species. *Exp. Parasitol.*, Orlando, v.8, p.215-235, 1959a.

SCHILLER, E.L. Experimental studies on morphological variation in the cestode genus *Hymenolepis*. IV. Influence of the host on variation in *H. nana*. *Exp. Parasitol.*, Orlando, v.8, p.581-590, 1959b.

SHORB, D.A. Host-parasite relations of *Hymenolepis fraterna* in the rat and the mouse. *Am. J. Hyg.*, Baltimore, v.18, p.74-113, 1933.

SILES-LUCAS, M.; HEMPHILL, A. Cestode parasites: application of *in vivo* and *in vitro* models for studies on the host-parasite relationship. *Adv. Parasitol.*, London, v.51, p.134-194, 2002.

VIANNA, G.J.C.; MELO, A.L. Experimental infection and adaptation of *Rodentolepis nana* to the Mongolian jird *Meriones unguiculatus*. *J. Helminthol.*, London, v.81, p.345-349, 2007.

WOODLAND, W.N.F. On the development of the human *Hymenolepis nana* (Siebold, 1852) in the white mouse with remark in *H. fraterna*, *H. longior* and *H. diminuta*. *Parasitology*, London, v.16, p.69-83, 1924.

Recebido em / **Received**: 01/02/2008
Aceito em / **Accepted**: 27/03/2008