

## TENTATIVA PARA DETECTAR INFECÇÃO POR CAPILLARIA HEPATICA NO HOMEM (\*)

Virginia Andrade GALVÃO (1)

### RESUMO

Foi feita tentativa para se investigar a presença de anticorpos contra *Capillaria hepatica* no soro de 500 crianças de Salvador, Bahia, através do emprego de uma técnica de imunofluorescência. Em 9 casos observou-se um padrão intenso e difuso contra as estruturas de vermes adultos e seus ovos, provavelmente representando casos subclínicos de infecção verdadeira pela *Capillaria hepatica*. Em 42,4% dos casos restantes observaram-se vários padrões de fluorescência parcial, possivelmente refletindo casos de infecções espúrias pela *Capillaria hepatica* ou reações cruzadas com antígenos os mais variados. Estudos com antígenos purificados serão necessários para esclarecer o problema, mas os dados presentes sugerem que a *Capillaria hepatica* pode se reacionar com o homem em nosso meio.

### INTRODUÇÃO

A *Capillaria hepatica* (Bancroft 1893) é um nematóide da família *Trichuridae* que parasita o fígado de roedores, podendo também parasitar outros mamíferos. Cosmopolita, não parece ser muito específico em relação ao hospedeiro, sendo que, só na América do Norte, 33 espécies de 11 famílias de mamíferos foram encontradas naturalmente infectadas<sup>18</sup>. O homem está entre seus hospedeiros naturais. Os casos humanos, no entanto, são raros, tendo sido descritos 12 casos até o momento<sup>2,3,4,5,6,7,12,13,14,16,17,21</sup>. Isto é surpreendente, uma vez que o grande número de animais infectados e as baixas condições de higiene das populações em muitas áreas, fariam prever uma maior prevalência desta infecção. Uma explicação para este fato seria a dificuldade de se detectar casos, pois os ovos dos parasitas não aparecem nas fezes, sendo necessário biopsia hepática ou necropsia para comprovar a infecção por este helminto. Torna-se assim importante o desenvolvimento de um método mais adequado para o diagnóstico.

Em trabalho anterior<sup>9</sup> verificamos ser possível detectar anticorpos no soro de ani-

mais com capilariase hepática através do teste de imunofluorescência. O soro do animal infectado reage com diversas estruturas de vermes adultos, larvas e ovos nos tecidos, mesmo após a fixação destes.

No presente trabalho, o teste de imunofluorescência é empregado em um inquérito em 500 crianças do Salvador, numa tentativa de se verificar a possibilidade de empregar este método para se detectar casos de capilariase hepática e avaliar o papel desta parasitose em patologia humana.

### MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de sangue de 500 crianças foram colhidas por punção digital, em papel de filtro, segundo método de SOUZA & CAMARGO<sup>20</sup>, preenchendo o espaço de uma circunferência com cerca de 2 cm de diâmetro. Após um intervalo que variou de 3 a 27 dias, em temperatura ambiente, as amostras foram eluídas em 0,2 ml de salina tamponada com fosfato, pH 7,2, durante 20 a 30 minutos e testadas pela imunofluorescência indireta. FIA

(\*) Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal

(1) Bolsista do CNPq.

da Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brasil.

Para a técnica de imunofluorescência foram utilizadas secções histológicas de fígado de camundongo. Estes provinham de animais na quarta semana de infecção experimental pela *Capillaria hepatica* e continham ovos e vermes adultos.

As secções desparafinizadas e lavadas repetidamente com salina tamponada gelada (pH 7,2) foram tratadas com os eluatos obtidos. Após incubação em câmara úmida por 30 minutos à temperatura ambiente e lavagens repetidas com salina tamponada, os cortes foram tratados com uma anti-IgG humana fluoresceïnada obtida comercialmente (Hyland Lab., Califórnia-USA), na diluição de 1:40. Após 30 minutos de incubação e novas lavagens, lâminas foram montadas em glicerina e examinadas em microscópio Olympus Vanox, sob luz ultra-violeta e filtros apropriados.

A fim de diversificar a procedência dos indivíduos testados, foram colhidas amostras de sangue em crianças na faixa etária de 1 a 10 anos, de ambos os sexos, com queixas e diagnóstico clínico diversos, entre a população de baixa renda, atendidas entre janeiro e abril de 1978, nos seguintes locais:

Ambulatório de Pediatria do Hospital Prof. Edgard Santos, UFBA: 337 amostras;

5.º Centro de Saúde (Posto da Prefeitura): 68 amostras;

Hospital Martagão Gesteira (Enfermaria): 95 amostras.

Os resultados do exame parasitológico de fezes foram obtidos em apenas 173 casos, tendo sido anotados também os dados clínicos gerais dos respectivos prontuários.

## RESULTADOS

Os aspectos observados com a ação dos soros sobre cortes de tecido contendo ovos e vermes adultos de *Capillaria hepatica* foram variados e exibiam 5 padrões que podem ser assim descritos:

**Padrão 0** — Negativo. Ausência de fluorescência específica;

**Padrão I** — Fluorescência específica limitada à casca dos ovos, mudando a auto-fluorescência amarelada da casca quitinosa por uma tonalidade esverdeada clara (Fig. 1);

**Padrão II** — Fluorescência presente ao longo do revestimento do tubo digestivo do

verme adulto formando uma linha brilhante e contínua, em adição à fluorescência dos ovos tal como no padrão anterior (Fig. 2);

**Padrão III** — Semelhante ao anterior, com o acréscimo de que o aparelho genital (massas genitais) do verme adulto exibe também fluorescência verde-maçã de intensidade variável (Fig. 3);

**Padrão IV** — Intensa fluorescência específica dos ovos (casca e conteúdo), tegumento, tubo digestivo, genitais e corpo dos vermes e de um material amorfo presente em torno dos mesmos (Fig. 4).

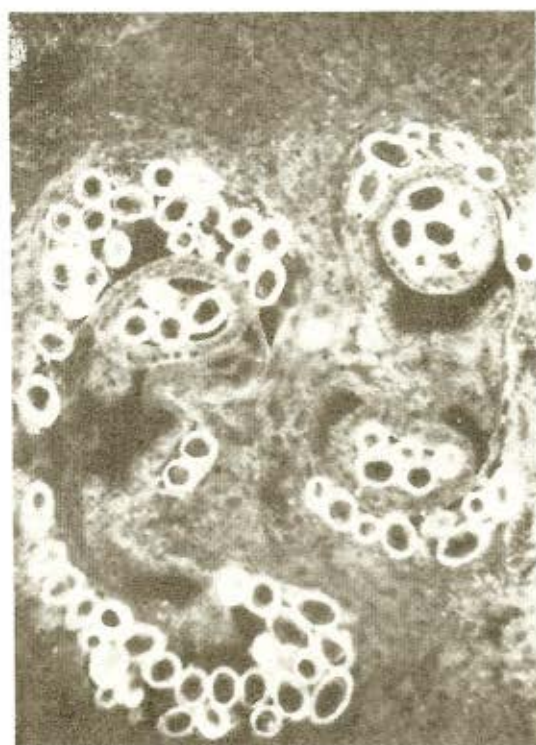


Fig. 1 — Fluorescência específica impregnando os ovos de *Capillaria hepatica*, principalmente localizada na casca quitinosa dos mesmos. Reação de imunofluorescência com eluato de sangue humano sobre cortes de fígado de camundongo, e tratamento com anti-IgG humana fluoresceïnada, obtida em coelhos. 150 ×

Em qualquer dos casos não foram observadas impregnação fluorescente significativa do tecido hepático, ou dos núcleos das células, ou de outras estruturas vasculares, nervosas etc.

A distribuição dos vários padrões de fluorescência em relação com os soros examinados aparece na Tabela I. Mais da metade dos soros (55,8%) apresentou resultado, negativo, enquanto o restante exibiu vários padrões de imunofluorescência.

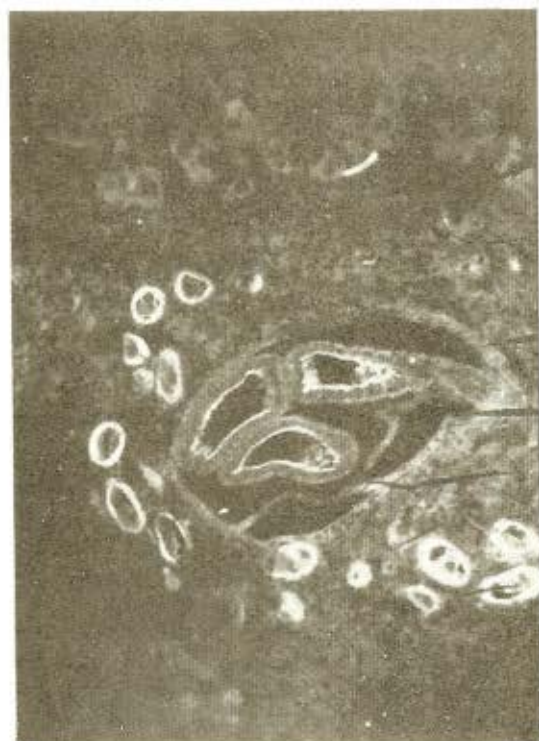


Fig. 2 — Além da fluorescência impregnando a casca dos ovos, nota-se uma linha brilhante no revestimento do tubo digestivo dos vermes adultos, localizados no fígado de camundongo, 150 ×

TABELA I

Resultados obtidos com a reação de imunofluorescência contra *Capillaria hepatica* com soros de 500 crianças de Salvador-Bahia

Padrões	Masc.	Fem.	Total	%
0	155	124	279	55,8
I	18	17	35	7,0
II	42	35	77	15,4
III	42	58	100	20,0
IV	7	2	9	1,8
Total	264	236	500	100,0

Os resultados referentes aos soros de 173 pacientes nos quais se conseguiu saber o resultado do exame parasitológico de fezes, aparecem na Tabela II. Os exames positivos geralmente o eram para vários helmintos intestinais, incluindo o *Ascaris lumbricoides* e o *T. trichiuris* em quase todos.



Fig. 3 — Além da fluorescência ovular, estruturas identificadas como massas genitais do parasita também exibem fluorescência específica. 150 ×

TABELA II

Padrões de imunofluorescência para *Capillaria hepatica* em relação aos resultados dos exames parasitológicos de fezes em 173 crianças

Padrões	Presença de ovos de helmintos nas fezes	Parasitológico de fezes negativo
0	80	17
I	9	0
II	27	1
III	33	2
IV	4	0
Total	153	20



Fig. 4 — Intensa fluorescência específica presente nos ovos e impregnando difusamente as estruturas da *Capillaria hepatica* no fígado de camundongo experimentalmente infectado. Reação de imunofluorescência com eluato de sangue humano. 150 ×

## DISCUSSÃO

A técnica de imunofluorescência empregada no presente estudo dá resultados específicos, consistentes, reproduzíveis com soros de animais infectados pela *Capillaria hepatica* e de controles apropriados<sup>9</sup>. A utilização de soros humanos forneceu uma variedade de padrões, cuja exata interpretação fica difícil de ser estabelecida no momento. Os helmintos possuem composição muito complexa do ponto de vista antigênico. A *Capillaria hepatica*, que vive na intimidade dos tecidos do hospedeiro e aí põe seus ovos e se desintegra, deve liberar numerosos determinantes antigênicos, com grandes possibilidades de reações cruzadas com outros organismos. Segundo BAZON & col.<sup>1</sup> da família *Trichuridae*, que o inclui o gênero *Capillaria*, apenas a *T. spiralis* tem sido objeto de extensa investigação neste sentido e apresentou determinantes antigênicos comuns com diversos helmintos e até bac-

térias. Este Autor observou, pela imunodifusão e hemaglutinação indireta, que o soro de pacientes com *T. spiralis* e *S. japonicum* dão reação positiva contra a *C. obsignata*, enquanto que soro de pacientes com Tricocefaliase apenas, não reagem com esta capilária. Numa tentativa de esclarecer a possibilidade de determinantes antígenos comuns entre *T. trichiuris* e *Capillaria hepatica*, que determinassem uma reação cruzada na imunofluorescência, testamos soro de camundongos com capilariase hepática contra cortes de Tricocefalos e obtivemos resultado negativo. Também não conseguimos estabelecer correlação consistente entre os resultados obtidos nos exames parasitológicos de fezes e os da imunofluorescência. Assim é que 80 crianças com algum tipo de ovos de helminto nas fezes (na maioria *T. trichiuris* e *A. lumbricoides*) deram resultado negativo no teste de imunofluorescência contra *Capillaria hepatica*. Este fato não justifica a hipótese da existência de reação cruzada importante com os helmintos intestinais mais comuns.

SOLOMON & col.<sup>10</sup>, fizeram a primeira tentativa para estabelecer um teste sorológico para a capilariase hepática através da hemaglutinação indireta com soro de roedores infectados natural e experimentalmente. Encontraram títulos detectáveis de anticorpos aglutinantes coincidentes com a postura dos ovos (cerca de 18 dias após a infecção) e que desapareceram por volta do 70.º dia. Os resultados falso positivos não apresentaram correlação consistente com infecções por outros helmintos. RAYBOURNE & col.<sup>15</sup>, estudando a resposta periférica em camundongos infectados por *Capillaria hepatica*, não encontrou anticorpos precipitantes, mas encontrou anticorpos hemocitotrópicos e aglutinantes e a presença de hipersensibilidade cutânea retardada.

A possibilidade de que a *Capillaria hepatica* produza infecção verdadeira, não fatal e subclínica tem sido levantada por diversos Autores<sup>3,4,7,8,10</sup>. Infecções deste tipo por este helminto poderiam ser a causa de eosinofilia, hepatomegalia e febre inexplicadas em crianças. As dificuldades no diagnóstico tem, possivelmente, dificultado o conhecimento da extensão desta parasitose entre indivíduos humanos. Nos casos de infecção verdadeira por este helminto, o hospedeiro ingere ovos embrionados (após cerca de 1 mês em meio ambiente). Os

ovos eclodem ao nível do ceco e as larvas atingem o fígado pelo sistema porta. No fígado atingem o estágio de vermes adultos e em cerca de 4 semanas após a infecção as fêmeas desintegram-se liberando grande número de ovos. Os ovos não são eliminados nas fezes e só são liberados após a morte do hospedeiro. Quando ocorre a ingestão de ovos não embrionados, se dá a chamada infecção espúria, em que os ovos passam íntegros pelo aparelho digestivo e são eliminados na fezes. Assim, a possibilidade de diagnóstico da infecção verdadeira limita-se à biopsia e à necrópsia. LUBINSKY<sup>10</sup>, sugere o estudo de granulomas em fígados de necrópsia através de cortes seriados para verificar a extensão da infecção por *Capillaria hepatica* entre a população indígena do Norte do Canadá. SLAIS<sup>17</sup>, na Tchecoslováquia, estudando fígados de necrópsia com granulomas inespecíficos através de cortes seriados, encontrou nove casos de capilariase hepática no homem, sendo que neste país a incidência deste helminto é baixa entre os roedores e outros animais.

Na análise dos nossos resultados, chamamos a atenção para os nove casos cujos soros revelaram a presença de altos títulos a julgar pela intensidade da fluorescência de anticorpos contra estruturas da *Capillaria hepatica*. É bem provável que estes casos representem exemplos de infecção verdadeira pela *Capillaria hepatica*. O padrão de imunofluorescência destes casos se superpõe exatamente ao obtido com o soro dos animais com infecção experimental<sup>9</sup>. Além do mais, a obtenção de tal padrão em apenas 9 das 500 crianças testadas sugere aspecto altamente específico e relativamente raro. Quanto aos outros padrões, fica ainda mais difícil de se avaliar. Reações cruzadas podem estar em jogo. Todavia, há um aspecto mais importante e que não deve ser esquecido: a possibilidade de sensibilização através da infecção espúria. Dados experimentais preliminares (GALVÃO & BRITO, trabalho em andamento) demonstram que a administração de ovos de *Capillaria hepatica*, não embrionados, através da via digestiva, pode provocar em animais previamente negativos, o aparecimento de anticorpos que se ligam às estruturas do referido helminto, apresentando, no entanto, padrão diferente do encontrado na infecção experimental verdadeira. É possível pois, que a infecção pela *Capillaria hepatica* seja responsável por

alguns dos padrões de imunofluorescência obtidos. Esta deve ser também muito freqüente em nosso meio do que se tem notícia, uma vez que a semelhança dos ovos da *Capillaria hepatica* com os ovos do *T. trichiuris* dificulta o diagnóstico diferencial e possivelmente os primeiros passam despercebidos, não identificados, em exames de fezes de rotina, quando não se está atento para a possibilidade de encontrar este parasita.

Estudos posteriores, especialmente com o uso de antígenos purificados, parecem essenciais para esclarecer o possível papel do helminto *Capillaria hepatica* em nossa patologia. O presente estudo sugere que este papel pode ser mais importante do que geralmente se admite.

#### SUMMARY

#### An attempt to detect *Capillaria hepatica* infection in man.

Antibodies against *Capillaria hepatica* were search by immunofluorescence in the sera of 500 children from low income families living in Salvador, Bahia-Brazil. In nine instances (1.8%) a strong diffuse specific fluorescence against adult worm and their eggs were seen. These cases probably represent examples of true *Capillaria hepatica* infection. In 42.4% of the cases several fluorescent patterns were observed, probably representing cross reactions to unknown antigens or cases of spurious infection by *Capillaria hepatica*. In 55.8% results were negative. So, this attempt to investigate the role of *Capillaria hepatica* in human pathology suggested that asymptomatic *Capillaria hepatica* infection probably occurs and that these case should be detected by immunologic tests.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BANZON, T. C.; LEWERT, R. M. & YOGORE, M. G. — Serology of *Capillaria philippinensis* infection: reactivity of human sera to antigens prepared from *Capillaria obsignata* and other helminths. Amer. J. Trop. Med. & Hyg. 24: 256-263, 1975.
2. CALLE, S. — Parasitism by *Capillaria hepatica*. Pediatrics 27: 648-655, 1961.
3. CISLAGHI, F. & RADICE, C. — Infection by *Capillaria hepatica*. First case report in Italy. Helvetica Paediat. Acta 25: 647-654, 1970.

4. COCHRANE, J. C.; SAGORIN, L. & WILCOCKS, M. G. — *Capillaria hepatica* infection in man. A syndrome of extreme eosinophilia, hepatomegaly and hyperglobulinaemia. *A. Afr. Med. J.* 31: 751-755, 1957.
5. COCHRANE, J. C. & SKINSTAD, E. E. — *Capillaria hepatica* in man. Follow up of a case. *S. Afr. Med. J.* 34: 21-22, 1960.
6. DIVE, G. H.; LAFRENAIS, H. M. & Mc ARTHUR, W. P. — A case of deposition of the eggs of *Hepaticola hepatica* in the human liver. With a note on the identity of the eggs. *J. Roy. Army Med. Corps.* 43: 1-4, 1924.
7. EWING, G. M. & TILDEN, I. L. — *Capillaria hepatica*: Report of fourth case of true human infestation. *J. Pediat.* 48: 341-348, 1956.
8. FOSTER, A. O. & JOHNSON, C. M. — An explanation for the occurrence of *Capillaria hepatica* ova in human faeces suggested by the finding of three new hosts used as food. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* 32: 639-644, 1939.
9. GALVÃO, V. A. — *Capillaria hepatica*: Estudo da incidência em ratos de Salvador, Bahia e dados imunopatológicos preliminares. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* 10: 333-338, 1976.
10. LUBINSKY, G. — On the probable presence of parasitic liver cirrhosis in Canada. *Canad. J. Comparat. Med.* 20: 457-465, 1956.
11. Mc ARTHUR, W. P. — A case of infestation of human liver with *Hepaticola hepatica* (Bancroft, 1893) Hall, 1916, with sections from the liver. *Proc. Roy. Soc. Med.* 17: 83-84, 1924.
12. Mc QUOWN, A. L. — *Capillaria hepatica*: Report of genuine and spurious cases. *Amer. J. Trop. Med.* 30: 761-767, 1950.
13. OTTO, G. F.; BERTHRONG, M.; APPLEBY, R. E.; RAWLINS, J. C. & WILBUR, O. — Eosinophilia and hepatomegaly due to *Capillaria hepatica* infection. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* 94: 319-336, 1954.
14. PIAZZA, R.; CORREA, M. O. A. & FLEURY, R. N. — Sobre um caso de infestação humana por *Capillaria hepatica*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 5: 37-41, 1963.
15. RAYBOURNE, R. B.; SOLOMON, G. B. & SOULSBY, E. J. L. — *Capillaria hepatica*: Granuloma formation to eggs. II — Peripheral immunological responses. *Exper. Parasitol.* 36: 244-252, 1974.
16. SILVERMAN, N. H.; KATZ, J. S. & LEVIN, S. E. — *Capillaria hepatica* infestation in a child. *S. Afr. Med. J.* 47: 219-221, 1973.
17. SLAIS, J. — The finding and identification of solitaru *Capillaria hepatica* (Bancroft 1893) in man from Europe. *Folia Parasitol. (Praha)* 20: 149-161, 1973.
18. SOLOMON, G. B. & HANDLEY Jr., C. O. — *Capillaria hepatica* (Bancroft 1893) in Appalachian mammals. *J. Parasitol.* 57: 1142-1144, 1971.
19. SOLOMON, G. B.; RAYBOURNE, R. B. & SOULSBY, E. J. L. — Serological studies on rodents infected with *Capillaria hepatica*. *J. Parasitol.* 60: 732-734, 1974.
20. SOUZA, S. L. & CAMARGO, M. E. — The use of filter paper blood smears in a practical test for American Trypanosomiasis serodiagnosis. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 8: 255-258, 1966.
21. WARD, R. L. & DENT, J. H. — *Capillaria hepatica* infection in a child. *Bull. Tulane Med. Fac.* 19: 27-33, 1959.

Recebido para publicação em 28/11/1978.