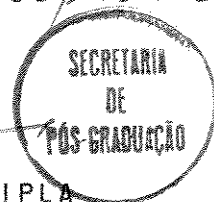


EDILIA SALVATIERRA TELLES

*Est. 2.2.0
out. 2.2.0
09/11/90*
Este exemplar corresponde a Redação final da Tese de fe-
dida pela candidata Edilia Salvatierra Telles e a aprova-
da pela comissão julgadora. 09/11/90



ASPECTOS IMUNOLÓGICOS E PARASITOLÓGICOS NA INFECÇÃO MÚLTIPLA
POR *Trypanosoma cruzi* (CEPA Y) E *Schistosoma mansoni* (CEPA BH)
EM CAMUNDONGOS (CBA x C57 BI/10) F1.

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade
Estadual de Campinas, como parte dos requisitos necessários à
obtenção do título de Mestre em Ciências na área de Imunologia.

Orientador : Prof. Dr. Marcos Garcia Costa

Departamento de Microbiologia e Imunologia

Instituto de Biologia

Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

Campinas - São Paulo

1990

BC/1100928
T238a

13164/BC

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Ao meu marido Paulo e
nossos filhos Paulo, Marcio e Luciano pelo incentivo nos
momentos de desânimo e pela infinita paciência em todos
os momentos.

AGRADECIMENTOS

- Ao orientador desse trabalho, Dr. Marcos Garcia Costa, pelo grande estímulo e apoio , além da sincera amizade e compreensão.
- Ao Prof. Dr. Luiz Cândido de Souza Dias , coorientador desse trabalho, pelo grande incentivo, pertinentes críticas e sugestões, além da grande amizade.
- Aos professores Doutores Paulo Maria Ferreira de Araújo, Irineu José Barsante de Camargo e Leonilda Maria Barbosa dos Santos pela amizade e pelas pertinentes críticas e sugestões feitas ao participarem da banca prévia.
- Aos professores Luiz Augusto Magalhães, Eliana Maria Zanotti , Marlene Ueta e Ana Maria Guaraldo minha gratidão pela valiosa colaboração e amizade.
- Aos colegas do curso de Pós Graduação pela amizade e compreensão
- A Sra. Ismália Menegon Doné, Sr. Guilherme Vieira, Sr. Manoel Bernardes da Silva e Sr. João Garcia de Andrade, técnicos do Departamento de Microbiologia e Imunologia pelos auxílios prestados durante a execução deste trabalho.
- A Célia Aparecida Almeida Chaves, técnica do laboratório, pela intensa participação na execução do trabalho além da participação nos momentos de alegrias, tristezas e angustias oferecendo-me sua leal amizade.
- A todos os funcionários e professores do Departamento de Parasitologia que de alguma forma tiveram participação nesse

trabalho.

- A equipe do Núcleo de Processamento de Dados da Universidade Federal Fluminense: Prof. Rogério Pires Gameleiro, Sra. Rosely Villanova Magalhães, Sra. Angela Schinnelpfeng Guedes, Sr. Luiz Henrique Anciães e Sra. Vera Lucia Santos, que executaram cuidadosas análises estatísticas bem como facilitaram-me o acesso aos computadores do núcleo.
- Ao Prof. Dr. Pedro Carvalho, Bio Estatístico da UFF, pela grande colaboração orientando os trabalhos estatísticos.
- A coordenação do Curso de Pós Graduação pelo apoio recebido durante o curso proporcionando-me bolsas de estudos.
- A FAPESP e à FAP- UNICAMP pela subvenção desse trabalho.

INDICE

	pág.
INTRODUÇÃO	01
MATERIAL E MÉTODOS.....	13
1- ANIMAIS UTILIZADOS.....	13
2- <i>Schistosoma mansoni</i> E SUA MANUTENÇÃO.....	13
2.1- OBTENÇÃO E CONTAGEM DE CERCÁRIAS.....	13
2.2- INFECÇÃO POR <i>S.mansoni</i>	14
3- <i>Trypanosoma cruzi</i> E SUA MANUTENÇÃO.....	14
3.1- INFECÇÃO POR <i>T.cruzi</i>	15
4- IMUNIZAÇÃO COM HEMÁCIAS DE CARNEIRO (HC).....	15
5- PARÂMETROS UTILIZADOS	
5.1- CURVA DE PARASITEMIA DE <i>T.cruzi</i>	16
5.2- MORTALIDADE.....	16
5.3- PESO DOS ANIMAIS E DE SEUS ÓRGÃOS (BAÇO E FIGADO)..	17
5.4- PERFUSÃO: RECUPERAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DOS VERMES NO SISTEMA PORTA.....	17
5.5- OOGRAMA.....	17
5.6- MICROMETRIA DE GRANULOMAS HEPÁTICOS.....	18
5.7- DETERMINAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE AO NÍVEL DE CÉLULAS B E T.....	19
5.7.1- QUANTIFICAÇÃO DO NÚMERO DE CÉLULAS FORMADORAS DE PLACAS (PFC).....	19
5.7.2- SENSIBILIZAÇÃO AO DINITROFLUOROBENZENO (DNFB)....	20

5.8- ATIVIDADE FAGOCÍTICA DE MACRÓFAGOS.....	20
5.8.1- SENSIBILIZAÇÃO DE HEMÁCIAS DE CARNEIRO.....	20
5.8.2- OBTENÇÃO DE MACRÓFAGOS PERITONEAIS.....	21
5.8.3- ENSAIO FAGOCÍTICO.....	21
6- DINÂMICA DO EXPERIMENTO.....	22
6.1- INFECÇÃO MISTA POR <i>S.mansoni</i> e <i>T.cruzi</i>	22
1- ESQUISTOSSOMOSE NA FASE AGUDA E NA FASE CRÔNICA x DOENÇA DE CHAGAS NA FASE AGUDA (<i>S.mansoni</i> precedendo o <i>T.cruzi</i>	22
11- DOENÇA DE CHAGAS NA FASE CRÔNICA x ESQUISTOSSOMOSE NA FASE AGUDA E NA FASE CRÔNICA (<i>T.cruzi</i> precedendo o <i>S.mansoni</i>	23
7- CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO.....	24
8- ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24

RESULTADOS

1- ESQUISTOSSOMOSE NA FASE AGUDA E NA FASE CRÔNICA x DOENÇA DE CHAGAS NA FASE AGUDA (<i>S.mansoni</i> precedendo o <i>T.cruzi</i>	26
1- CURVA DE PARASITEMIA.....	26
2- TAXA DE MORTALIDADE.....	27
3- PESO DOS ANIMAIS E DE SEUS ÓRGÃOS (BAÇO E FIGADO)	28
4- CARGA DE VERMES.....	31
5- ODOGRAMA.....	32
6- DIÂMETRO DOS GRANULOMAS HEPÁTICOS.....	33
7- DETERMINAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE AO NÍVEL DE CÉLULAS B E T.....	34

7.1- QUANTIFICAÇÃO DO NÚMERO DE CÉLULAS FORMADORAS DE PLACAS (CFP).....	34
7.2- SENSIBILIDADE AO DINITROFLUOROBENZENO (DNFB).....	35
8- ATIVIDADE FAGOCITÁRIA DE MACRÓFAGOS.....	35
11- DOENÇA DE CHAGAS NA FASE CRÔNICA x ESQUISTOSSOMOSE NA FASE AGUDA E NA FASE CRÔNICA (<i>T.cruzi</i> precedendo o <i>S.mansoni</i>).....	37
1- CURVA DE PARASITEMIA.....	37
2- TAXA DE MORTALIDADE.....	37
3- PESO DOS ANIMAIS E DE SEUS ÓRGÃOS (BAÇO E FIGADO).....	38
4- CARGA DE VERMES.....	39
5- OOGRAMA.....	40
6- DIÂMETRO DOS GRANULOMAS HEPÁTICOS.....	41
7- DETERMINAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE AO NÍVEL DE CÉLULAS B E T.....	41
7.1- QUANTIFICAÇÃO DO NÚMERO DE CÉLULAS FORMADORAS DE PLACAS (CFP).....	41
7.2- SENSIBILIZAÇÃO AO DINITROFLUOROBENZENO (DNFB).....	42
8- ATIVIDADE FAGOCITÁRIA DE MACRÓFAGOS.....	42
GRÁFICOS.....	44
TABELAS.....	55
DISCUSSÃO.....	69
RESUMOS E CONCLUSÕES.....	95
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	99

INTRODUÇÃO

A Tripanosomíase Americana é causada pelo *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi*, sendo mais conhecida como doença de Chagas (CHAGAS, 1909). É uma doença predominantemente de área rural, onde ocorre a transmissão natural pelas fezes do inseto triatomíneo família Reduviidae, muito embora, existam casos de transmissão por transfusão de sangue e casos congênitos. Devido a migração de pessoas infectadas, da área rural para a área urbana, a doença de Chagas já se tornou um problema urbano (BRENER, 1980). Chega a atingir milhões de pessoas na América do Sul e Central constituindo-se num dos graves problemas de saúde pública, devido a grande distribuição geográfica e alta taxa de mortalidade. Cerca de 20 a 30% das pessoas desenvolvem a forma cardíaca, muito embora, muitos pacientes passam 10 a 20 anos sem apresentar qualquer sintoma da doença, daí uma das grandes dificuldades de se estabelecer medidas de controle da doença (WHO, 1977).

A doença de Chagas tem um período de incubação que dura de uma a três semanas. Ocorre nesse período a proliferação intracelular de amastigotas e a liberação de tripomastigotas para a circulação sanguínea. Segue depois uma fase aguda, caracterizada por uma parasitemia patente, com a duração de, aproximadamente, dois meses. Após esta fase, há uma acentuada diminuição dos

parasitas na circulação, (PRATA, 1968 ; WHO, 1979) ocorrendo em seguida uma fase que pode ser assintomática pela falta de manifestações clínicas e baixa parasitemia. Contudo, testes sorológicos demonstraram a presença de anticorpos anti *T.cruzi* (MACEDO, 1980). Finalmente, a fase crônica que pode levar até 20 anos para se manifestar e caracteriza-se por dificuldades de detecção dos parasitas na circulação. Os indivíduos apresentam uma miocardite progressiva, podendo ou não apresentar problemas digestivos como dilatação do esôfago, cólon e etc (KOBERLE, 1968; WHO, 1974).

Estudos experimentais com *T.cruzi* em vários hospedeiros demonstraram variações intra específicas tais como: diferenças morfológicas das formas sanguíneas, virulência, habilidade para induzir lesões, susceptibilidade a agentes quimioterápicos, constituição antigênica e infectividade a células do hospedeiro (BRENER, 1982).

O *Schistosoma mansoni* (SAMBON 1907), é um parasita que depende de dois hospedeiros, um hospedeiro intermediário invertebrado, (molusco planorbídeo de água doce) e um definitivo, vertebrado (geralmente o homem, roedores e marsupiais) para completar seu ciclo de vida.

A esquistossomose mansônica é uma doença comum nas Américas Central e do Sul e no continente africano, afetando cerca de 200 milhões de pessoas e é considerada uma das mais importantes doenças infecciosas do homem (ATALLAH, 1987). A

introdução no país se deu a partir de meados do século XVI, com o ingresso de populações africanas, que em regime de escravidão ocupavam-se com a cultura da cana na região nordeste (SILVEIRA, 1989).

O planorbídeo da espécie *Biomphalaria glabrata* é a espécie vetora mais comum do *S.mansoni* nas Américas. No Brasil, esse molusco é encontrado com abundância, principalmente na Bahia, Espírito Santo e Minas Gerais, estendendo-se em todas as direções principalmente ao longo da faixa costeira e áreas interiores contíguas de Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte. Também já foram encontrados no Pará, Maranhão, Goiás, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná (PARAENSE, 1986).

Na relação *S.mansoni* e hospedeiro vertebrado, as cercárias do trematódeo são capazes de penetrar pelo tegumento de várias espécies de animais vertebrados que frequentam locais favoráveis a infecção (água); mas, poucas são as cercárias que conseguem um pleno desenvolvimento; morrem antes de chegar a vermes adultos (ZANOTTI, 1987).

Na maioria dos experimentos com *S.mansoni*, escolhe-se o camundongo porque, comprovadamente, é grande a taxa de cercárias penetrantes que chegam até o estágio adulto, com a oviposição começando dentro de 7 a 9 semanas (SMITHERS & DOENHOFF, 1982). Este quadro patológico é semelhante ao apresentado pelo homem quando portador da doença (ZANOTTI, 1987).

Nos países do 3º mundo é muito comum a ocorrência de parasitoses múltiplas num mesmo hospedeiro, podendo resultar numa série de interações no organismo, dificultando assim o diagnóstico clínico laboratorial, pois é grande a incidência de reações cruzadas em testes sorológicos (CORREA-OLIVEIRA et alii, 1988).

Na relação natural entre o parasita e o hospedeiro, parece não ser vantagem para o parasita causar uma imunossupressão severa, pois tanto a vida do hospedeiro, quanto a sua, poderiam ser ameaçadas por infecções recorrentes, principalmente se o organismo já está desnutrido (MITCHELL, 1979). Por outro lado, algumas alterações podem ocorrer no parasita quando instalado em hospedeiros imunizados : redução na taxa de crescimento e reprodução, mudança no comportamento migratório, localização nos tecidos, constituição antigênica e morfológica (MITCHELL, 1979).

Vários autores trabalhando com diversas linhagens de camundongos como modelos experimentais, verificaram que existem variações na susceptibilidade às infecções naturais por parasitas tais como: *Leishmania tropica* (HANDMAN et al, 1979; PRESTON & DUMOND, 1976a) e *Trypanosoma congolense* (MORRISON et al, 1978) , onde a capacidade de sobrevivência de algumas linhagens em comparação à outras, está na habilidade de limitar o número de parasitas na circulação, refletindo a natureza ou qualidade da resposta imune efetuada.

Resultados semelhantes foram obtidos em trabalhos com *Trypanosoma cruzi* (CUNNINGHAM et al, 1978; TRISCHMAN et al, 1978) e *Schistosoma mansoni* (STIREWALT et al, 1965; SHER et al, 1977).

SACKS & ASKONAS (1980), observaram que a diminuição da resposta imune primária (IgM), induzida por diferentes cepas de tripanosoma, pode ser relacionada com o nível de virulência do parasita à uma determinada linhagem de camundongo, visto que o completo bloqueio da resposta de IgM, coincidiu com uma parasitemia exorbitante, a qual resultou na morte do hospedeiro.

Além de fatores genéticos, também foram observados outros fatores que poderiam influenciar na resistência às infecções. HAUSCHKA (1947), CORSINI et alii (1980b) observaram que os sintomas da doença de Chagas parecem ser mais severos em camundongos machos de várias linhagens; assim como a idade, que segundo alguns autores parece exercer influência no sistema imune (MAKINODAN & KAY, 1980; GILMAN et alii, 1982; ROSENBERG et al, 1983), muito embora existam controvérsias sobre o assunto (STUTMAN, 1974; GOTTESMAN et alii, 1988; ALBRIGHT et alii, 1988).

Alguns agentes patogênicos, principalmente intracelulares, podem através de mecanismos imunes específicos conferir resistência a outros. Um significativo grau de resistência a reinfeção por *S. mansoni*, foi demonstrado em camundongos com oito semanas de uma infecção primária bissexual e depois desafiados. Essa resistência porém só foi efetiva, após a infecção primária se tornar patente, (DOENHOFF et alii, 1978), o que não ocorreu

quando a infecção por *S.mansoni* era unissexual (BICKLE, Mc GREGOR & DOENHOFF, 1979; LWIM et al, 1982), sugerindo alguma influência dos ovos no processo de resistência.

Macrófagos ativados produzem um Fator de Necrose Tumoral (TFN), que é uma citocina que mata seletivamente células tumorais sem afetar as células normais. Esse fator também é capaz de inativar algumas espécies de parasitas (causador de malária) e de conferir proteção ao camundongo contra *Klebsiella pneumoniae* e *Listeria monocitogenes* (HOFFMAN et alii, 1978; HAIDARIS et alii, 1983; CLARCK et alii, 1981).

Também a imunização com fração flagelar (F) de epimastigota de *T.cruzi*, tem mostrado certa proteção contra desafio em que são utilizados tripomastigotas sangüíneas do parasita, tanto em termos de mortalidade, como na parasitemia (ROTTENBERG et alii, 1988).

CHRISTENSEN et alii (1978), estudando a reação entre *S.mansoni* e *Fasciola hepática* em camundongos, verificaram que uma infecção primária por *S.mansoni* (cerca de 28 dias) não confere um nível significativo de resistência ao desafio com a *F.hepática*, o que só é detectado quando a infecção atinge cerca de 65 dias, com a redução da carga de vermes, enquanto que o desafio com *fasciola* não interfere no número de *S.mansoni* na infecção primária. O mesmo ocorre quando a infecção primária é por *F.hepática*, conferindo proteção ao *S.mansoni* somente após 28 dias de infecção e reduzindo também o número de vermes de *S.mansoni*.

LONG et alii (1981), trabalhando com *Plasmodium chabaudi*, verificaram que os camundongos infectados apresentaram uma relativa falta de sensibilidade à hemácias de carneiro (HC), em termos de título de anticorpos (AC) no soro, não afetando no entanto o grau de resistência a uma posterior reinfeção por *S.mansoni*, mesmo que a infecção primária ou desafio por *S.mansoni*, tenham sido realizados no dia do pico de parasitemia do plasmódio.

A infecção patente bissexual de *S.mansoni* em camundongos fêmeas CBA/Ca conferiu certa resistência à uma posterior infecção por *P.chabaudi*, o que não ocorreu quando a infecção por *S.mansoni* é pré-patente ou unissexual (LWIM et alii, 1982).

A literatura mostra que bactérias também interagem de modo diferente com *S.mansoni*. ROCHA et alii (1971) comentam que na infecção mista por *Salmonella typhimurium* e *S.mansoni* em camundongos, os animais esquistossomóticos não foram capazes de destruir bactérias fagocitadas. A infecção se tornou severa, pela rápida multiplicação das bactérias no animal suprimido pelo trematódeo. Já em 1980, esses mesmos autores mostraram que a *Escherichia coli* confere proteção contra *S.mansoni* em camundongos, verificando uma redução na taxa de recuperação dos vermes e modificação do padrão de oviposição, sugerindo completa inibição do processo.

Na relação parasito-hospedeiro que se estabelece na tripanosomíase, várias são as alterações causadas pelo parasita

no sistema imune do hospedeiro quanto ao nível humoral, (BRENER, 1980; CLINTON et alii, 1975; MURRAY et alii, 1974 b; MALECKAR & KIERSZENBAUM, 1983), que são considerados como mecanismos de escape do parasita (BRENER, 1980). Uma dessas alterações é a ativação policlinal do linfócitos B, detectada na tripanosomíase americana (ORTIZ_ORTIZ et alii, 1980; CORSINI & COSTA, 1980a).

Vários autores trabalhando com *T.cruzi*, têm confirmado uma diminuição da resposta imune humoral a antígenos timo-dependentes como hemácias de carneiro (HC), gamaglobulina humana (GGH) e albumina de ovo, (CLINTON et alii, 1975; SCHMUNIS et alii, 1977; RAMOS et alii, 1978; CORSINI et alii, 1980a), e a antígenos timo-independentes como LPS e DNP-Ficolil, (RAMOS et alii, 1979; KIERSZENBAUM et alii, 1980), muito embora, na maioria dos experimentos tenha sido usado grandes inóculos.

CORSINI et alii (1980a), no entanto, trabalhando com camundongos híbridos (CBA x C57 Bl/10)F1, demonstraram serem esses animais resistentes a infecção com 100 formas de *T.cruzi* cepa Y, assim como também, demonstraram diminuição da resposta imune humoral a hemácias de carneiro (HC) tanto na fase aguda como na fase crônica da doença.

CUNNINGHAM & KUHN (1980), utilizando soro de animais infectados por *T.cruzi*, suprimiram a indução da resposta humoral, quando adicionaram o soro total ou fração do soro em cultura de células esplênicas normais ou de linfonodo. Nesse material, existem substâncias supressoras que juntamente com células

supressoras tomam parte no processo de supressão na doença de Chagas experimental (LIEW et alii, 1988; GAO et alii, 1988).

WELHAUSEN & MANSFIELD (1979), comentaram a ocorrência de supressão inespecífica da resposta imune humoral em camundongos infectados por *Trypanosoma rhodesiense* pela ação de macrófagos supressores. Segundo TARLETON & KUHN (1985), na infecção por *T.cruzi*, a resposta parasito-específica de células esplênicas de camundongos infectados, pode ser potenciada pela depleção de macrófagos que são células efetoras de imunossupressão inespecífica. SUZUKI et alii (1987), estudando a resposta imune em camundongos infectados por toxoplasma, verificaram estar suprimida a capacidade desses animais a produzirem anticorpos a uma grande variedade de antígenos, pela ação de macrófagos supressores, que atuam sobre a resposta linfoproliferativa.

A supressão da resposta imune mediada por células, em especial a hipersensibilidade retardada, também tem sido muito discutida nas infecções experimentais por *T.cruzi*. REED et alii (1977) descreveram a diminuição da resposta imune a oxazolona e Adjuvante Completo de Freund (ACF) em camundongos Swiss infectados pela cepa Tulahuem de *T.cruzi*.

ROULAND & KUHN (1978), utilizando PPD e extrato de epimastigota de *T.cruzi*, também observaram uma resposta do tipo retardado completamente inibida. Enquanto que CORSINI et alii (1980a, 1980b), trabalhando com linhagens de camundongos susceptíveis (C3H/J) e resistentes (CBA x C57 Bl/10)F1, a

pequenos inóculos, (100 formas) de *T.cruzi*, cepa Y, verificaram que embora constatassem supressão da resposta humoral a hemácias de carneiro, a resposta mediada por células do tipo retardada ao DNFB estava normal.

Dados mais recentes de LIEW et alii (1988), comprovam a existência de substâncias supressoras no sobrenadante de cultura de células T esplênicas de camundongos CBA, cronicamente infectados por *T.cruzi*. Essa substância inibe a indução de hipersensibilidade do tipo retardado a um grande número de antígenos.

Pudemos observar que , infecções múltiplas por parasitas tem sido amplamente estudadas, (ROCHA et alii, 1971, 1980; STRICKLAND et alii, 1972; KNIGHT, 1973; MAHMOUD et alii, 1977; CHRISTENSEN et alii, 1978; LONG et alii, 1981; MOLONEY et alii, 1982; CHEEVER et alii, 1985). No entanto, poucos foram aqueles que realizaram experimentos com *S.mansoni* e *T.cruzi*.

KLOETZEL et alii (1971, 1973), variando o intervalo da infecção entre *S.mansoni* e *T.cruzi* e utilizando camundongos albinos, verificaram acentuado aumento da parasitemia de *T.cruzi* nessa infecção mista. Por outro lado, quando a infecção por *S.mansoni* ocorria após a infecção por *T.cruzi*, havia uma redução do número de vermes em relação aos controles e um retardamento no desenvolvimento desses vermes.

Mais recentemente, GENARO (1982), estudando a infecção concomitante em camundongos Swiss, fez várias observações da

infecção esquistossomótica na fase aguda e crônica sobre a infecção do *T.cruzi* e vice-versa, da infecção do *T.cruzi* na fase aguda e crônica sobre a infecção aguda e crônica do *S.mansoni*.

Observou esse autor:

a)- ocorrência de depressão da resposta celular do tipo hipersensibilidade retardada independente de estar na fase aguda ou crônica da infecção pelo *T.cruzi*.

b)- exacerbação da parasitemia de infecções agudas pelo *T.cruzi* na fase crônica da esquistossomose, não havendo porém nenhuma alteração, quando a infecção pelo, protozoário também encontra-se na fase crônica.

c)- aumento da taxa de mortalidade nessas infecções duplas.

No entanto, esse autor utilizou a cepa Y de *T.cruzi* para suas verificações na fase aguda e as cepas CL e Colombiana para a fase crônica da doença de Chagas; utilizou também outros inóculos tanto do *T.cruzi* quanto do *S.mansoni*, além dos camundongos, que eram albinos.

Tendo em vista que esses camundongos isogênicos (CBA x C57 Bl/10)F1, são resistentes a 100 formas de *T.cruzi* cepa Y e susceptíveis a infecção com baixo inóculo de *S.mansoni*, propusemo-nos a estudar a infecção mista nesses animais com os seguintes objetivos:

- evolução da parasitemia por *T.cruzi*;
- taxa de mortalidade dos animais infectados;
- peso de órgãos;

- número e distribuição dos vermes no sistema porta;
- oograma;
- tamanho dos granulomas hepáticos;
- atividade fagocitária de macrófagos;
- supressão da resposta imune ao nível de células B e T;
- relação entre imunossupressão e aumento parasitêmico na infecção mista e nas infecções isoladas por *S.mansoni* e *T.cruzi*.

MATERIAL E MÉTODOS

1- ANIMAIS UTILIZADOS

Em cada experimento foram utilizados em média 58 camundongos (CBA x C57 Bl/10)F1, machos e fêmeas com 10 a 12 semanas de idade, criados no Biotério da Universidade Estadual de Campinas e mantidos em condições adequadas no Departamento de Microbiologia e Imunologia da mesma instituição

2- *Schistosoma mansoni* E SUA MANUTENÇÃO

A cepa BH de *Schistosoma mansoni*, isolada em 1967 de paciente infectado, (Belo Horizonte, MG) é mantida continuamente no laboratório do Departamento de Parasitologia (UNICAMP), através de passagens sucessivas em moluscos albinos simpátricos da espécie *Biomphalaria glabrata* (DIAS et alii, 1988) e camundongos albinos Swiss, (PELLEGRINO & KATZ, 1968). Utilizou-se cerca de 300 moluscos os quais foram infectados individualmente com 10 miracídios. Após 40 dias de infecção os moluscos foram expostos à luz e calor para obtenção de cercárias (SALES, 1970).

2.1- Obtenção e contagem de cercárias

Para emergência das cercárias, grupos de 50 caramujos sabidamente infectados por *S.mansoni* foram colocados individualmente em pequenos frascos contendo água de clorada e expostos à luz artificial e à temperatura de 28° C por quatro

horas (PELLEGRINO & MACEDO, 1955).

Após a mistura das cercárias, fez-se contagem por meio de pipeta Pasteur sob luz estereoscópica. As larvas foram colocadas em tubos de ensaio, de modo que em cada tubo contivesse apenas 15 cercárias, em seguida, completou-se com água decolorada até a borda.

2.2- Infecção dos Camundongos

Os camundongos (CBA x C57 Bl/10)F1 foram expostos individualmente pelo método de imersão de cauda a 15 cercárias, durante duas horas, sob luz e calor de lâmpada elétrica de 60 watts (OLIVIER & STIREWALT, 1952).

3- *Trypanosoma cruzi* E SUA MANUTENÇÃO

A cepa Y do *T. cruzi* isolada de caso humano por SILVA & NUSSEUSWEIG, (1953) foi cedida pelo Dr. ZIGMAN BRENER (Belo Horizonte) e está sendo mantida no laboratório de Imunologia Celular do Departamento de Microbiologia e Imunologia da UNICAMP, por passagens semanais de 10^5 formas de tripomastigotas em camundongos Swiss 55. Os animais são sangrados através do plexo braquial no dia do pico parasitêmico (7º dia após infecção) e o sangue coletado em solução estéril de citrato de sódio 3,8% é mantido em banho de gelo.

Após contagem dos parasitas circulante (BRENER, 1968) a solução é diluída em Solução Salina Fosfatada (PBS), obtendo-se o

inóculo desejado e novos lotes de animais são inoculados por via intraperitoneal (i.p.).

3.1- INFECÇÃO POR *T.cruzi*

Camundongos (CBA x C57 Bl/10)F1, foram infectados por via i.p. com 100 formas obtidas no pico parasitêmico, de camundongos Swiss 55 infectados com 10^5 parasitas. Após sangria dos animais pelo plexo braquial, o sangue foi coletado em citrato de sódio 3,8% e a mistura mantida em banho de gelo. Os parasitas foram contados em câmara de Neubauer e as diluições finais foram realizadas em PBS.

4- IMUNIZAÇÃO COM HEMÁCIAS DE CARNEIRO (HC)

As hemácias de carneiro foram obtidas através de punção da veia jugular e coletadas em condições estéreis sobre o mesmo volume de Solução de Alsever. As hemácias foram guardadas em refrigerador a 4°C por um período não superior a 15 dias.

No momento do uso, as hemácias foram lavadas três vezes em tampão fosfato pH 7,2 e 2×10^8 células foram inoculadas no plexo orbital (i.v.) dos animais experimentais num volume de 0,2ml.

5- PARÂMETROS UTILIZADOS

5.1- Curva de Parasitemia de *T.cruzi*

A contagem do número de parasitas no sangue periférico foi feita segundo o método de BRENER (1968). Os camundongos foram sangrados através de pequeno corte na extremidade da cauda e após desprezar-se a primeira gota, o sangue foi coletado em pipeta de hemoglobina calibrada para coletar 5mm^3 . O sangue, coletado foi colocado em lâmina de microscópio e coberta por lamínula 22 x 22mm, de tal modo a se obter uma distribuição homogênea.

A preparação foi examinada em microscópio binocular, com lente ocular 12,5x e lentes objetivas 40x, contando-se os parasitas em 100 diferentes campos microscópicos. Os camundongos foram marcados na pata trazeira de maneira que a parasitemia pudesse ser seguida diariamente em cada um dos animais (CORSINI et alii, 1980a).

A evolução da parasitemia foi acompanhada diariamente a partir do 7º dia até o 17º dia, após a infecção.

5.2- Mortalidade

A mortalidade dos animais foi acompanhada diariamente durante todo o desenrolar dos experimentos, sendo esta expressa em porcentagem cumulativa.

5.3- Peso dos Animais e de seus Órgãos (baço e fígado)

Os camundongos foram pesados individualmente no início e término de cada experimento, com o objetivo de verificar se houve ganho ou perda de peso corporal durante as infecções.

No término de cada experimento, todos os animais tiveram o baço e o fígado pesados e sua média expressa em gramas (g).

5.4- PERFUSÃO : Recuperação e Distribuição dos Vermes no Sistema Porta

Os camundongos infectados por *S.mansoni* e *T.cruzi* e os infectados só por *S.mansoni*, foram sacrificados por deslocamento da coluna cervical e submetidos à perfusão com solução salina gelada para contagem dos vermes vivos e mortos existentes no sistema porta hepático e nas veias mesentéricas (YOLLES, MOORE & MELENEY, 1947). O fígado após ser pesado e retirado um pedaço para exame histológico, foi esmagado entre duas placas de vidro para retirada de eventuais vermes restantes.

5.5- Oograma

Os animais com infecção mista e os infectados somente pelo verme, após serem sacrificados e perfundidos, tiveram seu intestino delgado retirado e deste separado um pedaço com o qual foram montadas lâminas, cobertas com lamínulas de plástico transparente e contados 300 ovos por animal, verificando aí seus

estágios evolutivos (PELEGRINO et alii, 1962)

5.6- Micrometria de Granulomas Hepáticos

Fragmentos do fígado de camundongos infectados apenas por *S.mansoni* e daqueles com infecção mista, foram fixados em solução aquosa de Bouin; em seguida foram incluídos em parafina, cortados com 7 m μ de espessura e corados pela técnica de hematoxilina - eosina (HE).

O tamanho de cada granuloma foi determinado através da média de dois diâmetros intercruzados em ângulo reto (GENARO, 1982). Foram medidos somente granulomas que possuíam em seu centro o ovo de *S.mansoni*; desta forma tinha-se certeza de que o corte passava próximo ao seu centro. Foram preparadas cinco lâminas para cada camundongo, cada uma com quatro a oito cortes histológicos. Para se evitar a repetição da medida de um mesmo granuloma, eliminamos as próximas 500m μ do tecido incluído na parafina após a primeira sequência de cortes, para então realizar novos cortes.

Foram medidos 25 granulomas por grupo, contendo cada grupo uma média de 5 animais. As medidas foram feitas com o auxílio de uma ocular micrométrica Zeiss.

5.7- DETERMINAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE AO NÍVEL DE CÉLULAS B e T

5.7.1- Quantificação do Número de Células Formadoras De Placas (CFP)

A quantificação do número de células formadoras de placas foi feita utilizando-se a técnica de JERNE (1974), modificada por DRESSER (1978), no 4º dia após imunização com hemácias de carneiro. Experimentos preliminares mostraram ser no 4º dia o pico da resposta.

Os animais infectados por *T.cruzi* e *S.mansoni* e imunizados com hemácias de carneiro foram sacrificados por deslocamento cervical e os baços recolhidos em Meio Mínimo Essencial (MME), contendo 1% de soro fetal bovino (SFB). A suspensão celular foi obtida com macerador, sendo as células lavadas com o mesmo meio três vezes e após a última lavagem, ressuspensa em 1 ml do meio.

O número total de células foi obtido em câmara de Neubauer com a suspensão celular diluída em ácido acético 1%. As células inviáveis foram determinadas pela diluição em solução de Azul de Trypan, preparada de acordo com CORSINI & COSTA (1981) :- 1 ml de Azul de Trypan (2mg/ml), 0,25 ml de NaCl e 1 ml de Tampão Fosfato pH 7,2.

5.7.2- Sensibilização ao Dinitrofluorobenzeno (DNFB)

A sensibilização ao DNFB (British Drug Houses Chemicals, Poole, Dorset), foi realizada de acordo com a descrição de VADAS et alii (1975). Animais depilados no abdomen receberam 50 μ l de DNFB 10 mg/ml diluído em acetona-óleo de oliva (1:1). Após cinco dias receberam como dose desencadeante 5 μ l da mesma solução na orelha esquerda.

Vinte e quatro horas após receberem a dose desencadeante os animais foram mortos por deslocamento da coluna cervical e as orelhas cortadas na base. A avaliação da reação foi feita pela relação entre o peso das orelhas que receberam a dose desencadeante e o peso das orelhas que não receberam esta dose (CORSINI et alii, 1979).

5.8- ATIVIDADE FAGOCÍTICA DE MACRÓFAGOS

5.8.1- Sensibilização de Hemácias de Carneiro

No momento do uso as hemácias foram lavadas duas vezes em solução de Hank (10 minutos - 300 g). A suspensão de células a 5% foi sensibilizada volume a volume com hemolisina (prèviamente diluída de acordo com seu título subaglutinante), após o que foi incubada em banho-maria a 37 $^{\circ}$ C, 30 minutos com agitação a cada 10 minutos. Fez-se três lavagens em solução de Hank e após a última lavagem obteve-se uma suspensão (0,5%) de hemácias sensibilizadas.

5.8.2- Obtenção de Macrófagos Peritoneais

Camundongos dos grupos experimentais e controles, sacrificados por deslocamento da coluna cervical foram inoculados no abdomen com 5 ml de salina fosfatada (PBS) a 4°C. Após dois minutos de vigorosa massagem abdominal, as células fagocíticas foram coletadas em tubos plásticos mantidos em gelo. O material após centrifugação (10 minutos - 300 g), foi ressuspenso em 1 ml de tampão fosfato pH 7,2 e o número total de células foi determinado em câmara de Neubauer.

As células foram diluídas em Meio Mínimo Essencial (MME), contendo 2% de soro fetal bovino (SFB) de tal modo a obtermos uma concentração final de 1×10^6 céls/ml.

5.8.3- Ensaio Fagocítico

Foi colocado 1 ml da suspensão de células 1×10^6 céls/ml em lamínulas 18 x 18 mm adaptadas em placas de acrílico (25 poços) e incubadas à 37°C em câmara úmida por 50 minutos, para aderência das células às lamínulas. Após a incubação procedeu-se a lavagem cinco vezes em solução de Hank a 37°C, através de agitação vigorosa para remoção das células não aderentes. Foi adicionado 1 ml de hemácias sensibilizadas e novamente incubado nas mesmas condições anteriores. Procedeu-se novamente a lavagem para remoção das partículas não fagocitadas.

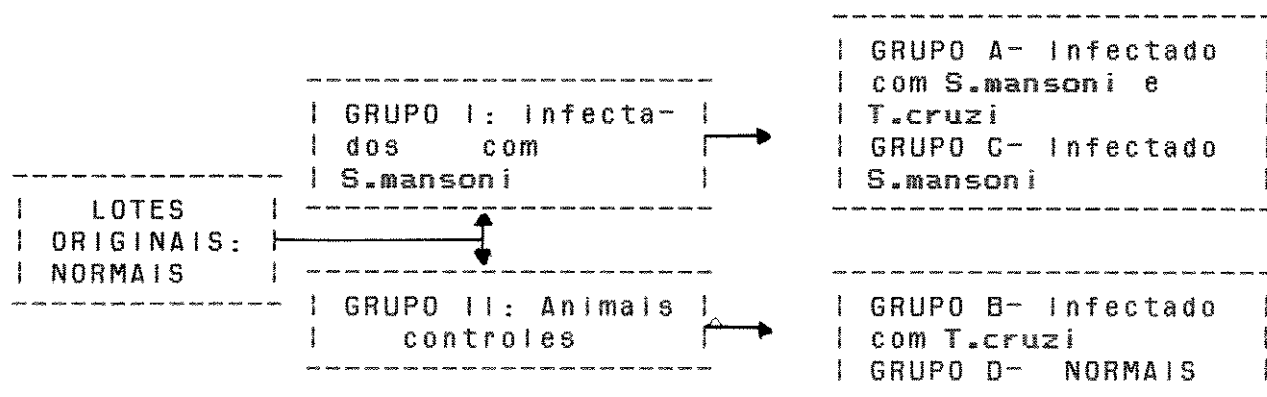
A seguir, procedeu-se a coloração utilizando-se a técnica de hematoxilina-eosina (HE). Após montagem em bálsamo do Canadá, foram contadas 300 células por lâmina, utilizando-se uma média de cinco animais por grupo.

6- DINÂMICA DO EXPERIMENTO

6.1- Infecção mista por *S.mansoni* e por *T.cruzi*

1- Esquistossomose na Fase Aguda e na Fase Crônica x Doença de Chagas na Fase Aguda (*S.mansoni* precedendo *T.cruzi*)

Camundongos originários de um mesmo lote, foram divididos em dois grupos. Um grupo foi infectado com *S.mansoni* (Grupo I) e o outro deixado como controle (Grupo II). A partir destes dois grupos foram constituídos quatro grupos como descritos a seguir:



Em intervalos previamente determinados após a infecção por 15 carcárias de *S.mansoni*, (0, 45, 80, 95, 106, 116, 180 e 230) os camundongos do Grupo A, receberam por via i.p. 100 formas

de tripomastigotas sanguíneos, o mesmo ocorrendo com o Grupo B, que até então estava normal (Grupo II). O acompanhamento da curva parasitêmica pelo *T.cruzi* foi iniciado a partir do 7º dia após infecção por um período não superior as 17 dias, após o que os animais sobreviventes foram sacrificados para a observação de alguns parâmetros anteriormente citados. (Experimentos I, II, III, IV, V, VI, VII e VIII).

II- Doença de Chagas na Fase Crônica x Esquistossomose na Fase Aguda e Crônica (*T.cruzi* precedendo *S.mansoni*)

Como no ítem I, camundongos originários de um mesmo lote foram divididos em dois lotes. Um lote foi infectado com 100 formas de *T.cruzi* (Grupo I) e o outro deixado como controle (Grupo II). A partir desses dois grupos foram constituídos os quatro grupos já descritos anteriormente. Em intervalos de 68 e 180 dias após infecção por *T.cruzi* (Experimentos IX e X respectivamente) os animais dos grupos A e C foram infectados por *S.mansoni*.

Sete dias antes da infecção por *S.mansoni*, nos Grupos A e B, foi realizada pesquisa parasitológica de *T.cruzi* no sangue. Após infecção pelo trematódeo, a parasitemia nos Grupos A e B dos experimentos IX e X foi observada durante 60 e 120 dias respectivamente.

7- CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

INFECÇÃO INICIAL	INTERVALO ENTRE INFEC. (DIAS)	SEGUNDA INFEC.	EXPERIMENTO
S.mansoni	0	T.cruzi	I
S.mansoni	45	T.cruzi	II
S.mansoni	80	T.cruzi	III
S.mansoni	95	T.cruzi	IV
S.mansoni	106	T.cruzi	V
S.mansoni	116	T.cruzi	VI
S.mansoni	180	T.cruzi	VII
S.mansoni	230	T.cruzi	VIII
T.cruzi	68	S.mansoni	IX
T.cruzi	180	S.mansoni	X

Todas as infecções foram feitas em duplicata para que todos os parâmetros pudessem ser analisados.

8- ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise da parasitemia foi utilizada a média geométrica e desvio padrão; os gráficos estão em escala semi-logarítmica. A mortalidade dos animais dos Grupos A e B em todos os experimentos está apresentada em números absolutos diários durante o período em que foi acompanhada a parasitemia. Para o cálculo da mortalidade total foi considerado o número de animais

no início e no término do experimento em cada grupo e aplicado o teste não paramétrico de Friedman.

O oograma teve seus resultados avaliados através do teste Qui-quadrado (χ^2)

Para análise da recuperação de vermes e tamanho de granulomas, foi utilizado o teste "t" de STUDENT.

Para o peso corporal, peso do fígado, do baço, da orelha e fagocitose, comparou-se os quatro grupos estabelecidos através da Análise de Variância (F). Nos experimentos em que F' calculado $> F$ tabelado ao nível de no mínimo 5% de significância, foi realizado uma comparação entre as médias de cada grupo, através do teste de Tukey estabelecendo-se a Diferença Mínima Significativa (dms), com o intuito de localizar entre quais grupos a diferença era significante.

Os dados foram processados na Secção de Assistência ao Ensino e Pesquisa do Núcleo de Processamento de Dados (NPD) da Universidade Federal Fluminense- UFF- NITERÓI.- RJ.

RESULTADOS

1- Esquistossomose na Fase Aguda e Crônica x Doença de Chagas na Fase Aguda (S.mansoni precedendo T.cruzi)

1- CURVA DE PARASITEMIA

Os animais infectados por S.mansoni receberam T.cruzi (cepa Y) em intervalos de tempos variados conforme mostrado no cronograma de execução (Item 7). A detecção de parasitas na circulação iniciou-se a partir do 7º dia após a inoculação do T.cruzi, tanto nos grupos controles, quanto nos grupos com infecção mista.

O pico parasitêmico no grupo de animais com infecção mista situou-se entre o 9º e o 10º dia de infecção, enquanto que no grupo controle com exceção do experimento II, o pico parasitêmico situou-se entre o 10º e o 11º dia de infecção (Figs 1a, 2a, 3a, 4a, 5a, 6a, 7a, 8a)

As curvas de parasitemia pelo T.cruzi têm perfis muito semelhantes tanto nos grupos com infecção mista, quanto nos animais controles. Note-se, no entanto, um ligeiro aumento no número de parasitas circulantes por mm^3 nos animais com infecção só pelo T.cruzi (Grupo B). Contudo, esse aumento parasitêmico só foi significativo nos experimentos I, II e IV (Figs. 1a, 2a e 4a) quando comparados aos demais (figs. 3a, 5a, 6a, 7a e 8a).

Durante a fase crônica da esquistossomose que se inicia em torno de 105 dias após infecção inicial, foi possível detectar uma flutuação quanto ao número de parasitas circulantes tanto no grupo experimental (A), quanto no controle (B), porém não houve diferença significativa entre eles. (Figs. 6a, 7a e 8a).

2- TAXA DE MORTALIDADE

As taxas de mortalidades de cada experimento estão representadas nas figuras 1b, 2b, 3b, 4b, 5b, 6b, 7b e 8b e resumidas na Tabela 1.

Em todos os experimentos realizados, cujos intervalos entre as infecções variaram de 0 a 230 dias, houve diferença nas taxas de mortalidade entre os grupos, variando de 0 a 100%. Mas, de um modo geral, essa taxa um tanto elevada, foi significativa ao nível de 1% nos grupos com infecção mista (A) e nos grupos B (só *T.cruzi*) em relação aos normais (Grupo D).

Destaca-se a mortalidade de 100% nos animais do Grupo B dos Experimentos II e VIII; por outro lado as taxas de mortalidade nesses experimentos, nos Grupos A e C, foram inferiores a 73,3%.

A mortalidade observada na fase aguda da infecção por *T.cruzi* (do 7º ao 17º dia), ocorreu geralmente após o pico parasitêmico, que está entre o 10º e 11º dia de infecção para o grupo B (somente *T.cruzi*) e entre o 9º e 10º dia para o Grupo A (infecção mista). Uma exceção ocorreu no Grupo B do Experimento

II, cujo pico parasitêmico antecipou para o 8º dia e houve 100 % de mortalidade até o 16º dia de infecção (Figs. 1ab, 2ab, 3ab, 4ab, 5ab, 6ab, 7ab, 8ab).

No Grupo C dos Experimentos de I a VIII, cujos animais foram infectados apenas por *S.mansoni*, as mortes foram registradas a partir do 50º dia de infecção, havendo um aumento substancial entre o 80º e 110º dia de infecção.

A mortalidade observada no Grupo D (normais) dos Experimentos V, VI e X, deveu-se a outros fatores alheios ao experimento (Tabela 1).

3- PESO DOS ANIMAIS E DE SEUS ÓRGÃOS

3.1- PESO CORPORAL MÉDIO FINAL

Na Figura 9, Tabelas 2 e 3, está representado o peso corporal de camundongos com infecção mista por *S.mansoni* e *T.cruzi* em diferentes intervalos de tempo entre as infecções e seus respectivos controles.

Observa-se que, durante a fase aguda e crônica da esquistossomose, a diferença no peso corporal médio final entre os quatro grupos estudados foi estatisticamente significativa em quase todos os experimentos; exceto nos Experimentos I, II e VII.

No Grupo B dos Experimentos II e VIII, não foi possível a análise, devido a mortalidade ter sido total antes do prazo estipulado para a avaliação (Tabela 2).

De um modo geral, quase todos os animais pertencentes aos quatro Grupos (A, B, C e D), tiveram ganho de peso. Apenas no Grupo B (infecção por *T.cruzi*) do Experimento VI e no Grupo C (infecção por *S.mansoni*) do Experimento VIII, os animais permaneceram com o mesmo peso ou apresentaram redução relativa do peso (Tabela 3).

Para que as diferenças significativas do peso corporal entre os grupos pudessem ser localizadas, foram realizadas comparações entre as médias do peso corporal final do camundongo com infecção mista e seus respectivos controles, através do Teste de TUKEY (dms). Aplicou-se o teste somente naquele experimento onde F' calculado $> F$ tabelado com nível de significância mínima de 5% (Tabela 3).

Verificou-se ser significante o aumento de peso dos animais com infecção mista (Grupo A) em relação aos animais do Grupo B e do Grupo C. A diferença de peso entre o Grupo A e o Grupo D (normais), não foi significativa, visto que havia alternância entre eles quanto aos valores em vários experimentos (Tabela 3).

Houve uma diminuição significativa no peso dos animais do Grupo B em relação aos do Grupo C. Porém comparando o Grupo B aos normais (Grupo D), a redução foi significativa apenas nos Experimentos IV e VI (Tabela 3).

Os animais com infecção só por *S.mansoni* (Grupo C) apresentaram redução no peso corporal, embora sem significância

quando comparados aos normais (Grupo D), (Tabela 3).

3.2- PESO DO BAÇO

A Tabela 4, Figura 10, representam os resultados obtidos com o peso do baço dos camundongos em experimentação.

Nota-se que as infecções tanto pelo *T.cruzi* quanto pelo *S.mansoni* causaram uma esplenomegalia nos animais. Em todos os experimentos esse aumento do baço foi significativo, ($p < 0,01$). Para que essas diferenças fossem localizadas foram feitas comparações entre as médias.

O baço dos animais com infecção mista só apresentaram aumento significante em relação ao grupo com infecção só por *T.cruzi* (Grupo B), no Experimento IV (intervalo de 95 dias entre as infecções). No restante dos experimentos esse aumento não foi significativo. Porém, comparando-se esses animais (Grupo A) com os demais (C e D), o baço estava significativamente maior.

Todos os animais do Grupo B quando comparados aos do Grupo C ou D, em relação ao aumento do órgão, foram sempre significantes. (Tabela 4, Figura 10).

3.3- PESO DO FÍGADO

Comparando-se o peso médio do fígado dos animais infectados apenas por *S.mansoni* (Grupo C), na maioria dos casos notou-se um aumento em relação ao controle (Grupo D); embora haja

uma tendência para diminuição do peso do órgão infectado à medida que a infecção vai se tornando crônica (do Experimento III ao Experimento VIII), Tabela 5.

Com exceção do Experimento IV, o peso do órgão nos animais do Grupo B, está aumentado em relação ao grupo não infectado (Grupo D); mas esse aumento só é significativo nos Experimentos V e VII (Tabela 5 Figura 11).

Nos animais portadores de infecção mista (A), o peso do fígado foi geralmente maior do que os registrados no grupo controle (D).

Nos experimentos passíveis de comparação, ou seja, de II a VIII, observou-se que o peso do fígado dos animais do Grupo A (infecção mista), foi superior àqueles dos animais infectados apenas por *S.mansoni* (C), embora significativo apenas nos Experimentos V e VIII, a nível de 1% (Tabela 5).

Com exceção dos Experimentos I e VII, verificou-se que o peso do fígado dos animais com infecção mista também foi superior aos dos Grupos B (infecção por *T.cruzi*). (Tabela 5, Figura 11).

4- CARGA DE VERMES

A distribuição de vermes recuperados após perfusão do sistema porta hepático de camundongos infectados, está representada na Tabela 6. A percentagem de recuperação de vermes de camundongos infectados com 15 cercárias, via percutânea, foi

ao redor de 40%. Excluindo os Experimentos V e VII, não se observou diferenças relevantes na carga de vermes recuperados entre os grupos com infecção mista (A) e os controles (C).

No Experimento I, onde os camundongos do Grupo A, receberam uma infecção dupla simultaneamente, não foi possível a recuperação de vermes. O mesmo ocorrendo com os animais infectados só por *S.mansoni* (Grupo C). Isto se deve ao fato de que a perfusão foi realizada no 17º dia após infecção pelo *S.mansoni*, período este em que a maioria dos vermes no estágio imaturo encontra-se retida nos pulmões, órgão no qual não foi feita a coleta.

Quanto à localização dos vermes verificamos que, geralmente, os vermes estavam em maior concentração nas veias mesentéricas. Na maioria das vezes, o número de vermes na veia porta dos animais do grupo controle (C), foi superior àquele do grupo com infecção mista (A).

5- OOGRAMA

Na tabela 7 está representado o oograma de grupos de animais com infecção mista e de animais infectados apenas por *S.mansoni* em diferentes intervalos de tempo entre as infecções.

No Experimento I, onde os animais receberam os dois parasitas ao mesmo tempo, e após 17 dias foram sacrificados, não foi possível encontrar nenhum ovo, visto que os vermes ainda se encontravam imaturos. No entanto, do Experimento II ao VII, à

medida que a infecção por *S.mansoni* se tornava crônica, houve uma diminuição de ovos imaturos e conseqüentemente um aumento do número de ovos maduros e mortos.

A distribuição de ovos imaturos, maduros, mortos e cascas que é diferente entre os Grupos A e C, apresenta significância estatística a nível de 1%, verificada através do Teste Qui-quadrado (χ^2). Os ovos imaturos, à exceção do Experimento VIII, estão sempre em maior número nos animais com infecção mista (A), enquanto que mortos e cascas são mais frequentes no Grupo C.

6- DIÂMETRO DOS GRANULOMAS HEPÁTICOS

As medidas (em μ) dos granulomas hepáticos de animais com infecção mista (Grupo A) e de animais com infecção só por *S.mansoni* (Grupo C), estão resumidas na Tabela B.

Os granulomas atingiram o tamanho máximo até a 8ª semana de infecção (+ 62 dias); após esse período começaram a apresentar um fenômeno de regressão. Isto tanto para os animais com infecção mista quanto para os controles.

É importante salientar que nos animais com infecção mista (Grupo A), os granulomas apresentavam diâmetros maiores que nos animais do Grupo C (infecção só por *S.mansoni*. Mas, apenas no Experimento III, (96 dias de infecção pelo *S.mansoni*) essa diferença foi significativa a nível de 5% ($P < 0,05$).

Havia uma tendência para apresentar granulomas múltiplos e também, em relação ao número de granulomas por corte histológico, era visível a diferença nos animais com infecção dupla (Grupo A).

No Grupo C do Experimento VIII, não foi possível medir granulomas, pela total ausência dos mesmos.

7- DETERMINAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE AO NÍVEL DE CÉLULAS B e T

7.1- Quantificação do Número de Células Formadoras de Placas (CFP)

Camundongos previamente infectados com *S.mansoni* e *T.cruzi* (Grupo A), camundongos infectados só por *T.cruzi* (B), só por *S.mansoni* (C) e os controles (D), de todos os experimentos, foram imunizados com hemácias de carneiro e o número de CFP determinado quatro dias após a imunização.

De acordo com a Tabela 9, nota-se que, em torno do pico parasitêmico, ocorreu uma supressão média de 97% no número de CFP, principalmente nos animais com infecção mista (A). Os animais com infecção só por *T.cruzi* (B), também sofreram uma diminuição do número de CFP, observando-se uma supressão em torno de 94%.

Quanto aos animais infectados só por *S.mansoni* (C), à exceção daqueles pertencentes aos Experimentos VI e VII, todos os

os outros apresentaram níveis menores de supressão do número de CFP.

Nos Experimentos VI e VII, a taxa de supressão nos animais do Grupo C chegou em torno de 74,5% (Tabela 9).

7.2- SENSIBILIDADE AO DINITROFLUOROBENZENO (DNFB)

Com a finalidade de se estudar a resposta mediada por células, os animais dos grupos A, B e C, foram infectados como previamente determinado. No dia do pico de parasitemia pelo *T.cruzi*, todos os grupos (A, B, C e D), de todos os experimentos, foram sensibilizados com 50 μ l de DNFB e cinco dias após, receberam 5 μ l do antígeno na orelha esquerda como dose desencadeante.

A Tabela 11, mostra a relação dos pesos obtidos das orelhas esquerda e direita (E/D), 24 horas após a dose desencadeante. Fica evidente uma variação muito grande dos valores entre os grupos experimentais e controles, independente da fase de infecção; essa variação só foi significativa a partir do Experimento IV (95 dias de intervalo entre as infecções).

8- ATIVIDADE FAGOCITÁRIA DE MACRÓFAGOS

Células fagocíticas retiradas de camundongos com infecção mista por *S.mansoni* e *T.cruzi* (Grupo A) e seus respectivos controles (Grupos B, C e D), foram avaliados quanto à

sua capacidade fagocítica frente à hemácias de carneiro no dia do pico de parasitemia pelo *T.cruzi*. Os resultados estão resumidos na Tabela 13, como percentagem de fagocitose numa contagem de 300 células por lamínulas, com cinco animais em média por grupo.

No Experimento I, onde os animais foram infectados com os dois parasitas ao mesmo tempo, verificou-se uma menor taxa de fagocitose, igualmente o menor número de células coletadas de todos os experimentos.

A partir do Experimento II, quando é maior o intervalo entre as infecções, houve um aumento na quantidade de células coletadas, sugerindo um maior afluxo de células para o local, principalmente nos animais com infecção mista (Grupo A) e nos animais com infecção só por *S.mansoni* (C). O número de células coletadas no grupo infectado só por *T.cruzi* (B), quase sempre esteve muito próximo aos normais (D).

Em relação aos grupos contrôles, o índice fagocítico foi considerável, enquanto que entre os grupos experimentais (A, B e C), os valores de um modo geral estão muito próximos. Do Experimento I ao VIII (Tabela 13), com exceção do Experimento VII, todos os outros mostraram índices fagocíticos significantes ao nível de 5%. Para que se localizasse onde estavam essas diferenças, comparou-se as médias dos grupos, através do teste de TUKEY (dms).

II- Esquistossomose na Fase Aguda e Crônica x Doença de Chagas na Fase Crônica (T.cruzi precedendo S.mansoni).

1- CURVA DE PARASITEMIA

A parasitemia dos camundongos infectados cronicamente por T.cruzi, foi avaliada a partir do 60º dia (Experimento IX) e 170º dia (Experimento X), após inóculo inicial. No 68º e 180º dias, respectivamente, foram infectados com 15 cercárias de S.mansoni. Em ambos os casos, a parasitemia foi negativa, tanto no grupo com infecção mista quanto nos controles, permanecendo assim até o final do experimento que teve a duração de 128 e 300 dias respectivamente.

2- TAXA DE MORTALIDADE

No Experimento IX em que os camundongos estavam infectados cronicamente por T.cruzi e com infecção aguda por S.mansoni, não ocorreu nenhuma morte nos Grupos B, C e D, durante o período observado, que atingiu um total de 128 dias (Tabela 1). Entre os animais do grupo A, as mortes (16%), ocorreram durante o período em que eles estavam infectados apenas por T.cruzi (até o 68º dia). Passado esse tempo os animais receberam S.mansoni e, durante o período em que foi acompanhado, (60 dias), não foi detectada nenhuma morte (Tabela 1).

No Experimento X, os animais estavam cronicamente infectados por T.cruzi e por S.mansoni. As mortes foram mais frequentes após 180 dias, quando os animais dos Grupos A e C já

havam recebido *S.mansoni*. Este experimento foi acompanhado até o 300º dia de infecção pelo *T.cruzi* (Tabela 1).

3- PESO DOS ANIMAIS E DE SEUS ÓRGÃOS

3.1- PESO CORPORAL MÉDIO FINAL

Nos experimentos realizados em camundongos com infecção crônica por *T.cruzi* e aguda por *S.mansoni*, (Experimento IX), houve diferença no peso corporal médio final. O Grupo B apresentou maior peso corporal quando comparados aos Grupos A, C e D (Tabelas 2 e 3).

Nos animais com infecção crônica pelos dois parasitas, o Grupo B também apresentou o maior peso corporal, embora sendo seguido de perto pelo Grupo C (infectado apenas por *S.mansoni*) (Figura 9, Tabelas 2 e 3).

3.2- PESO DO BAÇO

Nesses experimentos é significativa a esplenomegalia dos animais com infecção mista (Grupo A) em relação a seus controles (B, C e D). (Tabela 4, Figura 10).

No Experimento IX (esquistossomose na fase aguda e doença de Chagas na fase crônica), todos os grupos de animais infectados (A, B e C), apresentaram aumento significativo do órgão em relação aos normais (Grupo D) .

Resultado diferente foi observado no Experimento X, período em que os animais estão cronicamente infectados pelos dois parasitas: apenas o grupo com infecção mista (A) apresenta aumento significativo do órgão em relação aos demais grupos (B, C e D) (Tabela 4, Figura 10).

3.3- PESO DO FÍGADO

Durante a fase aguda da esquistossomose e crônica da doença de Chagas (Experimento IX), verificou-se que houve um aumento significativo do peso ($P < 0,01$) do fígado dos camundongos portadores de infecção só por *S.mansoni* (Grupo C), comparados aos normais (Grupo D). Já os animais com infecção mista (Grupo A), apresentaram fígados mais pesados que os camundongos dos grupos (B e D), embora sem significância estatística (Tabela 5).

Quando a infecção se tornou crônica pelos dois parasitas (Experimento X), o peso do fígado dos camundongos com infecção mista (A) e dos infectados só por *S.mansoni* (C), estava maior que o dos Grupos B e D, ao passo que, nos animais do Grupo B (*T.cruzi*), o peso do órgão foi inferior ao dos animais normais e estatisticamente significante. (Tabela 5, Figura 11).

4- CARGA DE VERMES

Nos animais com infecção aguda pelo *S.mansoni* e crônica pelo *T.cruzi* (Experimento IX), (Tabela 6), verificamos que a taxa

de recuperação de vermes não foi muito diferente daquela verificada nos animais com infecção crônica pelos dois parasitas, (Experimento X). Houve diferença apenas preferencial dos vermes quanto à localização, em especial no grupo com infecção mista (A); visto que no primeiro caso, a preferência foi pelas veias mesentéricas e no segundo caso, pela veia porta. Entre os animais com infecção apenas por *S.mansoni* (C), a preferência foi pela veia porta. Porém, a diferença na recuperação de vermes nos animais com infecção mista (A) em relação aos animais com infecção só por *S.mansoni* (C), foi significativa a nível de 1% nos dois experimentos (IX e X respectivamente) (Tabela 6).

5- OOGRAMA

Nos animais do Grupo A, do Experimento IX, (Tabela 7) com 60 dias de infecção por *S.mansoni*, após 68 dias de parasitismo por *T.cruzi*, o padrão do oograma foi semelhante àqueles dos Experimentos II e III, com 62 e 96 dias de infecção pelo trematódeo respectivamente. Isto é, uma elevada taxa de ovos imaturos e poucos ovos maduros e mortos. Já no Experimento X, animais dos Grupos A e C com 120 dias de infecção por *S.mansoni*, após 180 dias de parasitismo por *T.cruzi*, o padrão ficou invertido. Observou-se uma elevada taxa de ovos mortos, principalmente nos animais com infecção mista (Grupo A).

6- DIÂMETRO DOS GRANULOMAS HEPÁTICOS

Durante a fase aguda da infecção por *S.mansoni* e crônica por *T.cruzi*, (Experimento IX, Tabela 8), os granulomas apresentaram diâmetros maiores do que aqueles apresentados pelos animais que estavam na fase aguda da infecção tanto pelo *S.mansoni* quanto pelo *T.cruzi* (Experimentos II e III).

Verificamos que, nos animais cronicamente infectados pelos dois parasitas, (Experimentos X), houve uma regressão no diâmetro dos granulomas, apresentando no entanto, diâmetros maiores do que aqueles apresentados pelos animais com o mesmo tempo de infecção por *S.mansoni*, mas com infecção aguda por *T.cruzi* (Experimentos IV e V).

7- DETERMINAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE AO NÍVEL DE CÉLULAS B e T

7.1- Quantificação do Número de Células Formadoras de Placas (CFP)

No Experimento IX, (Tabela 10), infecção aguda por *S.mansoni* e crônica por *T.cruzi*, observa-se uma alteração na resposta humoral à hemácias de carneiro; há uma diminuição do número de CFP, tanto nos animais com infecção mista (Grupo A), quanto nos animais com infecção só por *T.cruzi* (Grupo B) e só por *S.mansoni* (Grupo C), com uma supressão de 85,3%, 84,9% e 62,6% respectivamente.

Observamos no Experimento X que, além dos grupos experimentais também o grupo controle apresenta número de CFP menor que os grupos controles de outros experimentos. Esse fato se deve talvez, à idade bem superior dos animais desse grupo em relação aos outros grupos (Tabela 10).

7.2- SENSIBILIDADE AO DINITROFLUOROBENZENO (DNFB)

De acordo com a Tabela 12, nota-se uma supressão significativa quando estabelecida a relação entre os pesos das orelhas esquerda e direita (E/D), nos animais com infecção mista, (A), do Experimento IX, (infecção crônica por *T.cruzi* e aguda por *S.mansoni*) em relação a seus controles (Grupos B, C e D). Enquanto que no Experimento X, (infecção crônica pelos dois parasitas), os valores estavam muito próximos, mostrando uma resposta semelhante entre os quatro grupos (Tabela 12).

8- ATIVIDADE FAGOCITÁRIA DE MACRÓFAGOS

Nos animais com infecção crônica pelo *T.cruzi* e aguda pelo *S.mansoni* (Experimento IX), foi observado um índice fagocítico que pode ser considerado o mais alto de todos os experimentos (Tabela 14).

O fluxo celular foi maior no Grupo C (infectado só por *S.mansoni*), tanto no Experimento IX, como no Experimento X, seguido depois pelo Grupo A (infecção mista). Ao contrário do

Grupo B (infectado só por *T.cruzi*) que estava próximo ao grupo controle (D) (Tabela 14).

O índice fagocítico observado no Experimento X, (infecção crônica pelos dois parasitas), foi menor que o observado no Experimento IX, (Tabela 14), porém foi semelhante aos índices verificados nos outros experimentos, nos quais os animais estavam com infecção aguda e crônica por *S.mansoni*, mas a infecção por *T.cruzi*, estava na fase aguda (Experimentos de I a VIII, Tabela 13), sendo significativa ao nível de 5%.

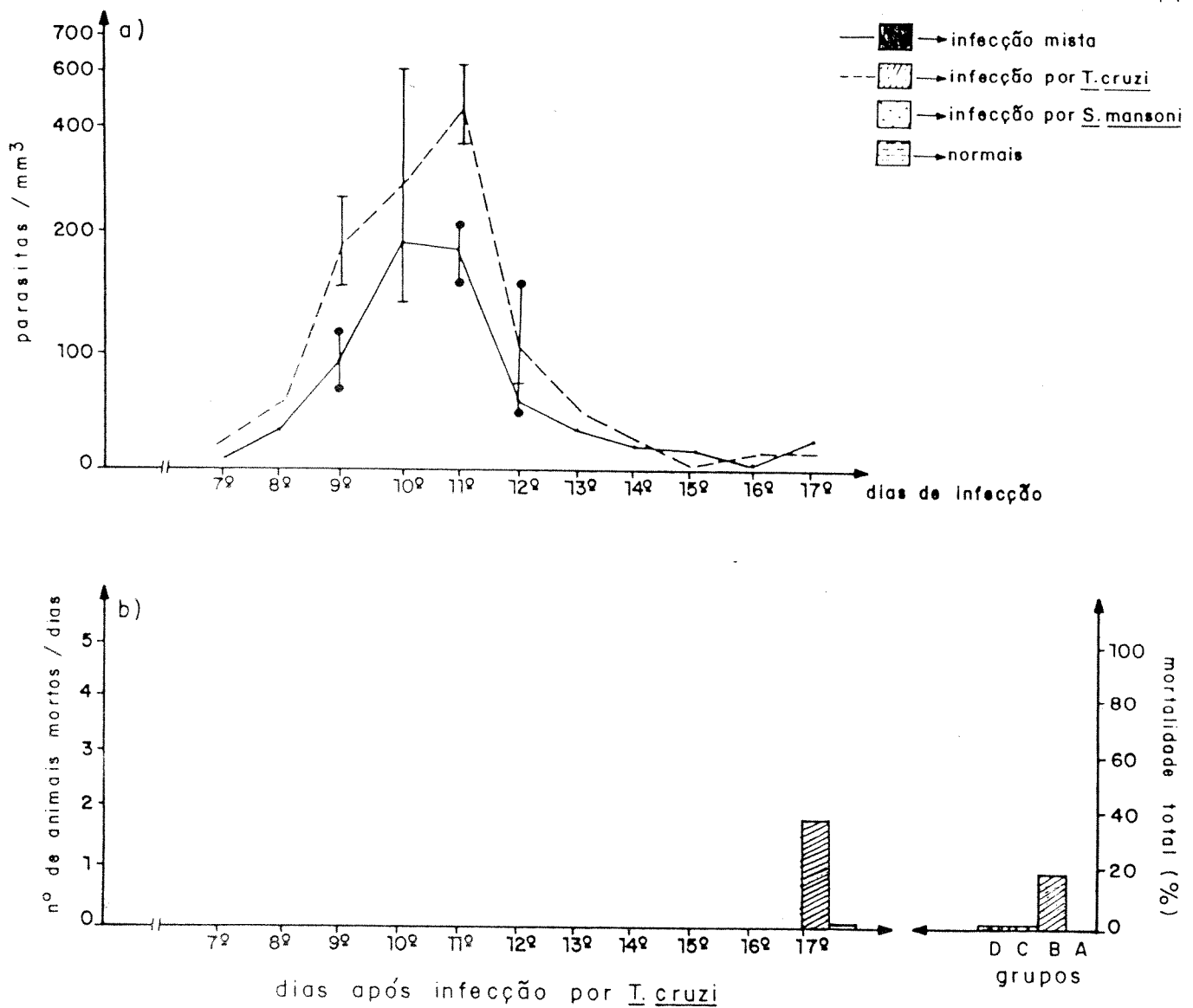


Fig. 01- Parasitemia e mortalidade em camundongos (CBA x C57 BL/10)F1 expostos a 15 cercárias de S. mansoni (cepa BH) e no mesmo dia infectados com 10^2 formas de T. cruzi (cepa Y) (—■—) e de camundongos infectados apenas por T. cruzi (- - ■ - -). Cada ponto representa a média geométrica $\pm$ SD de 15 animais (grupo A) e 10 animais (grupo B)/ dia até o 17º dia e mortalidade total () em todos os grupos (A, B, C, D).

A- Animais com infecção mista

B- Animais infectados apenas por T. cruzi

C- Animais apenas com S. mansoni

D- Animais normais

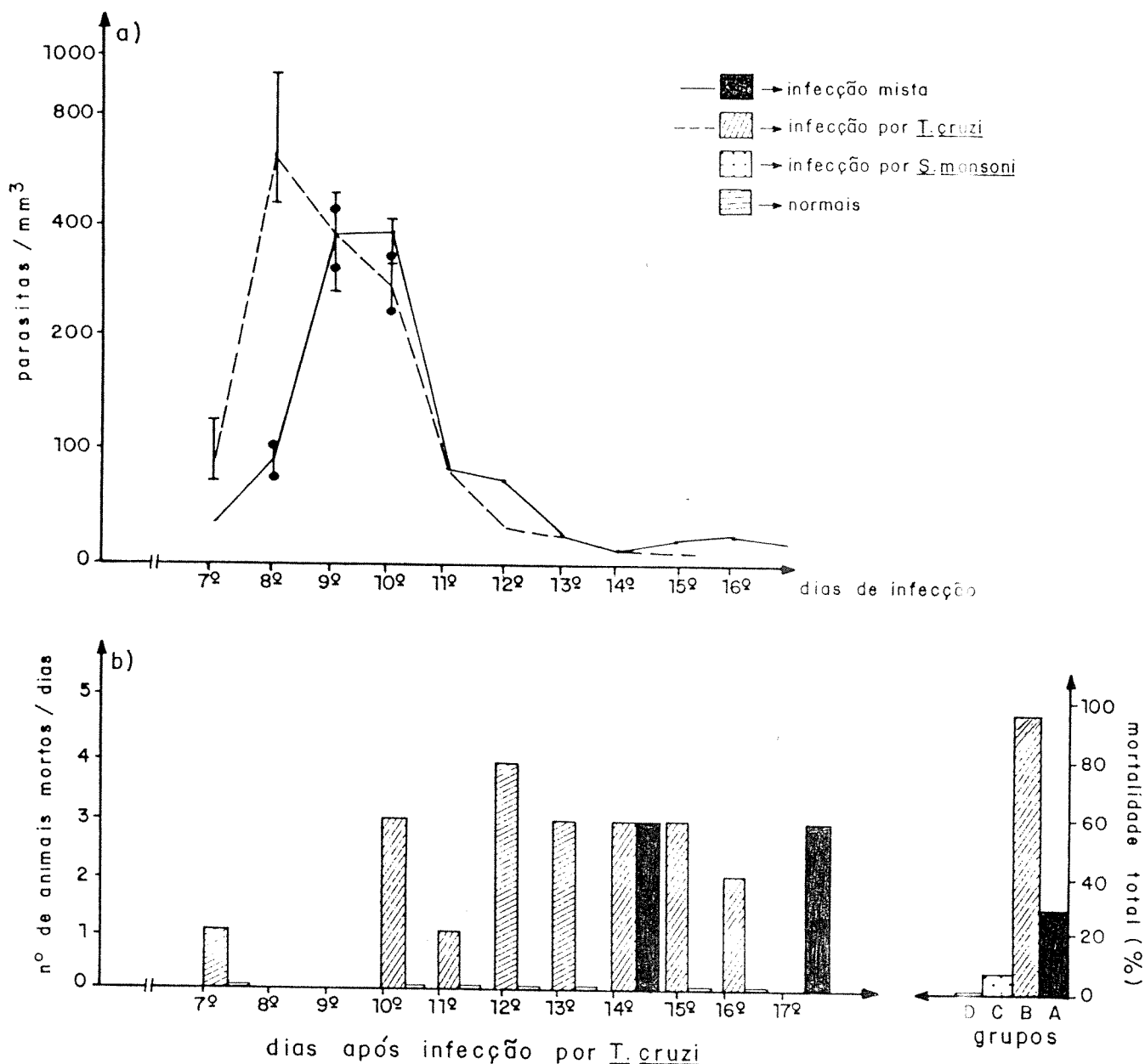


Fig. 02- Parasitemia e mortalidade em camundongos (CBA x C57 B1/10)F1 expostos inicialmente a 15 cercárias de *S. mansoni* e infectados 45 dias após com 10^2 formas de *T. cruzi* (cepa Y) (—■) e de camundongos infectados apenas por *T. cruzi* (---▨). Cada ponto representa a média geométrica $\frac{\sum}{n}$ SD de 20 animais nos 2 grupos (A e B)/ dia até o 17º dia, e mortalidade total (%) em todos os grupos (A, B, C, D).

- A- Animais com infecção mista
- B- Animais infectados apenas por *T. cruzi*
- C- Animais apenas com *S. mansoni*
- D- Animais normais

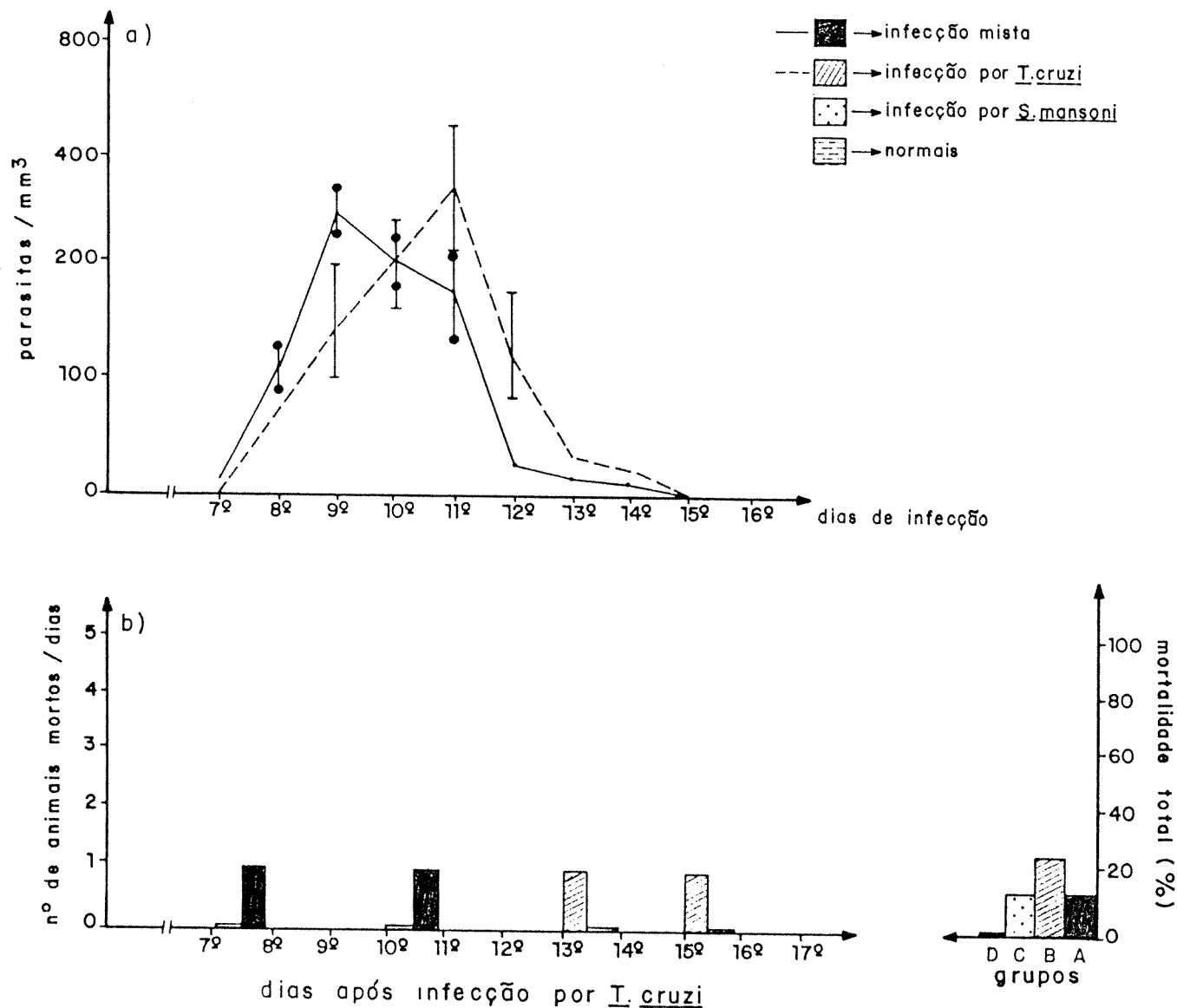


Fig. 03- Parasitemia e mortalidade em camundongos (CBA x C57 B1/10)F1 expostos inicialmente a 15 cercárias de *S. mansoni* e infectados 80 dias após com 10^2 formas de *T. cruzi* (cepa Y) (—■) e de camundongos infectados apenas por *T. cruzi* (---▨). Cada ponto representa a média geométrica $\bar{x}$ SD de 19 animais (grupo A) e 10 animais (grupo B)/ dia até o 170 dia e mortalidade total (%) em todos os grupos (A, B, C, D).

- A- Animais com infecção mista
- B- Animais infectados apenas por *T. cruzi*
- C- Animais apenas com *S. mansoni*
- D- Animais normais

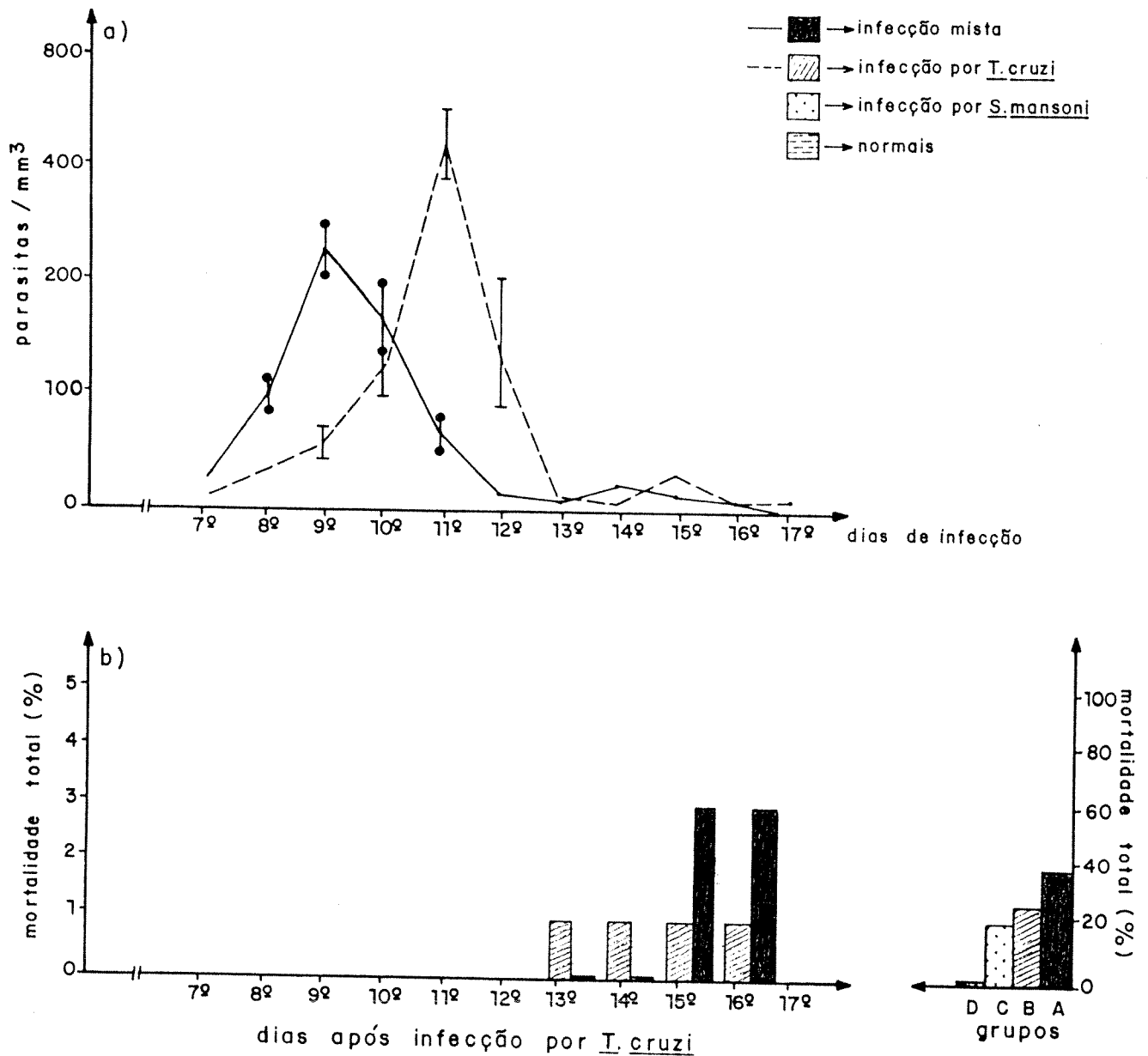


Fig. 04- Parasitemia e mortalidade em camundongos (CBA x C57 B1/10)F1 expostos inicialmente a 15 cercárias de S.mansoni e infectados 95 dias após com 10^2 formas de T. cruzi (cepa Y) (—■) e de camundongos infectados apenas por T.cruzi (---▨). Cada ponto representa a média geométrica $\bar{x}$ SD de 18 animais (grupo A) e 15 animais (grupo B)/ dia até o 17^o dia, e mortalidade total (%) em todos os grupos (A, B, C, D).

- A- Animais com infecção mista
- B- Animais infectados apenas por T. cruzi
- C- Animais apenas com S. mansoni
- D- Animais normais

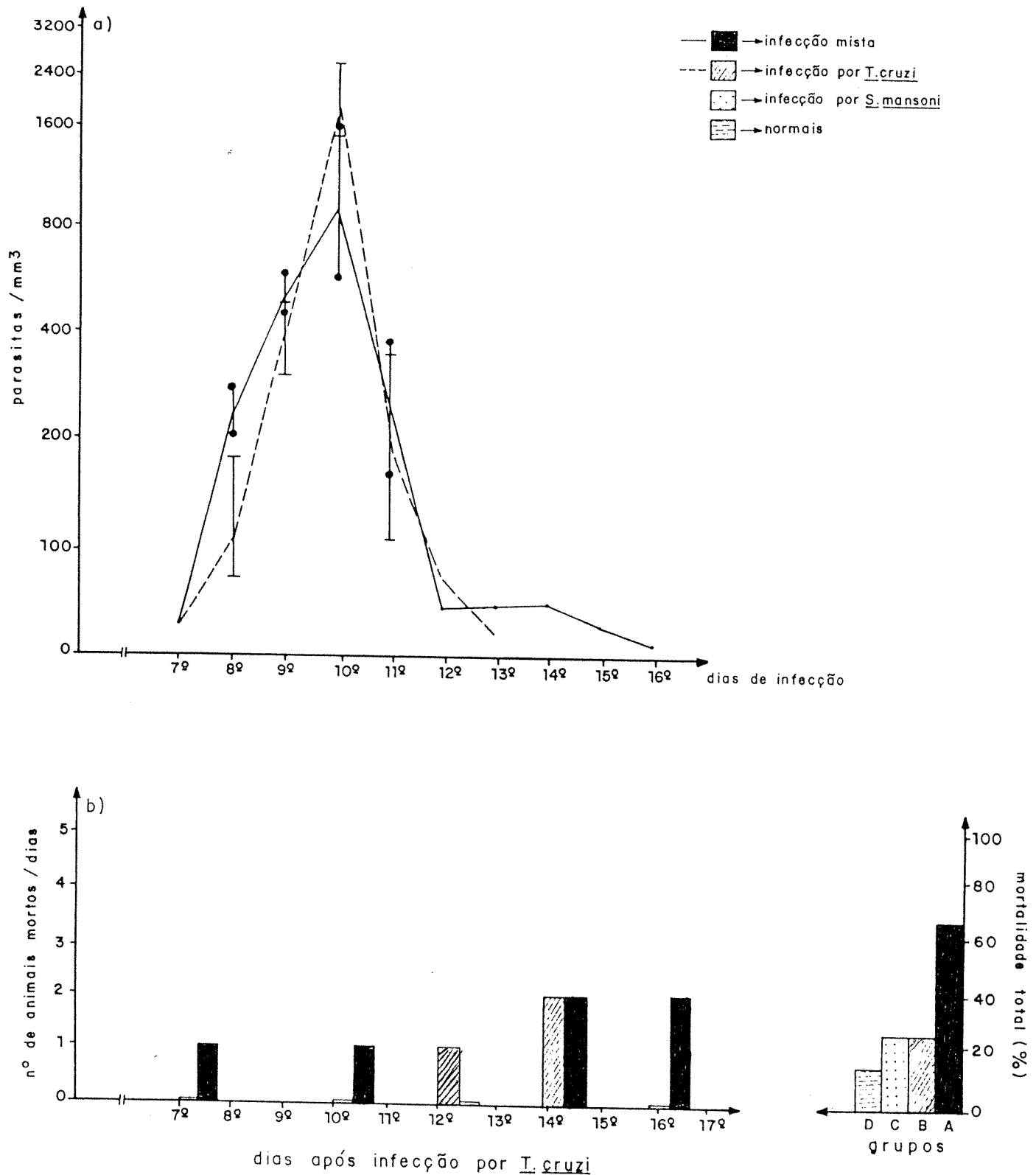


Fig. 05- Parasitemia e mortalidade em camundongos (CBA x C57 B1/10)F1 expostos inicialmente a 15 cercárias de *S. mansoni* e infectados 106 dias após com 10^2 formas de *T. cruzi* (—■—) e de camundongos infectados apenas por *T. cruzi* (- - ▨ - -).

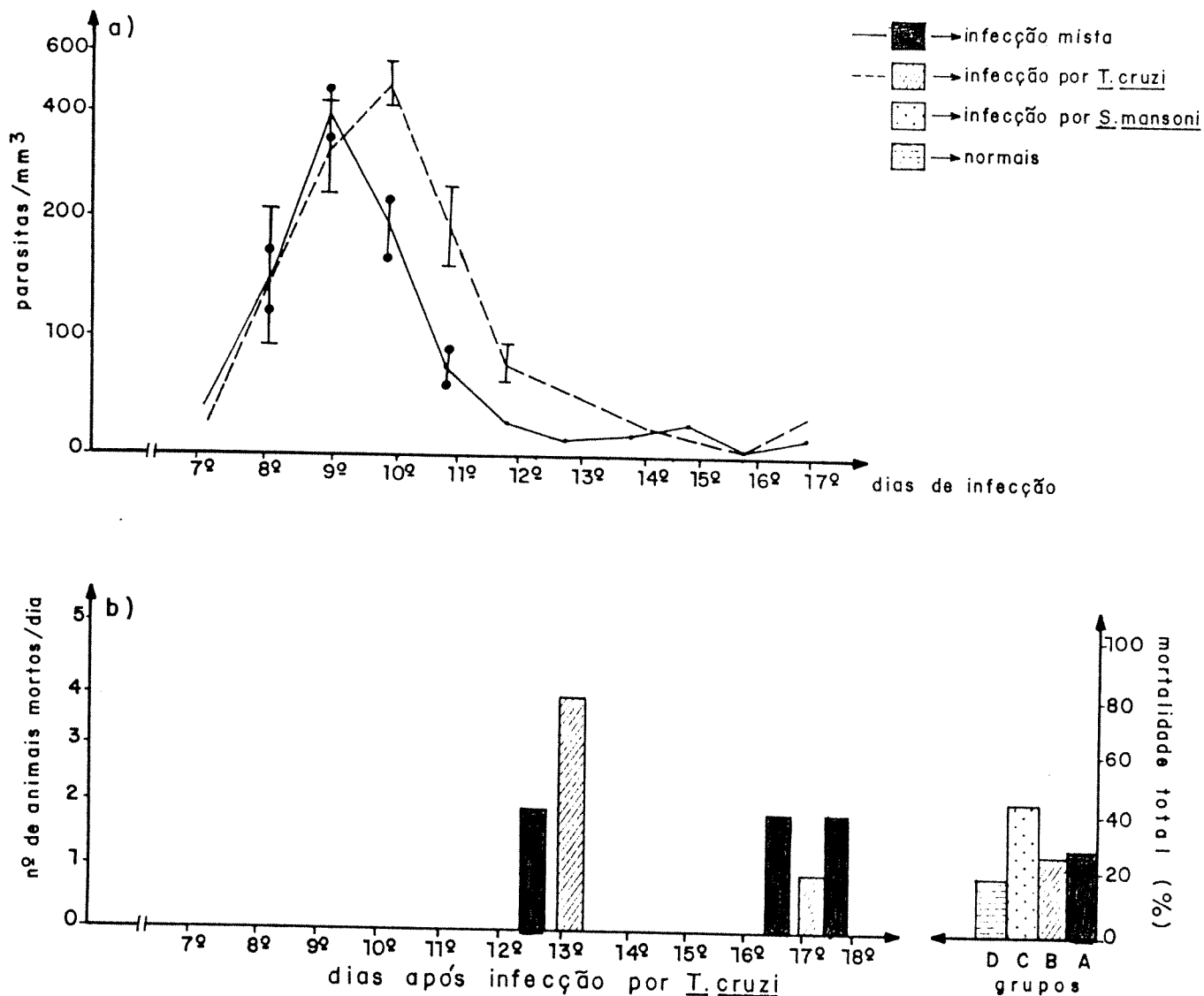


Fig. 06- Parasitemia e mortalidade em camundongos (CBA x C57 B1/10)F1 expostos inicialmente a 15 cercárias de *S. mansoni* e infectados 116 dias após com 10^2 formas de *T. cruzi* (— ■) e de camundongos infectados apenas por *T. cruzi* (— ▨). Cada ponto representa a média geométrica $\bar{x}$ SD de 18 animais (grupo A) e 13 animais (grupo B)/ dia até o 17º dia, e mortalidade total (%) em todos os grupos (A, B, C, D).

- A- Animais com infecção mista
- B- Animais infectados apenas por *T. cruzi*
- C- Animais apenas com *S. mansoni*
- D- Animais normais

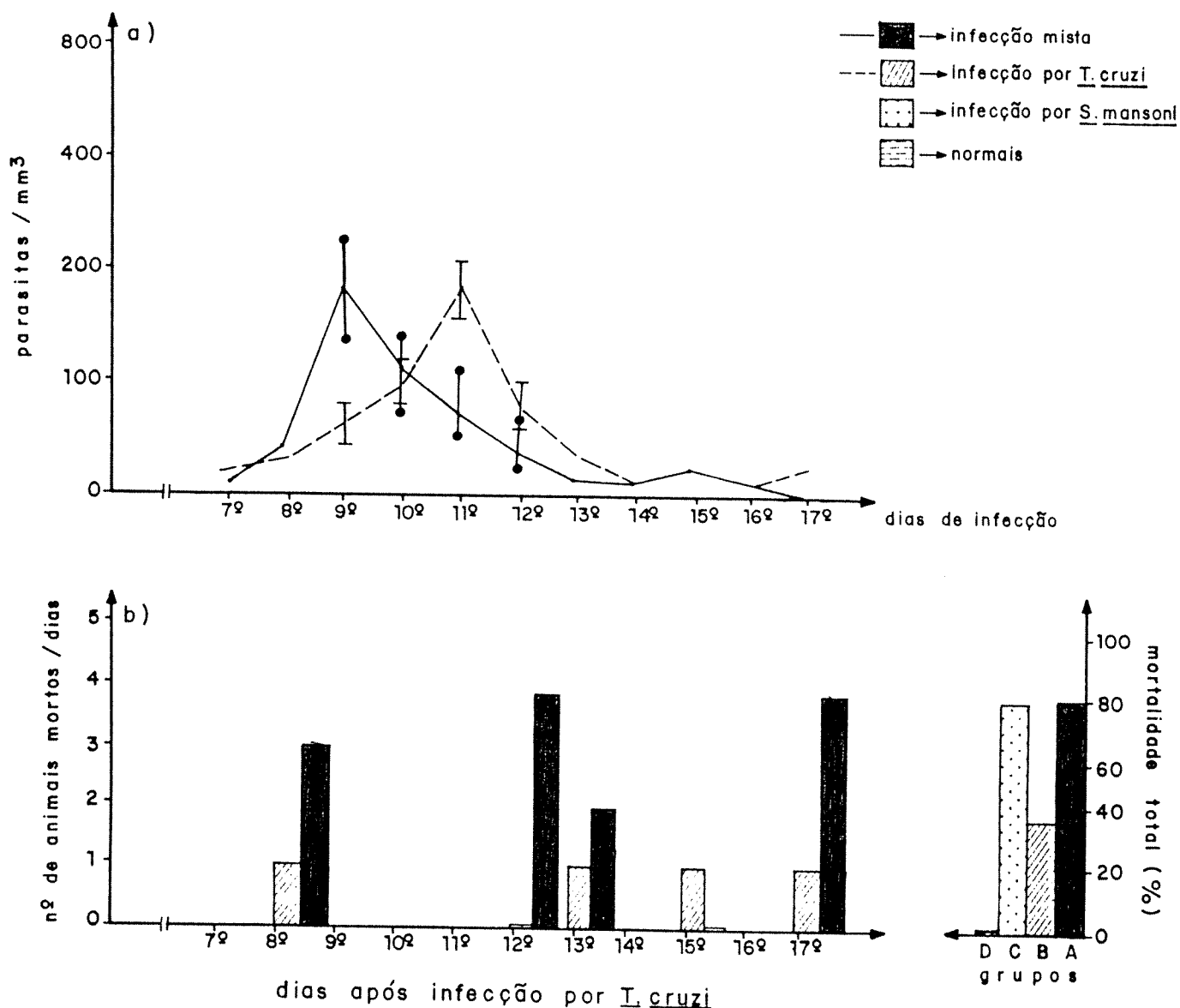


Fig. 07- Parasitemia e mortalidade em camundongos (CBA x C57 B1/10)F1 expostos inicialmente a 15 cercárias de *S. mansoni* e infectados 180 dias após com 10^2 formas de *T. cruzi* (—■) e de camundongos infectados apenas por *T. cruzi* (---▨). Cada ponto representa a média geométrica $\pm$ SD de 20 animais (grupo - A) e 13 animais (grupo B)/ dia até o 17º dia, e mortalidade total (%) em todos os grupos (A, B, C, D).

- A- Animais com infecção mista
- B- Animais infectados apenas por *T. cruzi*
- C- Animais apenas com *S. mansoni*
- D- Animais normais

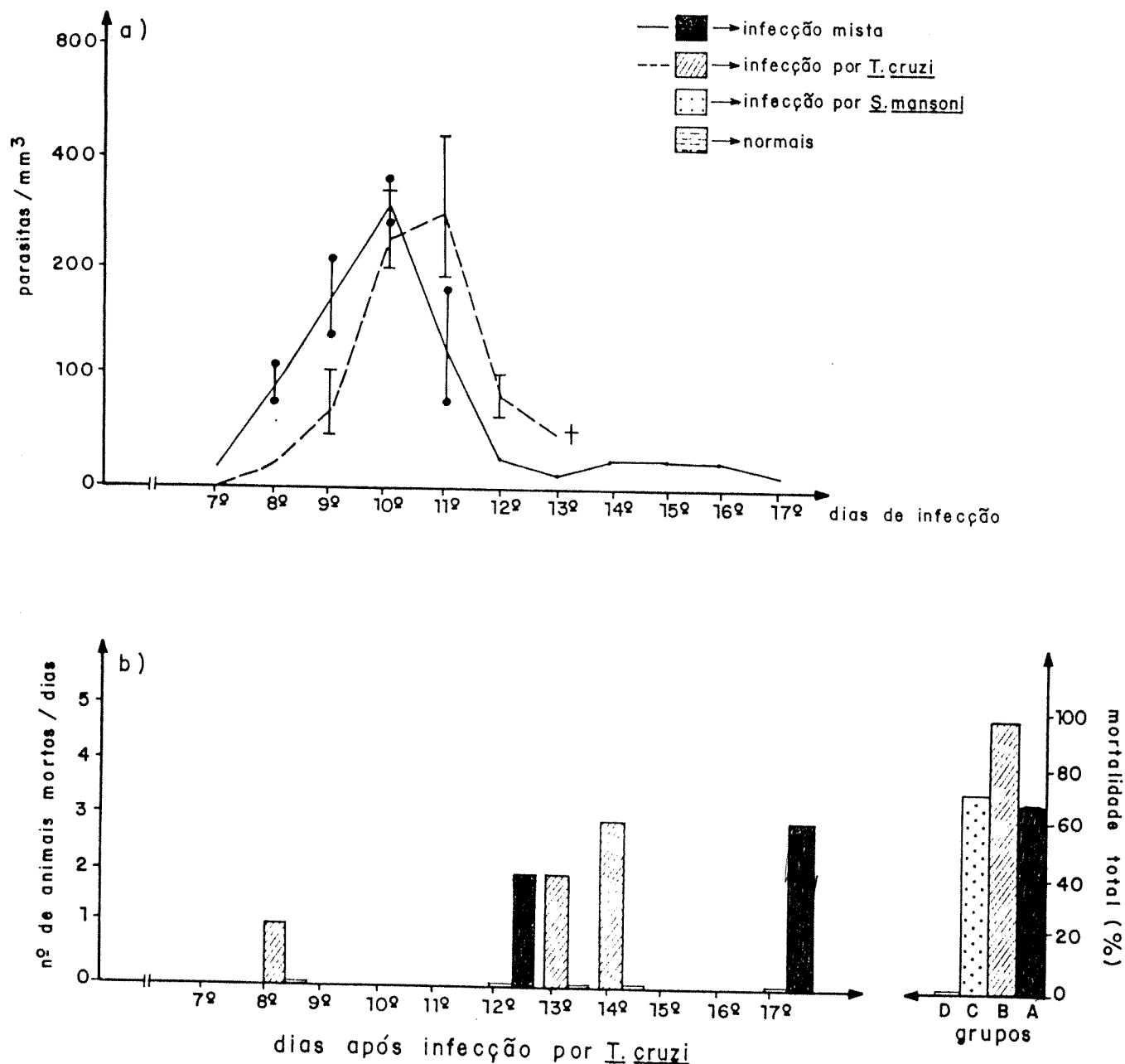


Fig. 08- Parasitemia e mortalidade em camundongos (CBA x C57 B1/10)F1 expostos inicialmente a 15 cercárias de *S. mansoni* e infectados 230 dias após com 10^2 formas de *T. cruzi* (—■—) e de camundongos infectados apenas por *T. cruzi* (- - ▨ - -). Cada ponto representa a média geométrica $\pm$ SD de 13 animais (grupo - A) e 7 animais (grupo B)/ dia até o 17º dia, e mortalidade total (%) em todos os grupos (A, B, C, D).

- A- Animais com infecção mista
- B- Animais infectados apenas por *T. cruzi*
- C- Animais apenas com *S. mansoni*
- D- Animais normais

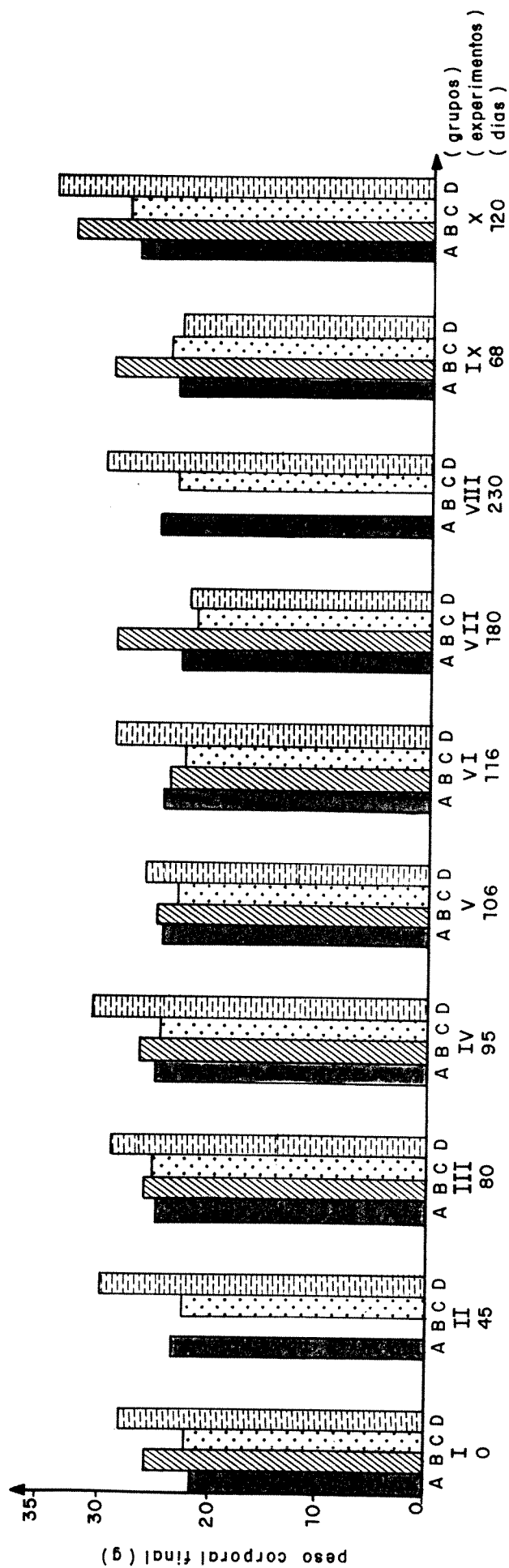


Figura 09 - peso corporal médio final de camundongos com infecção mista por *S. mansoni* e *I. cruzi* (A), *I. cruzi* (B), *S. mansoni* (C) e normais (D) em diferentes intervalos entre as infecções (dias).

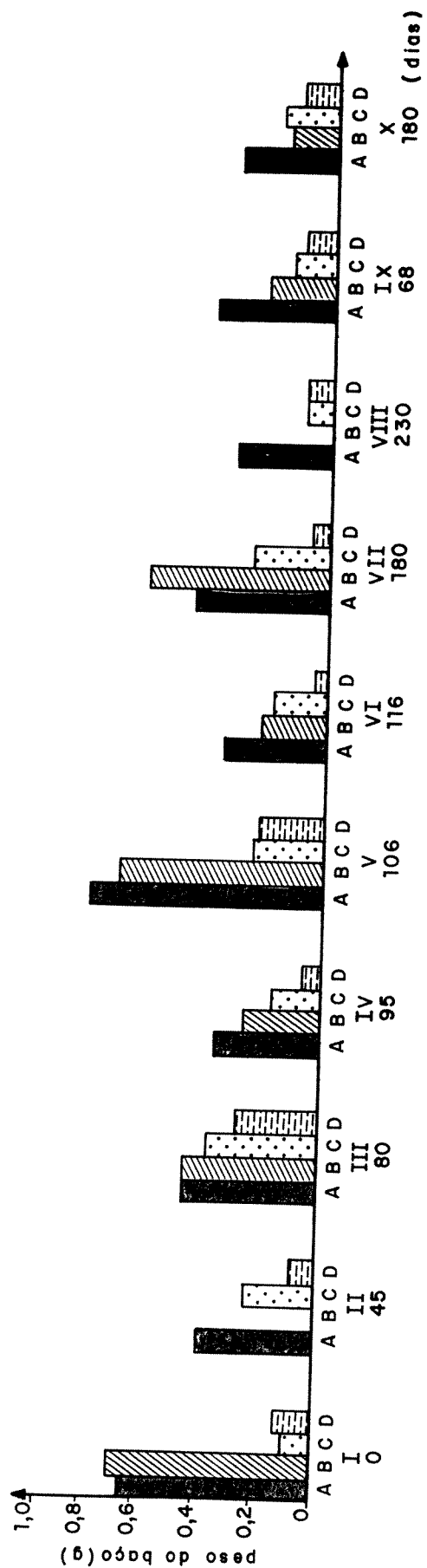


Figura 10 - peso do baço de camundongos com infecção mista por *S. mansoni* e *T. cruzi* (A), *T. cruzi* (B), *S. mansoni* (C) e Normais (D), em diferentes intervalos entre as infecções (dias).

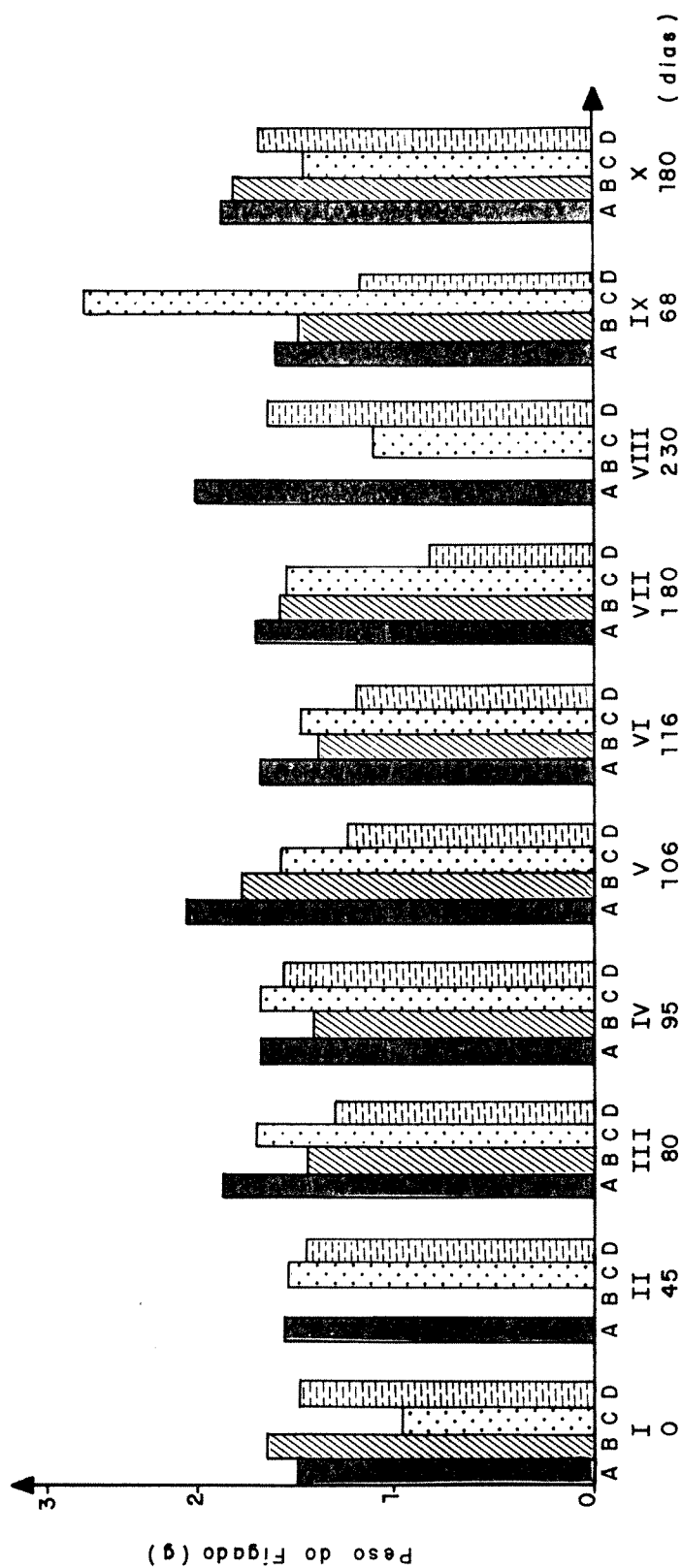


Figura 11 - peso do fígado de camundongos com infecção mista por *S. mansoni* e *I. cruzi* (A), *I. cruzi* (B) *S. mansoni* (C) e Normais (D), em diferentes intervalos entre as infecções (dias).

TABELA 1- TAXA DE MORTALIDADE DE CAMUNDONGOS COM INFECCÃO MISTA POR S.mansoni (CEPA BH, VIA PERCUTÂ-NEA) E T.cruzi (CEPA Y, VIA INTRAPERITONEAL) EM DIFERENTES INTERVALOS DE TEMPO.

INFECCÃO	EXPERI- MENTO	INTERV ENTRE INFECC. (DIAS)	TEMPO DE INF. PELO S.mansoni (DIAS)	% MORTALIDADE CUMULATIVA							
				GRUPO A		GRUPO B		GRUPO C		GRUPO D	
				x	#	x	#	x	#	x	#
S.mansoni precedendo T.cruzi	I	0	17	15/15	0	10/08	20,0	15/15	0	06/06	0
	II	45	62	20/14	30,0	20/00	100,0	16/15	6,2	06/06	0
	III	80	96	20/17	15,0	12/09	25,0	15/14	6,7	06/06	0
	IV	95	112	20/12	40,0	15/11	26,7	15/12	20,0	07/07	0
	V	106	122	20/06	70,0	15/11	26,7	19/14	26,3	07/06	14,3
	VI	116	133	20/14	30,0	15/11	26,7	20/11	45,0	10/08	20,0
	VII	180	197	27/05	81,5	15/09	40,0	20/04	80,0	11/11	0
	VIII	230	247	24/07	70,8	08/00	100,0	15/04	73,3	06/06	0
T.cruzi precedendo S.mansoni	IX	68	60	25/21	16,0	15/15	0	15/15	0	05/05	0
	X	180	120	23/14	39,1	19/15	21,0	15/08	47,0	08/06	25,0

x - Numero de camundongos no inicio/termino do experimento

- % de mortalidade cumulativa

A - Infecção por S.mansoni e T.cruzi

B - Infecção por T.cruzi

C - Infecção por S.mansoni

D - Normais

TABELA 2- PESO CORPORAL MEDIO FINAL DE CAMUNDONGOS COM INFECCÃO CONCOMITANTE POR S.mansoni
(CEPA BH) E T. cruzi (CEPA Y), EM DIFERENTES INTERVALOS ENTRE AS INFECCOES

EXPERI- MENTO	INTERV ENTRE INFECC (DIA)	TEMPO DE INFECC. S.mansoni (DIAS)	PESO CORPORAL MEDIO FINAL (GRAMAS)			
			GRUPO S.mansoni SM + TC	GRUPO A TC	GRUPO B TC	GRUPO C SM
I	0	17	21,5 ± 2,6	25,4 ± 2,8	21,7 ± 1,6	27,8 ± 2,7
II	45	62	23,3 ± 2,6	-	22,5 ± 1,9	30,0 ± 1,8
III	80	96	25,0 ± 2,0	26,0 ± 2,0	25,6 ± 1,5	29,0 ± 2,0
IV	95	112	25,4 ± 1,4	26,4 ± 1,7	24,5 ± 1,8	31,0 ± 1,0
V	106	122	24,7 ± 1,9	24,8 ± 1,0	22,7 ± 1,3	26,0 ± 1,3
VI	116	133	24,9 ± 3,1	24,1 ± 4,0	22,6 ± 1,5	28,9 ± 2,2
VII	180	197	23,2 ± 3,3	28,8 ± 1,5	21,5 ± 0,6	22,2 ± 9,2
VIII	230	247	25,3 ± 1,1	-	23,5 ± 3,1	30,3 ± 2,1
IX	68	60	23,6 ± 2,3	29,6 ± 2,2	23,8 ± 1,3	23,2 ± 3,3
X	180	120	27,1 ± 2,0	30,3 ± 2,4	27,9 ± 1,6	35,0 ± 3,0

GRUPO A- Infecção por S.mansoni e T.cruzi

GRUPO B- Infecção por T.cruzi

GRUPO C- Infecção por S.mansoni

GRUPO D- Normais

TABELA 3-EVOLUÇÃO DO PESO CORPORAL DE CAMUNDONGOS COM INFECÇÃO CONCOMITANTE POR *S.mansoni* (CEPA BH) E *T.cruzi* (CEPA Y) EM DIFERENTES INTERVALOS DE TEMPO ENTRE AS INFECÇÕES.

INFECÇÃO	INTERV. ENTRE INFEÇ. (dias)	EXPERI- MENTO	% GANHO DE PESO CORPORAL #				NIV. SIGNIF. "F"
			GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C	GRUPO D	
<i>S.mansoni</i> precedendo	0	I	+ 4,9	+ 8,5	+ 0,3	+ 7,7	NS
	45	II	+ 5,9	*	+ 7,1	+ 11,1	NS
	80	III	+ 19,0	0	+ 24,9	+ 13,7	P<0,01
	95	IV	+ 15,5	+ 1,5	+ 13,4	+ 19,2	P<0,01
	106	V	+ 37,2	+ 7,8	+ 22,0	+ 23,8	P<0,01
	116	VI	+ 26,0	- 2,3	+ 21,0	+ 25,6	P<0,01
<i>T.cruzi</i>	180	VII	+ 18,4	+ 7,8	+ 3,9	+ 7,2	NS
	230	VIII	+ 27,7	*	- 9,6	+ 21,2	P<0,01
<i>T.cruzi</i> precedendo	68	IX	+ 18,0	+ 18,4	+ 19,0	+ 13,7	NS
	180	X	+ 50,5	+ 47,1	+ 55,0	+ 48,3	NS
<i>S.mansoni</i>							

* - 100% de Mortalidade

+ - % ganho de peso

- - % perda de peso

- % de peso final em relação ao peso inicial

NS - Não significativo

P<0,01 - Significativo a 1%

A - Animais com infecção por *S.mansoni* e *T.cruzi*

B - Animais com infecção por *T.cruzi*

C - Animais com infecção por *S.mansoni*

D - Animais normais

TABELA 4- PESO DE BAÇO DE CAMUNDONGOS COM INFECÇÃO CONCOMITANTE POR *S.mansoni* (CEPA BH) E *T.cruzi* (CEPA Y) EM DIFERENTES INTERVALOS DE TEMPO ENTRE AS INFECÇÕES.

INFEÇÃO	INTERV. ENTRE INFECC. (DIAS)	TEMPO DE INF. PELO <i>S.mansoni</i> (DIAS)	PESO DO BAÇO (GRAMAS)				GRUPO D	NÍVEIS SIGNIF- " F "
CÃO			GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C			
<i>S.mansoni</i>	0	17	0,68 ± 0,14	0,69 ± 0,18	0,10 ± 0,02	0,12 ± 0,04		P<0,01
	45	62	0,39 ± 0,10	*	0,24 ± 0,10	0,07 ± -		P<0,01
	80	96	0,45 ± 0,14	0,45 ± 0,11	0,17 ± 0,05	0,07 ± -		P<0,01
	95	112	0,36 ± 0,10	0,25 ± 0,03	0,15 ± 0,07	0,06 ± 0,01		P<0,01
	106	122	0,80 ± 0,11	0,69 ± 0,30	0,24 ± 0,14	0,21 ± 0,19		P<0,01
<i>T.cruzi</i>	116	133	0,34 ± 0,12	0,21 ± 0,07	0,18 ± 0,13	0,05 ± -		P<0,01
	180	197	0,46 ± 0,20	0,61 ± 0,08	0,25 ± 0,24	0,06 ± 0,01		P<0,01
	230	247	0,32 ± 0,03	*	0,07 ± 0,02	0,07 ± 0,02		P<0,01
	68	60	0,39 ± 0,02	0,21 ± 0,03	0,14 ± 0,04	0,10 ± 0,02		P<0,01
<i>T.cruzi</i>	180	120	0,32 ± 0,12	0,16 ± 0,04	0,17 ± 0,04	0,07 ± 0,01		P<0,01
<i>S.mansoni</i>								
* - 100% de Mortalidade								
A- Infecção por <i>S.mansoni</i> e <i>T.cruzi</i>								
B- Infecção por <i>T.cruzi</i>								
C- Infecção por <i>S.mansoni</i>								
D- Normais								

TABELA 5- PESO MEDIO DE FIGADO DE CAMUNDONGOS COM INFECÇÃO CONCOMITANTE POR *S.mansoni* (CEPA BH) E *T.cruzi* (CEPA Y) EM DIFERENTES INTERVALOS DE TEMPO ENTRE AS INFECÇÕES.

INFECÇÃO	EXPERI- MENTOS	INTERV. ENTRE INF.	TEMPO INF. <i>S.mansoni</i> (DIAS)	PESO DO FIGADO (GRAMAS)				NIVEIS SIG. " F "
				GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C	GRUPO D	
<i>S.mansoni</i>	I	0	17	1,35 ± 0,25	1,49 ± 0,20	0,86 ± 0,12	1,36 ± 0,24	P<0,01
	II	45	62	1,33 ± 0,13	*	1,64 ± 0,28	1,54 ± 0,17	NS
	III	80	96	1,71 ± 0,29	1,31 ± 0,14	1,56 ± 0,23	1,19 ± 0,06	P<0,01
	IV	95	112	1,52 ± 0,26	1,28 ± 0,12	1,52 ± 0,23	1,44 ± 0,17	P<0,05
	V	106	122	1,89 ± 0,11	1,62 ± 0,20	1,45 ± 0,15	1,15 ± 0,32	P<0,01
	VI	116	133	1,52 ± 0,24	1,26 ± 0,36	1,35 ± 0,26	1,07 ± 0,09	P<0,01
<i>T.cruzi</i>	VII	180	197	1,56 ± 0,15	1,45 ± 0,34	1,43 ± 0,12	0,75 ± 0,56	P<0,01
	VIII	230	247	1,34 ± 0,36	*	1,03 ± 0,21	1,51 ± 0,17	P<0,01
<i>T.cruzi</i>								
precedendo	IX	68	60	1,46 ± 0,25	1,34 ± 0,15	2,03 ± 2,42	1,06 ± 0,15	P<0,01
<i>S.mansoni</i>	X	180	120	1,72 ± 0,34	1,33 ± 0,13	1,64 ± 0,28	1,54 ± 0,17	P<0,01
* - 100% de Mortalidade NS - Não Significativo P<0,01 - Significativo a 1% P<0,05 - Significativo a 5%								
A - Infecção mista B - Infecção por <i>T.cruzi</i> C - Infecção por <i>S.mansoni</i> D - Animais normais								

TABELA 6 - PERCENTAGEM DE VERMES RECUPERADOS NO SISTEMA PORTA APÓS PERFUSÃO DE CAMUNDONGOS COM INFECÇÃO MISTA POR *S.mansoni*, CEPA BH (15 cercárias, via percutânea) E *T.cruzi*, CEPA Y (100 parasitas, via intraperitoneal) E DE CAMUNDONGOS COM INFECÇÃO APENAS POR *S.mansoni* EM DIFERENTES INTERVALOS ENTRE AS INFECÇÕES.

EXPERI- MENTOS	GRUPO	INTERV. ENTRE INFEÇ. (DIAS)	TEMPO INF PELO <i>S.mansoni</i> (DIAS)	VERMES RECUPERADOS		LOCALIZAÇÃO DOS VERMES (%)			TESTE STUDENT (T)
				MEDIA	%	PORTA	FIGADO	VEIAS ME- SENTERICAS	
I	A C	0	17	-	-	-	-	-	-
II	A C	45	62	5,7 ± 1,4 6,8 ± 1,6	37,8 46,0	25,0 30,1	20,6 18,1	54,4 51,6	NS
III	A C	80	96	6,1 ± 2,5 5,4 ± 1,2	40,9 35,9	30,4 32,8	7,6 12,8	62,0 54,3	NS
IV	A C	95	112	4,7 ± 0,8 4,9 ± 1,4	31,3 32,7	46,8 26,5	6,4 10,2	48,8 63,3	NS
V	A C	106	122	6,5 ± 1,0 7,5 ± 1,6	43,3 50,3	19,2 53,7	11,5 16,3	69,2 48,0	P<0,05
VI	A C	116	133	5,6 ± 0,1 5,7 ± 2,3	37,2 37,8	32,8 31,4	7,5 7,9	59,7 62,7	NS
VII	A C	180	197	5,4 ± 1,1 2,5 ± 0,7	36,0 16,7	14,8 -	22,2 40,0	63,0 60,0	P<0,01
VIII	A C	230	247	4,8 ± 1,3 3,0 ± 1,4	32,0 20,0	54,2 66,7	4,2 -	41,7 33,3	NS
IX	A C	68	60	8,1 ± 3,5 5,4 ± 2,2	54,3 36,0	25,1 44,4	20,5 30,9	54,4 24,7	P<0,01
X	A C	180	120	8,9 ± 2,5 6,0 ± 1,9	59,0 40,0	39,5 54,2	22,6 14,6	37,9 31,3	P<0,01

A - Infecção mista por *S.mansoni* e *T.cruzi*

C - Infecção por *S.mansoni*

NS - Não significativo

P<0,01 - Significativo a 1%

P<0,05 - Significativo a 5%

TABELA 7- OOGRAMA DE ANIMAIS INFECTADOS POR *S.mansoni* (CEPA BH) E *T.cruzi* (CEPA Y) E DE ANIMAIS INFECTADOS APENAS POR *S.mansoni* EM DIFERENTES INTERVALOS DE TEMPOS ENTRE AS INFECCÖES (CONTAGEM DE 300 OVOS POR ANIMAL).

EXPERI- MENTO	GRUPO	ESTADIOS EVOLUTIVOS DOS OVOS DE <i>S.mansoni</i> (%)			NIVEIS SIG. (χ^2)
		IMATUROS (1 , 2 , 3 , 4)	MADUROS	MORTOS E CASCAS	
I	A	-	-	-	-
	C	-	-	-	-
II	A	80,8	9,0	10,2	P<0,01
	C	69,2	14,0	16,0	
III	A	64,9	8,3	26,6	P<0,01
	C	62,1	13,0	24,9	
IV	A	54,0	21,8	24,1	P<0,01
	C	43,0	25,9	31,0	
V	A	56,9	10,8	32,3	P<0,01
	C	43,2	8,6	48,2	
VI	A	43,0	10,4	46,5	P<0,01
	C	24,5	11,8	63,7	
VII	A	41,5	13,9	44,5	P<0,01
	C	27,4	12,5	60,0	
VIII	A	24,5	19,6	55,8	P<0,05
	C	28,8	20,3	50,9	
IX	A	84,2	8,5	7,3	P<0,01
	C	78,9	9,3	11,4	
X	A	26,1	10,2	63,7	P<0,01
	C	43,4	10,1	46,4	

A - Infecção mista por *S.mansoni* e *T.cruzi*

C - Infecção somente por *S.mansoni*

P<0,01 - Significativo ao nível de 1%.

P<0,05 - Significativo ao nível de 5%

TABELA 8 - MEDIDA DE GRANULOMAS HEPÁTICOS DE GRUPOS DE ANIMAIS COM INFECÇÃO MISTA POR *S.mansoni* (CEPA BH) E *T.cruzi* (CEPA Y) E DE ANIMAIS COM INFECÇÃO SÓ POR *S.mansoni*, EM DIFERENTES INTERVALOS DE TEMPO ENTRE AS INFECÇÕES. FORAM MEDIDOS 25 GRANULOMAS POR GRUPOS, (CADA GRUPO COM MEDIA DE 5 ANIMAIS)

EXPERI- MENTO	GRUPO	TEMPO DE INF. PELO <i>S.mansoni</i> (DIAS)	TAMANHO DO GRANULOMA ($m\mu$) ($\bar{X}$)		TESTE " T " STUDENT
I	A C	17	-	-	-
II	A C	62	270,7 ± 52,9 258,8 ± 42,3		NS
III	A C	96	256,1 ± 29,0 239,7 ± 27,5		P<0,05
IV	A C	112	258,4 ± 44,0 240,4 ± 36,6		NS
V	A C	122	249,3 ± 29,0 247,7 ± 34,6		NS
VI	A C	133	244,4 ± 33,0 238,0 ± 42,0		NS
VII	A C	197	223,4 ± 33,7 222,9 ± 25,0		NS
VIII	A C	247	214,2 ± 26,6 -		NS
IX	A C	60	324,4 ± 48,3 315,1 ± 46,0		NS
X	A C	120	265,6 ± 53,0 239,8 ± 37,0		NS

A - Infecção mista por *S.mansoni* e *T.cruzi*

C - Infecção só por *S.mansoni*

X - Média de 5 animais por grupo

- - Não foi possível encontrar granulomas

P<0,05 - Significativo ao nível de 5%

NS - Não significativo

TABELA 9 - MEDIDA DA ATIVIDADE CELULAR (CEL B), EM CAMUNDONGOS INFECTADOS POR *S.mansoni* (15 CERCÁRIAS, CEPA BH) E *T.cruzi* (100 FORMAS, CEPA Y) EM DIFERENTES INTERVALOS DE TEMPO ENTRE AS INFECÇÕES.

EXPERI- MENTO	GRUPOS	PICO PARASI- TÊMICO (DIAS)	CFP/10 ⁶ VIAVEIS	CÉLULAS	INIBIÇÃO (%)
I	A	10 ₀	165,7 ±	46,5	94,4
	B	11 ₀	203,0 ±	62,5	93,1
	C	-	2.936,2 ±	791,0	0,7
	D	-	2.958,2 ±	458,1	-
II	A	10 ₀	106,4 ±	39,0	96,2
	B	8 ₀	619,5 ±	357,0	78,0
	C	-	2.239,0 ±	327,0	21,0
	D	-	2.838,0 ±	757,0	-
III	A	9 ₀	135,0 ±	71,0	95,0
	B	11 ₀	79,3 ±	52,4	97,0
	C	-	1.598,5 ±	407,5	42,0
	D	-	2.759,0 ±	635,0	-
IV	A	9 ₀	114,6 ±	46,4	97,0
	B	11 ₀	219,1 ±	343,0	95,3
	C	-	2.769,4 ±	330,5	27,1
	D	-	3.799,0 ±	963,0	-
V	A	10 ₀	200,6 ±	195,4	94,6
	B	10 ₀	79,2 ±	68,0	98,0
	C	-	2.099,4 ±	365,0	43,2
	D	-	3.699,2 ±	653,0	-
VI	A	9 ₀	38,0 ±	21,0	98,5
	B	10 ₀	75,1 ±	66,0	87,0
	C	-	599,2 ±	224,0	78,0
	D	-	2.528,5 ±	623,0	-
VII	A	9 ₀	26,0 ±	14,6	99,0
	B	11 ₀	65,0 ±	29,3	97,0
	C	-	575,0 ±	172,4	70,6
	D	-	1.956,0 ±	311,5	-
VIII	A	10 ₀	41,0 ±	22,0	99,0
	B	10 ₀	80,2 ±	40,1	98,0
	C	-	2.490,5 ±	1.041,0	30,6
	D	-	3.591,0 ±	1.198,0	-

A- Infecção por *S.mansoni* e *T.cruzi*

B- Infecção por *T.cruzi*

C- Infecção por *S.mansoni*

D- Animais normais

TABELA 10 - MEDIDA DE ATIVIDADE CELULAR (CELULA B) EM CAMUNDONGOS COM INFECÇÃO AGUDA E CRÔNICA POR *S.mansoni* (CEPA BH) E CRÔNICA POR *T.cruzi* (CEPA Y).

EXPERIMENTO	GRUPO	PICO PARASI- TÊMICO (DIAS)	CFP / 10 ⁶ VIÁVEIS	CÉLULAS	INIBIÇÃO %
IX	A	-	388,0 ±	330,0	85,3
	B	-	400,0 ±	255,5	84,9
	C	-	989,2 ±	410,5	62,6
	D	-	2.644,0 ±	663,0	-
X	A	-	114,4 ±	89,0	87,5
	B	-	634,5 ±	355,0	30,7
	C	-	395,0 ±	283,0	56,8
	D	-	915,5 ±	867,0	-

A - Infecção por *S.mansoni* e *T.cruzi*

B - Infecção por *T.cruzi*

C - Infecção por *S.mansoni*

D - Animais normais

TABELA 11 - MEDIDA DE REAÇÃO DE HIPERSENSIBILIDADE RETARDADA AO DNFB, EM CAMUNDONGOS COM INFECÇÃO MISTA POR *S.mansoni* (CEPA BH) E *T.cruzi* (CEPA Y) EM DIFERENTES INTERVALOS DE TEMPO ENTRE AS INFECÇÕES.

EXPERI- MENTO	INTERV. ENTRE AS INFECÇÕES (DIAS)	GRUPOS	E/D		NIVEL DE SIGNIFIC. " F "
I	0	A	1,26	± 0,03	NS
		B	1,31	± 0,03	
		C	1,36	± 0,03	
		D	1,31	± 0,04	
II	45	A	1,08	± 0,05	NS
		B	1,28	± 0,08	
		C	1,20	± 0,04	
		D	1,09	± 0,04	
III	80	A	1,30	± 0,02	NS
		B	1,34	± 0,04	
		C	1,30	± 0,04	
		D	1,37	± 0,08	
IV	95	A	1,05	± 0,02	P<0,01
		B	1,32	± 0,05	
		C	1,05	± 0,02	
		D	1,26	± 0,04	
V	106	A	1,10	± 0,05	P<0,01
		B	1,05	± 0,02	
		C	1,24	± 0,04	
		D	1,35	± 0,04	
VI	116	A	1,28	± 0,04	P<0,01
		B	1,50	± 0,07	
		C	1,41	± 0,04	
		D	1,42	± 0,04	
VII	180	A	1,40	± 0,04	P<0,01
		B	1,53	± 0,04	
		C	1,23	± 0,07	
		D	1,57	± 0,05	
VIII	230	A	1,58	± 0,15	P<0,01
		B	1,70	± 0,05	
		C	1,76	± 0,09	
		D	2,06	± 0,11	

A- Infecção por *S.mansoni* e *T.cruzi*

B- Infecção por *T.cruzi*

C- Infecção por *S.mansoni*

D- Animais Normais

TABELA 12- MEDIDA DA REAÇÃO DE HIPERSENSIBILIDADE RETARDADA AO DNFB, EM CAMUNDONGOS COM INFECÇÃO AGUDA E CRÔNICA PELO *S.mansoni* (CEPA BH) E CRÔNICA PELO *T.cruzi* (CEPA Y)

EXPERI- MENTO	INTERV. ENTRE AS INFECÇÕES (DIAS)	GRUPOS	E/D	NIVEL DE SIGNIF. " F "
IX	68	A	1,26 ± 0,02	P<0,01
		B	1,25 ± 0,04	
		C	1,29 ± 0,02	
		D	1,32 ± 0,04	
X	180	A	1,59 ± 0,06	NS
		B	1,56 ± 0,09	
		C	1,42 ± 0,09	
		D	1,47 ± 0,09	

NS - Não significativo

P<0,01 - Significativo a 1%

A- Infecção por *S.mansoni* e *T.cruzi*

B- Infecção por *T.cruzi*

C- Infecção por *S.mansoni*

D- Normais

Resposta Imune mediada por células, avaliada pela relação entre os pesos das orelhas esquerda/direita (E/D). Os resultados expressam a Média Aritmética + EPM.

TABELA 13 - ATIVIDADE FAGOCITÁRIA DE MACRÓFAGOS PERITONEAIS DE CAMUNDONGOS COM INFECÇÃO POR *S.mansoni* (CEPA BH) E *T.cruzi* (CEPA Y) EM DIFERENTES INTERVALOS DE TEMPO ENTRE AS INFECÇÕES. CONTAGEM DE 300 CÉLULAS POR LÂMINA.

EXPERI- MENTO	INT. ENTRE AS INFEÇ. (DIAS)	GRUPO	CEL. COLE- TADAS (x 10 ⁶ CEL.)	FAGITOSE (%)	NIVEL DE SIGNIF. " F "
I	0	A	13,5	6,8	P<0,05
		B	6,2	6,6	
		C	8,7	5,9	
		D	6,2	2,9	
II	45	A	16,6	12,2	P<0,05
		B	10,2	8,3	
		C	9,0	9,9	
		D	10,1	3,5	
III	80	A	36,9	9,9	P<0,05
		B	8,5	9,1	
		C	40,0	7,1	
		D	8,2	4,9	
IV	95	A	33,0	13,1	P<0,05
		B	13,2	10,7	
		C	28,6	16,4	
		D	5,6	6,0	
V	106	A	31,1	9,7	P<0,05
		B	10,0	9,7	
		C	22,8	9,5	
		D	5,5	6,3	
VI	116	A	50,2	9,4	P<0,05
		B	17,4	7,5	
		C	51,8	6,3	
		D	6,3	5,8	
VII	180	A	27,2	10,9	NS
		B	8,5	12,0	
		C	29,8	10,5	
		D	12,6	9,2	
VIII	230	A	18,2	10,6	P<0,05
		B	4,0	8,9	
		C	28,1	8,6	
		D	6,8	6,3	

A- Infecção por *S.mansoni* e *T.cruzi*
 B- Infecção por *T.cruzi*

C- Infecção por *S.mansoni*
 D- Animais Normais

TABELA 14 - ATIVIDADE FAGOCITÁRIA DE MACRÓFAGOS PERITONEAIS DE CAMUNDONGOS COM INFECÇÃO CRÔNICA POR *T.cruzi* (CEPA Y) E AGUDA E CRÔNICA POR *S.mansoni* (CEPA BH). CONTAGEM DE 300 CÉLULAS POR LÂMINA.

EXPERI- MENTO	INT. ENTRE AS INFEÇ. (DIAS)	GRUPO	CEL. COLE- TADAS (x10 ⁶ CEL.)	FAGOCITOSE (%)	NIVEL SIGN. "F"
IX	68	A	36,6	18,9	P<0,05
		B	10,4	22,7	
		C	46,6	20,3	
		D	8,3	16,2	
X	180	A	35,5	7,5	P<0,05
		B	10,4	12,0	
		C	58,0	9,5	
		D	16,0	8,1	

Experimento IX - infecção crônica por *T.cruzi* e aguda por
S.mansoni

Experimento X - Infecção crônica por *S.mansoni* e *T.cruzi*

GRUPO A - Infecção mista

GRUPO B - Infecção por *T.cruzi*

GRUPO C - Infecção por *S.mansoni*

GRUPO D - Animais normais (Controles).

DISCUSSÃO

Em nossos experimentos, camundongos F1 com infecção aguda e crônica por *S.mansoni* (15 cercária da cepa BH) e aguda por *T.cruzi*, cepa Y (100 formas), (Grupo A), apresentaram uma parasitemia moderada, com média de 400 parasitas/mm³ (Fig. 1a a 8a). No geral, seguiram curva já mostrada em trabalhos anteriores, (CORSINI et alii, 1980b), atingindo um pico parasitêmico entre o 9º e 10º dia de infecção, ocorrendo logo após uma diminuição do número de parasitas circulantes e uma tendência para o controle, até o completo desaparecimento dos mesmos. Situação inversa foi verificada com o grupo infectado somente por *T.cruzi* (Grupo B), a parasitemia mostrou-se mais severa, com o pico parasitêmico situado entre o 10º e 11º dia de infecção e com uma média de 640 parasitas/mm³ (Fig. 1a a 8a).

Na fase crônica da infecção por *T.cruzi*, não houve reagudização da parasitemia após infecção por *S.mansoni*.

Nossos resultados são diferentes daqueles obtidos por KLOETZEL (1971, 1973) e GENARO (1982). Muito embora, tenham sido utilizados outras linhagens de camundongos, assim como outra cepa de *T.cruzi* e diferentes doses infectantes. Estes autores citam uma parasitemia mais elevada nos animais com infecção dupla e uma reagudização da parasitemia pelo *T.cruzi*, após infecção pelo *S.mansoni*.

No entanto, resultados semelhantes aos nossos, mostrando uma parasitemia menor nos animais com infecção dupla, foram comentados por LONG et alii (1981), quando a infecção por *Plasmodium chabaudi* em camundongos CBA/Lac foi feita após 49 dias de infecção pelo *S.mansoni*. A infecção patente por *S.mansoni* ou infecção bissexual suprimiu a parasitemia pelo *P.chabaudi* em camundongos, o que não ocorreu quando a infecção pelo *S.mansoni* era pré-patente bissexual ou unissexual (só vermes machos). O contrário ocorre na infecção por *Plasmodium berghei* onde a infecção pelo *S.mansoni* não tem nenhum efeito, (LWIN et alii, 1982).

Quanto à mortalidade, constatamos uma taxa um tanto elevada nos grupos com infecção dupla, mesmo sendo os animais considerados resistentes a 100 formas do *T.cruzi* (CORSINI et alii, 1990a,b). Nos grupos de animais infectados só por *T.cruzi* ou só por *S.mansoni*, também foi verificada uma alta taxa de mortalidade em relação aos controles, principalmente no Experimento II, quando houve 100% de mortalidade e antecipação do pico parasitêmico nos animais do Grupo B (só *T.cruzi*), o que nos impediu de cumprir o protocolo, já que o período estipulado para o acompanhamento da parasitemia foi de 17 dias. No Grupo C (infecção só por *S.mansoni*) apesar da infecção ser considerada leve, as mortes ocorreram após 50 dias de infecção, período em que as fêmeas já começaram a ovipor; isto deve ser levado em conta pela posterior formação de granulomas, que é o fator principal na patologia da doença e segundo NETO et alii (1978), quanto menos verme, maior número de granulomas.

Estudos anteriores haviam demonstrado que a taxa de mortalidade geralmente estava aumentada, nos indivíduos portadores de infecção dupla. Fato verificado por WARREN et alii (1969) na infecção dupla por *S.mansoni* e vírus da hepatite; STRICKLAND et alii (1972) na infecção por *P.berghei* e *Toxoplasma gondii*; KLOETZEL et alii (1973) trabalhando com *T. cruzi* e *S.mansoni* e GENARO (1982) na infecção mista por *S.mansoni* e *T.cruzi* ou *S.mansoni* e *P.berghei*.

MORRISON et alii (1978) trabalhando com *Trypanosoma congolense* e oito linhagens de camundongos inbred, confirmaram haver diferenças na susceptibilidade, pelo tempo de sobrevivência dos animais, que parece estar relacionada com a capacidade de limitar o número de parasitas na circulação, e que por sua vez, relacionada com a natureza ou qualidade da resposta imune inicial ao parasita, ou susceptibilidade a ativação policlonal de B.

Uma alta parasitemia no final da fase aguda, fato que geralmente ocorre nas linhagens susceptíveis, pode ser o resultado de uma proliferação prévia extensiva do parasita e não uma resposta imune deficiente. Por isso mecanismos controladores de proliferação inicial do parasita, podem ser de importância primária para a base de resistência do hospedeiro (TRISCHMANN, 1986).

Também o timo parece ter influência no mecanismo de defesa na doença de Chagas experimental. Camundongos atímicos são altamente susceptíveis ao *T.cruzi* (KIERSZEMBAUN & PIENKOWSKI,

1979), como demonstrado pela parasitemia, mortalidade e diminuição do tempo de sobrevivência. Porém quando é feito o transplante do timo, o nível de resistência ao *T.cruzi* é restaurado. As mesmas observações foram feitas por CORSINI et alii (1981), utilizando camundongos timectomizados, irradiados e reconstituídos com células T imune. Essas células foram extremamente eficientes em controlar a parasitemia e mortalidade nesses animais, independente do tempo entre reconstituição e infecção.

Em 1983, TRISHMANN também demonstrou que mecanismos dependentes do timo seriam responsáveis pelo controle da parasitemia na fase aguda da infecção pelo *T.cruzi*.

É provável que a elevação na taxa de mortalidade verificada nos grupos com infecção mista, se deva a interação entre as duas parasitoses, desencadeando no organismo distúrbios imunológicos, favorecendo a instalação de outros agentes patogênicos e consequentemente a morte.

Não foi possível fazer nenhuma correlação entre mortalidade e o nível de parasitemia, visto que, na maioria das vezes, as mortes ocorreram após o pico parasitêmico, assim como também verificamos alta taxa de mortalidade no Experimento X, onde não houve reagudização da parasitemia.

Outra provável explicação para a alta mortalidade nas infecções mistas, seria o tempo de infecção pelo *S.mansoni*. No Experimento I, onde os animais foram infectados pelos dois

parasitas ao mesmo tempo, e o tempo de duração do experimento foi de apenas 17 dias, não observamos mortalidade, visto que esse período não é suficiente para o início de postura pelos vermes fêmeas.

O peso corporal dos camundongos infectados quando comparados ao peso dos animais normais, é um parâmetro que deve ser levado em conta no quadro da esquistossomose.

De um modo geral, em quase todos os experimentos realizados, os animais tiveram ganho de peso, em especial os animais com infecção mista (grupo A), quando comparados aos seus controles (Tabela 3). O ganho de peso dos animais com infecção só por *T.cruzi* (grupo B), foi menor em relação ao ganho de peso nos esquistossomóticos (grupo C), e os dois, quando comparados aos animais normais (grupo D).

Quando a infecção por *T.cruzi* precedeu a infecção por *S.mansoni*, o grupo infectado só por *T.cruzi*, foi quem apresentou maior peso corporal final, muito embora os outros grupos também tenham demonstrado ganho de peso (Tabelas 2 e 3, Figura 9).

Nossos resultados discordam de outros já citados anteriormente por diversos autores. STRICKLAND (1972), demonstrou que numa infecção com *T.gondii* e *P.berghei*, os animais com infecção dupla perderam peso, em relação aos controles; do mesmo modo GENARO (1982), trabalhando com *T.cruzi* e *S.mansoni* e *P.berghei* e *S.mansoni*, observou que nos dois experimentos, todos os grupos de animais experimentais apresentaram redução no peso,

principalmente naqueles com infecção dupla. Uma exceção, quando *P.berghei* precedeu a infecção por *S.mansoni*, onde todos os grupos ganharam peso, inclusive naqueles com infecção mista. Neste caso a infecção pelo plasmódio estava na fase crônica, os animais estavam parasita negativo e recuperados da infecção. GENARO (1982) lançou uma hipótese de que a anemia verificada na fase aguda da malária, seria um dos fatores limitantes para o desenvolvimento normal dos animais.

Em todos os experimentos, independente da fase evolutiva da infecção, os animais com infecção mista apresentaram uma esplenomegalia mais acentuada, muito embora, os animais com uma única infecção também mostraram um significativo aumento do baço em relação aos normais.

A hepatomegalia, também foi mais acentuada nos grupos com infecção mista que nos controles. Um fato porém ficou evidente, a hepatoesplenomegalia observada nos animais infectados por *S.mansoni* foi mais acentuada em torno da 8ª semana de infecção e há uma tendência à regressão à medida que a infecção vai se tornando crônica. (Tabelas 4 e 5, Figuras 10 e 11).

A hepatomegalia, uma característica da infecção por *S.mansoni*, está relacionada com resposta imune mediada por células T, que é observada em forma de granuloma em volta do ovo de *S.mansoni*, depositado no fígado. Como consequência das múltiplas reações granulomatosas no órgão, sua função é alterada, ocorrendo hipertensão portal e circulação colateral. Segundo

ZANOTTI (1980), nas infecções unissexuais (ausência de ovos), observa-se apenas discreto aumento de fígado e baço.

A esplenomegalia verificada tanto na infecção por *T.cruzi* quanto por *S.mansoni*, tem sido discutida por vários autores.

Na infecção por *T.cruzi* principalmente durante a fase aguda, a esplenomegalia deve-se provavelmente a ativação policlonal de células B, detectada por CFP espontânea em resposta a trinitrofenil e a hemácias de carneiro e equinos. Essa ativação poderia ser responsabilizada pelas anormalidades na síntese e secreção de Ig, que geralmente ocorre nas infecções por *T.cruzi* em humanos, (ORTIZ-ORTIZ et alii 1980; CORSINI et alii 1981a). Segundo D'IMPÉRIO LIMA et alii (1986), essa ativação dura pelo menos 6 meses e, tanto os animais de linhagens susceptíveis quanto os resistentes, desenvolvem altos números de CFP no baço e linfonodos com predominância dos isotipos IgG2a e IgG2b.

BRODSKYM et alii (1989) confirmam esses resultados quando estudaram o papel das diferentes subclasses de imunoglobulinas no clearance imune do *T.cruzi* em camundongos.

Quanto à esplenomegalia verificada na esquistossomose, ANDRADE (1962), ela é consequência da hiperplasia das células do sistema monocítico fagocitário e da congestão venosa que aparece tardiamente e se manifesta pela dilatação dos seios venosos, com hiperplasia e hipertrofia da trama reticular.

Segundo PHILLIPS et alii (1977), os mecanismos imunológicos com participação de células T, de algum modo estão influenciando o peso do fígado e do baço dos animais com infecção por *S.mansoni*. Visto que nos animais atômicos e infectados, o peso desses órgãos era menor do que naqueles animais normais ou reconstituídos por enxerto de timo.

GENARO (1982), estudando infecção mista por *S.mansoni* e *T.cruzi* ou *S.mansoni* e *P.yoelli*, observou também que os animais com infecção dupla, apresentaram acentuada esplenomegalia quando comparados a seus controles, principalmente no período patente da infecção por *S.mansoni*.

Em resumo, a esplenomegalia induzida por *T.cruzi* foi potencializada por *S.mansoni*, resultando num aumento excessivo do baço, fato verificado nas infecções mistas. Como nos grupos com infecção dupla os granulomas são maiores, e sendo estes os responsáveis pela presença de varises esofágicas e aumento da pressão portal levando a obstrução (HARRISON et alii, 1982; WILSON et alii, 1983 e DOENHOFF et alii, 1986), sugere-se que esses dados venham dar suporte aos achados de D'IMPERIO LIMA (1986), de que existe ativação policlonal de células T na infecção pelo *T.cruzi*.

Analisando os resultados da recuperação de vermes, após perfusão do sistema porta hepático e veias mesentéricas, de camundongos com infecção dupla por *S.mansoni* e *T.cruzi*, constatamos que ficou em torno de 40%, considerando a utilização

de 15 cercárias por animal. Quando a infecção por *S.mansoni* precedeu a infecção por *T.cruzi*, o número total de vermes recuperados, no geral, não foi muito diferente entre os grupos; contudo, quanto à sua localização, havia uma preferência pelas veias mesentéricas (Tabela 6).

O mesmo entretando não ocorreu quando a infecção pelo *T.cruzi* precedeu a infecção pelo *S.mansoni*. A taxa de recuperação de vermes nos camundongos com infecção dupla, foi significativamente maior em relação aos controles infectados só por *S.mansoni*; bem como, quanto à sua localização. Com a esquistossomose na fase aguda, constatou-se maior concentração nas veias mesentéricas; enquanto que na infecção crônica pelos dois parasitas, houve preferência pela veia porta. Apenas no Experimento I, onde os animais receberam os dois parasitas ao mesmo tempo, e durando o experimento apenas 17 dias não foi possível a recuperação. Segundo GEORGI et alii (1987) a infecção seguindo o ritmo normal de evolução, a maior concentração de vermes seria nos pulmões, órgão no qual não foi feita a pesquisa (Tabela 6).

GENARO (1982), fazendo avaliação dos esquistossômulos recuperados de camundongos nesse tipo de experimento, em que foi utilizado *T.cruzi* ou *P.berghei*, verificou um retardamento no desenvolvimento desses vermes. Resultados semelhantes foram obtidos anteriormente por CHRISTENSEN et alii (1978), trabalhando com *S.mansoni* e *Fasciola hepatica*. O autor observou que, se a infecção primária era por *S.mansoni*, não estava afetada; no

entanto, quando o processo de infecção foi invertido, com a infecção primária sendo por *F.hepatica*, houve redução na recuperação de *S.mansoni*, traduzindo uma certa resistência ao trematódeo.

KLOETZEL et alii (1971, 1973), verificaram que camundongos com infecção dupla por *S.mansoni* e *T.cruzi*, apresentaram uma carga de vermes menor que o controle, e quando o *T.cruzi* precedia o *S.mansoni*, a maturação do verme estava retardada, no grupo com infecção mista. MAHMOUD et alii (1976) confirmam estes resultados, observando redução na carga de verme em até 40% quando a infecção por *Toxoplasma gondii* precedia a infecção por *S.mansoni* em camundongos; fato não observado quando o processo de infecção é invertido, *S.mansoni* precedendo *T.gondii*.

GUARALDO (1987), estudando animais com deficiência em proteínas e infectados por *S.mansoni*, verificou que os vermes além de terem sua maturação retardada, também sofreram redução do comprimento, corroborando com a idéia de que a desnutrição pode levar o animal a supressão de suas respostas imunológicas, bem como algumas drogas imunossupressoras tais como a ciclofosfamida e o acetato de hidrocortisona, que reduzem a quantidade de vermes maduros e afetam a postura dos vermes fêmeas de *S.mansoni*, quando administradas na primeira semana de infecção. (HARRISON & DOENHOFF, 1983).

Em 1979, MAHMOUD et alii, observaram que macrófagos retirados de camundongos tratados com BCG tinham a capacidade de

destruir esquistossômulos "in vitro".

Segundo JAMES et alii (1982), vários patógenos intra ou extracelulares, ativam macrófagos durante a fase crônica da infecção, adquirindo atividade microbicida, contra o agente infectante e ainda são capazes de destruir inespecificamente outros organismos não relacionados ao agente responsável pela ativação, podem ser bactérias ou protozoários e até mesmo parasitas multicelulares.

Considerando-se que o *T.cruzi* ativa macrófagos (HOFF, 1975; NOGUEIRA et alii, 1977, 1982), assim como o *S.mansoni* (ESPARZA et alii, 1988) e sendo essas células importantes por participarem do mecanismo de proteção inespecífica contra outros organismos (MAHMOUD et alii, 1976); nossos resultados sugerem que os animais infectados por *T.cruzi* (infecção na fase crônica), não adquiriram resistência contra a infecção por *S.mansoni*. O mesmo ocorrendo, quando a infecção por *S.mansoni* estava na fase aguda, o *T.cruzi* pareceu não exercer nenhum efeito sobre os vermes de *S.mansoni*.

O número de ovos eliminados nas fezes, assim como o número de ovos retidos nos tecidos humanos está linearmente relacionado com o número de vermes fêmeas que consegue chegar ao seu pleno desenvolvimento (CHEEVER, 1968; CHEEVER et alii, 1977).

O padrão do oograma em nossos experimentos foi claro. A medida que a infecção por *S.mansoni* se tornava crônica, verificamos haver uma diminuição do número de ovos imaturos e

consequentemente um aumento do número de ovos maduros e mortos; como também uma diferença na distribuição entre imaturos, maduros e mortos. Na fase aguda da infecção pelo *T.cruzi*, os animais com infecção dupla apresentaram maior número de ovos imaturos que seus controles. A situação se inverte quando a infecção pelos dois parasitas se torna crônica, os animais apresentam maior número de ovos mortos (Tabela 7).

Nossos dados sugerem que a infecção aguda por *T.cruzi*, está influenciando na maturação dos ovos (Tabela 7, do Experimento II ao VIII) retardando o processo, enquanto que na fase crônica das infecções (Tabela 7 Experimento X), o aumento do número de ovos mortos sugere, um envelhecimento dos vermes, com a provável diminuição do número de vermes vivos e até uma possível diminuição da oviposição pelas fêmeas.

Resultado semelhante foi observado por ROCHA et alii, (1980), onde camundongos infectados por *S.mansoni* e *Escherichia coli*, apresentaram mudança significativa no padrão de postura dos ovos nos tecidos; como se os vermes tivessem parado a oviposição.

Camundongos suprimidos pela depleção de células T por timectomia, administração de soro anti timócito ou drogas supressoras, (DOENHOFF et alii, 1978, 1981; MOLONEY et alii, 1982; DUNNE et alii, 1983) e infectados com *S.mansoni*, tiveram diminuída sua capacidade de excretar ovos nas fezes. Observações prévias indicam que pares de vermes produzem menos ovos em camundongos suprimidos, que nos animais imunologicamente intactos, até mesmo

quando a carga de vermes é maior (DOENHOFF et alii, 1978b). A inoculação de soro imune, pode restaurar a produção e excreção de ovos (DOENHOFF et alii, 1981).

Não nos foi possível fazer o oograma dos animais no Experimento I, onde os animais receberam os dois parasitas ao mesmo tempo. Este experimento durou apenas 17 dias, não sendo suficiente para o completo desenvolvimento dos vermes e portanto não tem ovos. ZANOTTI et alii (1983) detectaram a ocorrência de ovos de *S.mansonii* nas fezes somente a partir da 5ª semana de infecção.

A reação granulomatosa induzida pelos ovos de *S.mansonii* nos tecidos do hospedeiro, é a grande responsável pelo quadro clínico apresentado pelo esquistossomótico. É uma reação induzida por antígeno e mediada por células (MITCHELL, 1979).

Nesse trabalho pudemos verificar que os granulomas seguiram um padrão de desenvolvimento já descrito anteriormente por GUARALDO (1987). Houve um período de crescimento no qual os granulomas chegaram ao tamanho máximo até a 8ª semana de infecção, a partir da qual começaram a apresentar um fenômeno de regressão, conhecido como modulação, tanto nos animais com infecção dupla, quanto nos controles. O diâmetro dos granulomas nos animais duplamente infectados sempre foi maior; também estava evidente um aumento no número de granulomas por corte histológico e da ocorrência de granulomas com múltiplos ovos nesses grupos.

Na fase aguda da esquistossomose e crônica da doença de Chagas, as reações granulomatosas apresentaram diâmetros semelhantes nos dois grupos de animais (infecção mista e controle). A medida que a infecção por *S.mansoni* foi se cronificando, o fenômeno da redução também foi visível; porém, mesmo após redução, o diâmetro das reações granulomatosas ainda estavam maiores do que os apresentados nas infecções agudas por *T.cruzi*.

Fato inesperado ocorreu no grupo controle do Experimento VIII, onde não foi possível medir granulomas pela total ausência dos mesmos. O fato está sendo analisado, para posterior esclarecimento. HARRISON et alii (1982), comentam que, grande quantidade de vermes machos, tem a capacidade de suprimir a produção de ovos pelas fêmeas.

De um modo geral parece que a infecção pelo *T.cruzi*, não teve efeito supressor sobre o granuloma. Não foi detectada a supressão da resposta celular, que tem como consequência a redução dos granulomas; fato que é relacionado por alguns autores já citados (PHILLIPS et alii, 1977; CHENSUE & BOROS, 1979).

Nossos dados contrastam com os de outros autores, que citam uma diminuição da resposta celular, tendo como consequência a redução dos granulomas nas infecções mistas por *Toxoplasma gondii* e *S.mansoni* (MAHMOUD et alii, 1977) e *T.cruzi* e *S.mansoni* (GENARO, 1986); muito embora esses pesquisadores utilizaram inóculos maiores, outras linhagens de camundongos e outros parasitas.

Em 1965, CHEEVER fez estudos comparativos da evolução da esquistossomose utilizando camundongos e hamster. A obstrução portal foi maior nos camundongos, como consequência da maior carga de ovos no fígado. Os granulomas atingiram seu tamanho máximo entre a 7ª e 12ª semana após infecção, apresentando a seguir uma redução do seu diâmetro devido à reação fibrótica que se instala. Os granulomas eram menores em infecções leves e maiores nas infecções consideradas pesadas.

A modulação espontânea do granuloma foi também descrita por DOMINGO & WARREN (1968); BOROS et alii (1975); CHENSUE et alii (1980) e FELDMEIER et alii (1985) e KAMAL et alii (1989).

Em 1986, CHEEVER, estudando a modulação da patogênese hepática em função da intensidade da infecção por *S.mansoni*, em 8 linhagens de camundongos, obteve resultados interessantes. Há uma variação na resposta entre as linhagens; porém fica claro que o tamanho do granuloma e a fibrose hepática diminui, com o aumento da intensidade da infecção por *S.japonicum*, principalmente nos camundongos da linhagem C57 Bl/6; podendo ocorrer o mesmo com a infecção por *S.mansoni* (WELHAUSEN & BOROS, 1982).

Investigando um provável papel do anticorpo na patogênese do granuloma hepático, CHEEVER et alii (1985), depletou camundongos de suas células B com soro anti IgM e posteriormente infectou com *S.mansoni* ou *S.japonicum*. Após o período pré-estabelecido, verificou que o anticorpo e imune complexos não são necessários para a formação dos granulomas;

eles estavam presentes mesmo nos animais depletados de células B.

Quanto a resposta imune humoral pudemos verificar que, durante a fase aguda da infecção por *T.cruzi*, ocorreu acentuada diminuição da resposta frente a hemácias de carneiro, principalmente em torno do pico parasitêmico. A resposta foi suprimida em cerca de 97% no número de CFP nos animais com infecção dupla e 94% nos animais com infecção somente por *T.cruzi*.

Os animais infectados somente por *S.mansoni*, no geral não sofreram grandes alterações no número de CFP quando comparados aos animais normais. Apenas nos experimentos cujos intervalos entre as infecções foram de 116 e 180 dias, quando a infecção por *S.mansoni* entrava na fase crônica, verificamos haver uma supressão da resposta a hemácias de carneiro em torno de 74,5% (Tabela 9).

O alto nível de supressão da resposta imune humoral a hemácias de carneiro, observado nos grupos com infecção mista (A), se deve em grande parte a ação do *T.cruzi*, visto que a supressão causada pelo *S.mansoni* é dependente da carga de verme infectante. Fato comprovado nos grupos com infecção apenas por *S.mansoni* (C), onde os níveis de supressão foram menores, principalmente na fase aguda da infecção pelo helminto (Tabela 9)

Quando a infecção por *T.cruzi* está na fase crônica e a infecção por *S.mansoni* está na fase aguda ou crônica, a imunossupressão foi verificada nos 3 grupos de animais infectados

multo embora esta supressão tenha se situado em níveis inferiores (Tabela 10). O resultado apresentado pelos animais com infecção dupla na fase crônica (Experimento X), é provavelmente consequência da cronicidade da infecção por *S.mansoni*, visto que os animais com infecção por *T.cruzi* tendem a sair do estado supressivo à medida que a infecção se cronifica.

Observamos também que o grupo controle apresenta número de CFP menor que grupos controles dos outros experimentos. Atribuímos tal fato, provavelmente ao fator idade desses animais, visto que a duração do experimento foi de 300 dias (Tabela 10).

Nossos resultados são semelhantes àqueles já relatados por outros autores, trabalhando inclusive com outros parasitas.

GOODWIN et alii (1972), verificaram que o aumento da parasitemia e conseqüentemente a massiva carga antigênica, pode alterar, por bloqueio ou por competição antigênica a função das células envolvidas na resposta imune.

Na tripanosomíase experimental, MURRAY et alii (1974 b) demonstraram através das técnicas de hemaglutinação e CFP, que células de camundongos infectados com *T.brucei*, após sofrerem proliferação celular e produção de anticorpos induzidos por LPS, tiveram a resposta suprimida no 7º dia.

CLINTON et alii (1975), descreveram uma diminuição da resposta imune humoral a eritrócitos de burro, nos camundongos infectados com *T.cruzi* e sugerem que a diminuição da resposta

esteja relacionada ao grau de parasitismo. Já em 1977, SCHMUNIS et alii injetando *T.cruzi* junto com hemácias de carneiro em camundongos, verificaram que a capacidade das células esplênicas em formar rosetas estava diminuída nas infecções por grandes inóculos.

PEARSON et alii (1978, 1979) e ROELANTS et alii (1979) também utilizando células esplênicas de camundongos infectados com *T.congolense*, verificaram que as células não tinham capacidade de proliferar frente a mitógenos de células T e B. Numa reação de enxerto de pele alogeneica demonstraram que a resposta dos linfócitos estava diminuída.

Ainda na infecção experimental por *T.cruzi*, CORSINI et alii (1980a) obtiveram supressão da resposta humoral secundária (IgG) em camundongos (CBA x C57 Bl/10)F1 imunizados com HC e infectados com 100 formas da cepa Y oito dias antes da dose reforço, detectando através da técnica de CFP, supressão de IgG, não estando presente a supressão de IgM. Estes fatos confirmam a grande susceptibilidade da resposta humoral, particularmente na produção de IgG, na infecção pelo *T.cruzi* a exemplo do que ocorre nas infecções pelos tripanosomas africanos (SACKS et alii, 1980).

Em 1981, CORSINI et alii, utilizando extrato preparado de tripomastigotas circulantes (EBTri), verificaram um aumento significativo do número de CFP contra hemácias de carneiro a partir do 3º dia da inoculação, sugerindo a existência de

atividade mitogênica no EBTr1. Verificaram ainda que, tanto a resposta imune primária quanto a secundária, foram suprimidas quando o EBTr1 foi inoculado antes do antígeno (HC). Esses fatos levaram os autores a sugerirem que, também na infecção por *T.cruzi* poderia ocorrer uma ativação policlinal de células B.

Por outro lado, nas infecções por *S.mansoni*, alguns autores também descrevem a ocorrência de supressão da resposta imune a hemácias de carneiro.

MOTA-SANTOS et alii (1976, 1977), verificaram imunossupressão a hemácias de carneiro, em camundongos infectados com 50 cercárias, sendo essa supressão induzida por vermes adultos e não pelos ovos. Quando os animais eram infectados com 25 cercárias a supressão mostrava-se transitória, durando o estado supressivo cerca de 10 dias. Verificaram ainda os autores que, numa infecção abaixo de 25 cercárias não ocorria imunossupressão.

Existem evidências que os antígenos envolvidos na imunossupressão são originários da membrana de superfície do parasita (DESSAINT et alii, 1977).

Quanto à resposta imune mediada por células do tipo hipersensibilidade retardada, verificamos que ocorria uma variação muito grande no tipo de resposta ao DNFB entre os grupos experimentais e os controles, quando a infecção por *S.mansoni* precedia a infecção por *T.cruzi*. Contudo, no Experimento IV quando o intervalo entre as infecções foi de 95 dias, pudemos verificar uma diminuição da resposta, principalmente nos animais

com infecção dupla, (Tabela 11). Nesse período a infecção por *T.cruzi* estava na fase aguda e a infecção por *S.mansoni* estava caminhando para a cronicidade. Os grupos infectados somente por *T.cruzi* ou somente por *S.mansoni*, às vezes sugeriam uma leve supressão, outras vezes, mostrava uma resposta imune mediada por células aumentada em relação aos normais.

Uma diminuição da resposta imune também foi verificada nos animais com infecção mista quando a infecção pelo *T.cruzi* precedeu a infecção pelo *S.mansoni*, estando a doença de Chagas na fase crônica, porém a esquistossomose na fase aguda. Na fase aguda e/ou crônica da esquistossomose e tripanosomíase, verificamos que todos os grupos mostraram respostas aparentemente semelhantes (Tabela 12).

Nossos dados sugerem que a supressão da resposta imune do tipo retardada ao DNFB nos grupos com infecção mista (A), deve-se a ação conjunta dos dois parasitas sobre as células do sistema imune, visto que quando os animais receberam isoladamente apenas 100 formas do *T.cruzi* ou 15 cercárias de *S.mansoni* não apresentaram imunossupressão.

A literatura mostra que, a resposta imune tipo hipersensibilidade retardada na doença de Chagas experimental, tem sido descrita por vários autores. REED et alii (1977), descreveram a supressão da resposta imune a oxazolona e Adjuvante Completo de Freund em camundongos Swiss infectados pela cepa Tulahuem. ROWLAND & KUHN (1978), descreveram a supressão da hipersensibili-

dade do tipo retardado ao PPD e a um extrato de epimastigotas na infecção aguda por *T.cruzi*.

CORSINI et alii (1980d), tentando correlacionar hipersensibilidade com susceptibilidade ao *T.cruzi*, verificaram que, tanto os animais considerados resistentes a uma infecção por 100 formas cepa Y (CBA x C57 Bl/10)F1), quanto aqueles considerados susceptíveis (C3H) a esse inóculo, responderam normalmente com reação de hipersensibilidade do tipo retardada, quando sensibilizados e desafiados com DNFB; observando inclusive um ligeiro aumento da resposta pelos animais C3H infectados.

Segundo TEIXEIRA et alii (1975, 1979), parece existir dois tipos de pacientes com doença de Chagas na fase aguda. Um tipo em que todos os sintomas são aparentes, se igualam aos indivíduos normais, são positivos para resposta do tipo retardado e reagem às drogas sensibilizantes, e o outro, cujos sintomas são inaparentes, são negativos para o tipo de resposta a antígenos de *T.cruzi* assim como também não reagem ao DNCB. Sugerem os autores, que as funções dos linfócitos T, estariam suprimidas em pacientes nos quais a doença está clinicamente aparente e a imunossupressão é adquirida à medida que a doença evolui para a cronicidade.

Algumas hipóteses são levantadas, tentando explicar a não alteração da hipersensibilidade ao efeito imunossupressor das tripanosomíases: as subpopulações de células T envolvidas na reação de hipersensibilidade não seriam tão susceptíveis à supressão causada pelo tripanosoma (ASKONAS et alii 1979); as

funções dos macrófagos que funcionam como células efetoras, estariam preservadas (CLAYTON, 1979) e o número de macrófagos no local da reação poderia superar a ação supressora das células T (CORSINI et alii, 1980d).

Recentemente LIEW et alii (1988), descreveram a presença de uma substância supressora no sobrenadante de cultura de células T esplênicas de camundongos CBA infectados com *T.cruzi*. Essa substância tem a capacidade de inibir a indução da resposta do tipo hipersensibilidade retardada a vários antígenos.

Nas infecções por *S.mansoni*, a resposta imune do tipo hipersensibilidade retardada também tem sido discutida por vários autores. ROCKLIN et alii (1980), constataram uma diminuição da resposta imune mediada por células frente a antígenos solúveis de *S.mansoni* (SEA) e PPD, em crianças do Kênia infectadas por esse helminto. Sugerem os autores que, fatores presentes no soro, (complexos Ag-Ac) e a presença de células supressoras antígeno específicas estariam influenciando o tipo de resposta.

Mais recentemente, GUARALDO (1987), estudando o efeito da subnutrição e da esquistossomose sobre a imunidade celular, utilizando o teste de hipersensibilidade cutânea ao DNCB verificou que a resposta dos camundongos infectados e submetidos a dois tipos de dieta, hipo e normoproteica, foi menor que dos animais não infectados. Ressalta pois a autora, a influência da esquistossomose sobre os linfócitos T, assim como evidencia a ação da subnutrição modificando a resposta imune principalmente

do tipo retardada.

No que se refere à capacidade fagocítica de células da cavidade peritoneal de animais, com infecção mista por *S.mansoni* e *T.cruzi* e seus controles, esta foi avaliada utilizando hemácias de carneiro, no dia do pico de parasitemia pelo *T.cruzi*.

Constatou-se que havia um maior afluxo de células para o local (peritônio), nos animais com infecção mista (A) e nos animais infectados apenas por *S.mansoni* (C), sugerindo que esse parasita não induz os linfócitos a uma inibição da migração de macrófagos (Tabela 13 e 14). Enquanto que nos animais com infecção só por *T.cruzi* (B), verificamos uma significativa diminuição do número de células fagocíticas no peritônio.

Quanto ao índice de fagocitose, observamos que as células fagocíticas retiradas de camundongos experimentais e independente do intervalo entre as infecções, tiveram sua atividade fagocítica levemente aumentada em comparação aos animais normais, como resultado da ação ativadora dos parasitas (Tabelas 13 e 14).

Evidências indicam que os macrófagos sozinhos ou por efeito cooperativo com linfócitos, participam do controle da infecção por *T.cruzi* no hospedeiro vertebrado. Fato verificado por KIERSZEMBAUN et alii (1974), quando inocularam *T.cruzi* em camundongos previamente tratados com partículas de sílica, um mineral, que é tóxico para macrófagos. Esses animais tiveram

níveis de parasitemia e mortalidade aumentados, depois do desafio com formas sanguícolas virulentas; enquanto que a estimulação de macrófagos com Dietilstibioestrol (DES), diminuiu a severidade da infecção. Sugerem os autores que a fagocitose de parasitas por macrófagos normais representaria um mecanismo de defesa contra o *T.cruzi*. Demonstraram ainda os autores que macrófagos coletados de cavidade peritoneal logo após a inoculação intraperitoneal de formas sanguícolas, continham em seu interior parasitas degenerados.

O mesmo resultado não foi observado, quando a infecção foi por formas sanguícolas da cepa macrofagocitária (ALCANTARA & BRENER, 1978a). Segundo esses autores a cepa Y de *T.cruzi* é mais efetiva para macrófagos que a cepa CL. Os parasitas conseguem completar seu ciclo de vida dentro dos macrófagos normais e até mesmo dos ativados com Tioglicolato. Aos parasitas opsonizados, os macrófagos reagem de forma diferente: os da cepa Y, tem seu ciclo normal, enquanto os da cepa CL, são destruídos. Fato provavelmente relacionado a componentes da membrana do parasita ou diferença nos receptores dos macrófagos, influenciando a endocitose e depois o desenvolvimento intracelular do parasita.

Segundo BRENER (1982), alguns problemas críticos na interação entre *T.cruzi* e célula hospedeira, tais como: adesão e interiorização podem depender de fatores relacionados a membrana de superfície do parasita. Componentes da membrana poderiam influenciar o destino do parasita no hospedeiro vertebrado enfrentando fatores do soro tais como anticorpo e complemento e

as células imunologicamente competentes.

OSSUNA et alii (1986), observaram que as formas infectantes tem a capacidade de aumentar o pH citoplásmico da célula fagocítica do hospedeiro impedindo a fusão lisossomal e a subsequente destruição do parasita.

Já em 1977, CORSINI et alii demonstravam que macrófagos peritoneais de camundongos infectados com *T.brucei*, quando adicionados a culturas de células esplênicas normais, suprimiam a resposta proliferativa induzida por LPS. Mesmo com a remoção dos macrófagos, as células não tiveram restaurada a capacidade de responder ao mitógeno em questão. Segundo os autores células T supressoras, presentes em animais infectados, são em parte responsáveis pela deficiência verificada nas células esplênicas desses animais a responderem normalmente ao LPS em cultura.

Numa infecção por *S.mansoni*, a indução da atividade esquistossomicida em macrófagos peritoneais, pode ser conseguida por γ -Interferon e outras linfoquinas derivadas de clones de células T. Macrófagos de camundongos injetados com sobrenadante de cultura de células T, mataram esquistossômulos "In Vitro" na presença de LPS (KUBELKA et alii, 1986).

É possível que diferentes mecanismos ao invés de apenas um único, estejam envolvidos na expressão final da resposta imune (MITCHELL 1980). Como exemplo podem ser citados: a) uma desorganização dos órgãos linfóides, principalmente nas infecções maláricas e por tripanosoma envolvendo esplenomegalia (ALBRIGHT et

alii, 1977; GREENWOOD, 1974; MURRAY et alii, 1974); b) extratos de parasitas tem efeito citotóxico ou inibidor nas células linfóides do hospedeiro (DESSAINT et alii, 1977); c) redução da imunogenicidade por alteração no processamento do antígeno pelo sistema fagocítico (MURRAY et alii, 1974a; RAMOS et alii, 1979); d) exaustão clonal de células B e T especificamente reativas (MITCHELL, 1979) podem levar a geração de células T supressoras e de macrófagos (CORSINI et alii, 1977); e) substâncias supressoras liberadas no soro pelo parasita (CUNNINGHAM et alii, 1980; LIEW et alii, 1988); f) alteração nas funções das células acessórias (KIERSZEMBAUN & BUDZUKO, 1982); g) redução do número de células T no baço (HAYES & KIERSZEMBAUN, 1981) h) alteração na produção de linfócitos (BELTZ & KIERSZEMBAUN, 1987); i) alteração das células envolvidas na resposta imune por bloqueio ou por competição antigênica (GOODWIN et alii, 1972); j) interferon influenciando na função das células B e T; k) bloqueio da resposta imune por imunocomplexos (MURRAY et alii, 1974); l) através de anticorpos antiidiotípicos (MITCHELL, 1980).

Nossos resultados demonstram a existência de algumas interações e suas consequências, na infecção mista entre o *S.mansoni* e o *T.cruzi*, sugerindo ser importante a continuação dos trabalhos, para que outros parâmetros possam ser estudados e algumas dúvidas esclarecidas; principalmente no que diz respeito a alta taxa de mortalidade, fato comum em algumas áreas endêmicas, onde é grande a ocorrência dessas associações parasitárias.

RESUMOS E CONCLUSOES

É muito comum encontrar pessoas multiparasitadas, principalmente nos países subdesenvolvidos. Partindo disso, entendemos ser de grande importância, o estudo de alguns aspectos desse tipo de interação.

O objetivo desse trabalho, foi estudar alguns aspectos, do ponto de vista parasitológico e imunológico da infecção múltipla envolvendo *T.cruzi* (cepa Y) e *S.mansoni* (cepa BH) em camundongos (CBA x C57 Bl/10)F1, obedecendo intervalos de tempos variados entre as infecções. Os intervalos variaram de 0 a 230 dias com a infecção por *S.mansoni* precedendo a infecção pelo *T.cruzi* e de 68 e 180 dias com a infecção por *T.cruzi* precedendo a infecção pelo *S.mansoni*.

Um lote inicial de aproximadamente 58 animais foi dividido em dois. Um deles (grupo I) foi infectado com *S.mansoni*, o outro permaneceu normal (grupo II); o grupo I originou os grupos A e C e o grupo II deu origem aos grupos B e D. A intervalos de tempo previamente determinado os grupos A e B receberam o *T.cruzi*. Isto para observar a infecção por *T.cruzi* na fase aguda e por *S.mansoni* na fase aguda e crônica.

Para estudar a infecção por *T.cruzi* na fase crônica e *S.mansoni* na fase aguda e crônica os camundongos do grupo I foram

divididos em grupos A e B , os quais foram infectados primeiramente por *T.cruzi* e o grupos II deu origem aos grupos C e D . Após 68 e 180 dias os animais dos grupos A e C foram infectados por *S.mansoni* .

Assim é que em nossos estudos observamos:

- curva de parasitemia determinada pelo *T.cruzi*
- taxa de mortalidade
- hepatoesplenomegalia
- evolução do peso corporal
- carga de vermes
- oograma
- resposta imune ao nível de células B e T medida através de CFP, reação de hipersensibilidade retardada ao ovo e *S.mansoni* e frente ao DNFB.
- quantificação da atividade fagocítica de células da cavidade peritoneal

Resumindo nossos resultados temos:

1- os animais (CBA x C57 BI/10)F1, especialmente as fêmeas são resistentes ao inóculo de 100 formas da cepa Y do *T.cruzi*, assim como a uma infecção com 15 cercárias da cepa BH de *S.mansoni*.

2- A esquistossomose tanto na fase aguda quanto na fase crônica, não exacerbou a parasitemia pelo *T.cruzi* na fase aguda, como também não induziu a uma reagudização da parasitemia quando a infecção pelo protozoário se tornou crônica.

3- A taxa de mortalidade apresentou-se mais elevada nos grupos com infecção mista e nos animais infectados somente por *T.cruzi*, haja visto uma taxa de 100 % de mortalidade nos Experimentos II e VIII. Os óbitos ocorreram na maioria das vezes após o pico parasitêmico, enquanto que nos animais com infecção somente por *S.mansoni*, os óbitos foram observados a partir do 50º dia de infecção, com um aumento substancial entre o 80º e 110º dia.

4- A interação entre *S.mansoni* e *T.cruzi* de um modo geral, não interferiu no desenvolvimento normal dos animais, visto que na maioria dos experimentos houve ganho de peso.

5- Todos os animais apresentaram esplenomegalia independente da infecção estar na fase aguda ou crônica.

6- Os animais com infecção dupla ou com infecção somente por *S.mansoni* na fase aguda apresentaram aumento do peso do fígado.

7- Quando os animais com infecção dupla estavam na fase aguda da tripanosomíase e na fase aguda ou crônica da esquistossomose, não ocorreu alteração do número de vermes recuperados. No entanto quando os animais estavam na fase crônica da tripanosomíase, houve maior recuperação de vermes nesses grupos.

8- Os animais portadores de infecção dupla na fase aguda da tripanosomíase, tiveram retardada a oviposição dos vermes fêmeas (segundo oograma). Nesses animais verificamos uma maior

concentração de ovos imaturos quando comparados com animais infectados somente por *S.mansoni*. No entanto, quando os estavam na fase crônica da infecção pelos dois parasitas, observamos uma redução do número de ovos imaturos sugerindo haver um bloqueio da postura.

9- A infecção por *T.cruzi*, induziu uma supressão da resposta imune humoral em torno do pico de parasitemia, (fase aguda), supressão essa que também foi observada na fase crônica da infecção, principalmente nos animais com infecção dupla.

10- Durante o período de estudo, não foi detectada supressão da resposta celular ao ovo do *S.mansoni* e ao DNFB.

11- Nas infecções pelo *T.cruzi*, parece existir fatores que inibem a migração de macrófagos para a cavidade peritoneal, fato verificado pela diminuição do número de células coletadas no local. Já na infecção mista ocorre relativo aumento da migração dessas células para o peritônio, provavelmente por influência do *S.mansoni*. Nas infecções somente por *S.mansoni*, também é grande o número de células que migram para a cavidade peritoneal.

12- Quanto ao índice de fagocitose, observamos um ligeiro aumento em comparação aos animais normais, independente do tempo de infecção pelos parasitas.

BIBLIOGRAFIA

- 1- ALBRIGHT, J.F. & DUSANIC, D.G.- Trypanosoma induced splenomegaly and suppression of mouse spleen cell responses to antigens and nitrogens. Res. J. of the reticuloendothelial Society 21: 21, 1977.
- 2- ALBRIGHT, J.W.; MATUSEWICZ, N.M. & ALBRIGHT, J.F. - Age of the murine immune system is reflected by declining ability to generate antibodies that promote elimination of Trypanosoma musculi. J. of Immunol. 141 (4): 1318, 1988.
- 3- ALCANTARA, A. & BRENER, Z.- The in Vitro interaction of Trypanosoma cruzi bloodstream forms and mouse peritoneal macrophages. Acta. Tropica 35: 209, 1978.
- 4- ANDRADE, Z.A.- Aspectos experimentais da esplenomegalia da esquistossomose. Rev. Inst. trop. São Paulo 4 (4): 249, 1962.
- 5- ASKONAS, B.A.; CORSINI, A.C.; CLAYTON, C.E. & OGILVIE, B.M.- functional depletion of T and B memory cells and other lymphoid cell subpopulations during trypanosomiasis. Immunology, 36: 313, 1979.
- 6- ATALLAH, A.M.; ABDUL AAL, G.M.; URRITIA-SHAW, A.; MURRELL, K.D.; FLEISHER, T.A. & WANNIER, W.E.- Parasitic modulation of host immune mechanisms in schistosomiasis. Int. Archs Allergy Appl. Immun. 84: 1-9 (1987).
- 7- BELTZ, L. A. & KIERSZENBAUM, F - Suppression of human lymphocyte responses by Trypanosoma cruzi. Immunology, 60: 309, 1987.
- 8- BICKLE, R.; BAIN, J. ; Mc GREGOR, A. & DOENHOFF, M.- Factors affecting the acquisition resistance against S.mansoni in the mouse: III- The failure of primary infections with cercariae of one sex to induce resistance to reinfection. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 73 (1), 37, 1979.
- 9- BOROS, D.L.; PELLE, R.P. & WARREN, K.S. - Spontaneous modulation of granulomatous hypersensitivity in chistosomiasis mansoni. J. of Immunol. 184 (5): 1437, 1975.
- 10- BRENER, Z.- Terapêutica Experimental da Doença de Chagas. In: CANCADO, J.R. ed. Doença de Chagas, Belo Horizonte, Brasil. Imprensa Oficial do Estado de Minas Gerais, 1968, p. 501- 516.

- 11- BRENER, Z.- Esquistossomose Experimental. Rev. Bras. de Mal. e Doencas Tropicais. XI - (2/3) abril/Junho- 1959, p. 473-506.
- 12- BRENER, Z. - O Parasita: Relação hospedeiro-parasita. In: BRENER, Z & ANDRADE, Z.A. Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1979. p. 463.
- 13- BRENER, Z.- Immunity to Trypanosoma cruzi. Adv. Parasitology, 18, 247, 1980.
- 14- BRENER, Z.- Recent developments in field of Chaga's disease- Bull of the World Health Organization 60 (4): 463, 1982.
- 15- BRODSKY, C. I.; SILVA, A.M.M.; TAKEHARA, H.A & MOTA, I - IgG subclasses responsible for immune clearance in mice infected with Trypanosoma cruzi. Immunol. Cell. Biol. 67: 343-348 (1989)
- 16- BUCK, A.A. - Morbidity resulting from multiple disease interaction: Methods for measurement. In : Abstracts of papers accepted for the 9th International Scientific meeting of the International Epidemiological Association. Edimburg, 1981.
- 17- CHAGAS, C. - Nova tripanosomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do Schizotrypanum cruzi n. gen. n. sp. agente etiológico de nova entidade mórbida no homem. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1: 159, 1909.
- 18- CHEEVER, A.W.- A comparative study of Schistosoma mansoni infections in mice, gerbils, multimammate rats and hamsters. Am. J. Trop. Med. Hyg. 14:211, 1965.
- 19- CHEEVER, A.W. - A quantitative post-mortem study of Schistosoma mansoni in man. Am. J. Trop. Med. Hyg. 17:38, 1968.
- 20- CHEEVER, A.W.; KAMEL, I.A.; ELWI, A.M.; MOSIMANN, J.E. & DANNER, R.- Schistosoma mansoni and Schistosoma haematobium infection in Egypt. II. Quantitative parasitological findings at necropsy. Am. J. Trop. Med. Hyg., 26: 702, 1977.
- 21- CHEEVER, A.W.; BYRAN, J.E.; HIENY, S.; LICHTENBERG, F.V. Von LUNDE, M.N.; SHER, A.- Immunopathology of Schistosoma japonicum and Schistosoma mansoni infection in B cell depleted mice. Parasite Immunology 7: 399, 1985.
- 22- CHEEVER, A.W.- The intensity of experimental schistosome infections modulates hepatic pathology. Am. J. Trop. Med. Hyg, 35 (1): 122, 1986.

- 23- CHENSUE, S.W. & BOROS, D.D.- Modulation of granulomatous by hypersensitivity. I- Characterization of lymphocytes involved in the adoptive suppression of granuloma formation in *Schistosoma mansoni* infected mice. *J. Immunol.* 123 (3): 1409, 1979.
- 24- CHENSUE, S.W.; BOROS, D.L. & DAVID, C.S.- Regulation of granulomatous inflammation in murine schistosomiasis. *J. Exp. Med.* 151: 1398, 1980.
- 25- CHRISTENSEN, N.O. ; MANSEN, P.; FRANDSEN, f. BJORNEBOE, A. & MONRAO, J.- *Schistosoma mansoni* and *Fasciola hepatica* cross-resistance in mice. *Exp. Parasitology*, 46, 113, 1978.
- 26- CLARCK, I.A.; VIRELIZIER, J.L.; CARSWELL, E.A. & WOOD, P.R. - Possible importance of macrophage-derived mediators in acute malaria. *Infection and Immunity*, 32 (3): 1058, 1981.
- 27- CLAYTON, C. E.- Immunosuppression in trypanosomiasis and malaria. In: The role of the spleen in the immunology of parasitic diseases. Proceeding of the Meeting held in Geneva, 1978. Basel, Schwabe, 1979, p. 97, (Tropical Diseases Research Series, 1).
- 28- CLINTON, B.A.; ORTIZ, L.; GARCIA, W.; MARTINEZ, T. & CAPIN, R.- *Trypanosoma cruzi*: Early immune responses in infected mice. *Exp. Parasitology* 37, 417, 1975.
- 29- CORREA-OLIVEIRA, R.; DUSSE, LUCI, M.S.; VIANA, IRAMAYA, R.C. ; COLLEY, DANIEL, G.; CARVALHO, OSMAR SANTOS & GAZZINELLI GIOVANNI- Human Antibody responses against schistosomal antigens. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 38(2) 348-345 (87-88) 1988.
- 30- CORSINI, A.C.; CLAYTON, C.; ASKONA, B.A. & OLGIVIE, B.M.- Suppressor cells and loss of B-cell potential in mice infected with *Trypanosoma brucei*. *Clin. Exp. Immunol.* 29: 122 , 1977.
- 31- CORSINI, A.C.; BELLUCI, S.B. & COSTA, M.G. - A simple method of evaluating delayed type hypersensitivity in mice. *J. Immunol Methods* 30: 195, 1979.
- 32- CORSINI, A.C.; COSTA, M.G.; OLIVEIRA, O.L.P.; CAMARGO, I.J & STELLINI, A.- Susceptibility of inbred mice to *Trypanosoma cruzi* strain Y. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 22 (4): 192-196, 1980b.
- 33- CORSINI, A.C.; OLIVEIRA, O.L.P. & COSTA, M.G. - Unimpaired delayed type hypersensitivity in mice infected with *T.cruzi* strain Y. *Z. Parasitenkd* 61: 179- 185, 1980d.

- 34- CORSINI, A.C.; COSTA, M.G. & OLIVEIRA, L.P. - Supression in *Trypanosoma cruzi* infection in relation to the timing of antigen presentation. *Z. Parasitenkd* 64: 85-95, 1980a.
- 35- CORSINI, A.C. & COSTA, M.G.- Immunosuppression in mice infected with *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909). I- evidences of polyclonal B cell activation in experimental infection mimicked by an extract prepared from circulating trypomastigotes. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 23(3) : 114- 121, 1981a.
- 36- CORSINI, A.C. & COSTA, M.G. - Immunosuppression in mice infected with *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909). II- Trypomastigote Crude extrato (TCE) supress the humoral immune response in mice. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* 23(3): 122, 1981b.
- 37- COSTA, M.G., - Imunossupressão na infecção pelo *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909). I: Efeitos dos extratos de epimastigotas e tripomastigotas sobre a resposta imune em camundongos. Tese de doutorado- UNICAMP, Campinas, SP, 1982.
- 38- CUNNINGHAM, D.S.; KUHN, R. & ROWLAND, E.- Supression of humoral responses during *Trypanosoma cruzi* infection in mice. *Inf. Immunity* . 22(1): 155, 1978.
- 39- CUNNINGHAM, D.S.; GROGL, M. & KUHN, R. - Supression of antibody responses in humans infected with *Trypanosoma cruzi*. *Inf. Immunity* 30 (2): 496, 1980.
- 40- CUNNINGHAM, D.S. & KUHN, R. - *Trypanosoma cruzi*- induced supressor substance. I - Cellular involvement and partial characterization. *J. Immunol.* 124 (5): 2122, 1980.
- 41- DESSAINT, J.P.; CAMUS, D.; FISCHER, E. & CAPRON, A. - Inhibition of lymphocytes proliferation by factor produced by *Schistosoma mansoni*. *Eur. J. Immunol.* 7: 624, 1977.
- 42- DIAS, L.C.S.; BRUCE, J.I. & COLES, G.C. - Variation in response of *Schistosoma mansoni* strain to schistosomicides (1): *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*. 30(2): 81, 1988.
- 43- D'IMPÉRIO LIMA, M.R.; EISEN, H.; MINOPRIO, P. JOSKOWICS, M. & COUTINHO, A.- Persistence of polyclonal B cell activation with undetectable parasitemia in late stages of experimental Chagas' disease. *J. Immunol.* 137(1): 353, 1986.
- 44- DOENHOFF, M.J. MUSSALAN, R.; BAIN, J. & MCGREGOR, A.- Studies on the host-parasite relationship in *Schistosoma mansoni*- infected mice: the immunological dependen of parasite egg excretion. *Immunology*, 35, 771, 1978.

- 45- DOENHOFF, M.; BICKLE, Q.; LONG, E.; BAIN, J. & MCGREGOR, A. - Factors affecting the acquisition of resistance against *Schistosoma mansoni* in the mouse. I- demonstration of resistance to reinfection using a model system that involves perfusion of mice within three weeks of challenge. *J. of Helminthology*, 52: 173, 1978.
- 46- DOENHOFF, M.Y.; PEARSON, S.; DUNNE, D.W.; BICKLE, R.; LUCAS, S.; BAIN, J.; MUSSALAN, R. & HASSOUNAH, O.- Immunological control of hepatotoxicity and parasite egg excretion in *Schistosoma mansoni* infections: stage specificity of the reactivity of immune serum in T-cell deprived mice. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 75(1) 41, 1981.
- 47- DOENHOFF, M.J.; HASSOUNAH, O.; MURARE, H.; BAIN, J. & LUCAS, S.- The schistosome egg granuloma: immunopathology in the cause of host protection or parasite survival?. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 80, 503, 1986.
- 48- DOMINGO, E.O. & WARREN K.S. - Endogenous desensitization changing host granulomatous response to schistosome eggs at different stages of infection with *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Pathol.* 52: 369, 1968.
- 49- DRESSER, W.D.- Assays for immunoglobulin-secreting cells. In: WEIR, D.M., ed. *Handbook of experimental immunology*. Oxford Blackwell Scientific Publication, 1978, p. 28.1.
- 50- DUNNE, D.W.; HASSOUNAH, O.; MUSSALAN, R.; LUCAS, S.; PEPYS, M.B.; BALTZ, M. & DOENHOFF, M.- Mechanisms of *Schistosoma mansoni* egg excretion: parasitological observations in immunosuppressed mice reconstituted with immune serum. *Parasite Immunology* 5, 47, 1983.
- 51- ESPARZA, J.; RUPPEL, A.; MESTAN, J. & KRAMMER, P.- Preactivation of macrophages in mice acutely infected with *Schistosoma mansoni*. *Immunobiol.* 177, 105, 1988.
- 52- FELDMEIER, H.; GASTIL, G.A.; POGGENSEE, U.; KORTMANN, C.; DAFALLA, A.A & PETER, H.H.- Relationship between intensity of infection and immunomodulation in human schistosomiasis. I- Lymphocyte subpopulations and specific antibody responses. *Clin. Exp. Immunol.* 60, 225, 1985.
- 53- GAO, X.M.; SCHMIDT, J.A.; LIEW, F.Y.- Suppressive substance produced by T cells from mice chronically infected with *Trypanosoma cruzi*. III- Genetic restriction and further characterization. *J. Immunology*, 141(3): 889, 1988.
- 54- GENARO, O. - Aspectos da interação do *S.mansoni* com *Plasmódium yoelli* ou *Trypanosoma cruzi* em camundongos. Belo Horizonte, M.G. Universidade Federal de Minas Gerais, 1982. 109 p. (Tese de mestrado).

- 55- GENARO, O.; BRENER, Z. & COELHO, P.M.Z.- *Schistosoma mansoni*: immunodepression of hepatic schistosome granuloma formation in mice infected by *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 19(1), 35, 1986.
- 56- GEORGI, JAY.R; WADE SUSAN.E & DEAN DAVID.A- *Schistosoma mansoni*: mechanism of attrition and routes of migration from lungs to hepatic portal system in the laboratory mouse. *J. Parasitology* 73 (4), 706-711, 1987
- 57- GILMAN, S. G.; ROSENBERG, J.S.; FELDMAN, J.D.- T Lymphocytes of young and aged rats. II- Functional defects and the role to interleukin-2. *Am. Assoc. Immunology* 128(2), 1982.
- 58- GOODWIN, L.G.; GREEN, D.G., GUY, M.W. & VOLLER, A - Immunosuppression during trypanosomiasis. *Br. J. Exp. Pathol.* 53: 40, 1972.
- 59- GOTTESMAN, S.R.S.; EDINGTON, J.M. & THORBECKE, G.J. - Proliferative and cytotoxic immune functions in aging mice. IV- Effects of suppressor cell populations from aged and young mice. *J. of Immunol.* 140(6): 1783, 1988.
- 60- GREENWOOD, B.M. - In parasites in the immunized host: mechanisms of survival. *Giba Foundation Symposium*, New York : Associated Scientific Publishers, 1974.
- 61- GUARALDO, A.M.A.- Avaliação da resposta imune à infecção por *Schistosoma mansoni* em camundongos C3H/HeJ submetidos à dietas hipoproteicas e normoproteicas. Tese Doutorado- UNICAMP - Campinas - S.Paulo- 1987.
- 62- HAIDARIS, G.G.; HAYNES, D.; MELTZER, M.S. & ALLISON, A.C. - Serum containing Tumor Necrosis Factor is cytotoxic for the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Infection and Immunity* 42(1): 385, 1983.
- 63- HANDMANN, E.; CEREDIG, R. & MITCHELL, G.F.- Murine cutaneous Leishmaniasis. Disease patterns in intact and nude mice of various genotypes and examination of some differences between normal and infected macrophages. *AJEBACK* 57(1): 9, 1979.
- 64- HARRISON, R.A.; BICKLE, S. & DOENHOFF, M.Y. - Factors affecting the acquisition of resistance against *Schistosoma mansoni* in mouse. Evidence that the mechanisms which mediate resistance during early patent infections may lack immunological specificity. *Parasitology* 84: 93, 1982.
- 65- HARRISON, R.A. & DOENHOFF, M.J. - Retarded development of *Schistosoma mansoni* in immunosuppressed mice. *Parasitology* 86: 429, 1983.

- 66- HAUSCHKA, T.S. - Sex of host as a factor in Chagas' Disease. *J. of Parasitol.* 33: 399, 1947.
- 67- HAYES, M.M. & KIERSZENBAUM, F.- Experimental Chagas' disease: Kinetics of lymphocyte responses and immunological control of the transition from acute to chronic *Trypanosoma cruzi* infection. *Infect Immun.* 31: 117, 1981.
- 68- HOFF, R. - Killing "in vitro" of *Trypanosoma cruzi* by macrophages from mice immunized with T.cruzi or BCG, and absence of cross-immunity on challenge "in vivo". *J. Exp. Med.* 142: 299, 1975.
- 69- HOFFMAN, M.K. ; OETTGEN, H.F.; OLD, L.J.; MITTLER, R.S. & HAMMERLING, U.- Induction and immunologic properties of tumor necrosis factor. *Res. J. Reticuloendothel. Soc.* 23: 307, 1978.
- 70- JAMES, S.L.; LAZOINS, J.K.; MELTZER, M.S. & SHER, A. - Macrophages as effector cells of protective immunity in murine schistosomiasis. I- Activation of peritoneal macrophages during natural infection. *Cell. Immunol.* 67: 255, 1982.
- 71- KAMAL, K.; DIAB, M.; CAVENDER, D. & HIGASHI, G.- Modulation of cell-mediated immunity in mice with chronic unisexual ou bisexual *Schistosoma mansoni* cercarial. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*: 83 (1) 25-30 , 1989.
- 72- KIERSZENBAUM, F.; KNECHT, E.; BUDZKO, D.B. & PIZZIMENTI, M.C.- Phagocytosis: a defense mechanism against infection with *Trypanosoma cruzi*. *J. Immunol.* 112(5), 1839, 1974.
- 73- KIERSZENBAUM, F.& PIENKOWSKI, M.M.- Thymus-dependent control of host defense mechanisms, against *Trypanosoma cruzi*, infection. *Inf. Immunity.* 24(1), 117, 1979.
- 74- KIERSZENBAUM, F.& HAYES, M.M. - Evaluation of lymphocyte responsiveness to polyclonal activators during acute and chronic experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 29(4): 708, 1980.
- 75- KIERSZENBAUM, F.;& BUDZKO, D.B.- *Trypanosoma cruzi*: deficient lymphocyte reactivity during experimental acute Chagas' disease in the absence of suppressor T cells. *Parasite Immunology.* 4, 441, 1982.
- 76- KLOETZEL, K.; FALEIROS, J.J.; MENDES, S.R.; STANLEY, G.T. & ANAS, H.S. - Concomitant infection of albino mice by *Trypanosoma cruzi* and *Schistosoma mansoni*. Parasitological parameters. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 67(5): 652-658, 1973.

- 77- KLOETZEL, F.; FALEIROS, J.J. & MENDES, S.R. - Concurrent infection of white mice with *Trypanosoma cruzi* and *Schistosoma mansoni*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 65(4): 530, 1971
- 78- KNIGHT, R. & WARREN, K.S.- The interaction between *Entamoeba histolytica* and *Schistosoma mansoni* infection in mice. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 67(5): 644-651, 1973.
- 79- KOBERLE, F. - Patogenia da moléstia de Chagas. In: CANGADO, J.R. ed Doença de Chagas. Belo Horizonte, Brasil. *Imprensa Oficial do Estado de Minas Gerais*, 1968, p. 238-260.
- 80- KUBELKA, G.F.; RUPPEL, A.; KRAMMER, P.H. & GENSA, D. - Killing of schistosomula of *S.mansoni* by macrophages: induction by T-cell clone-derived lymphokines and interferon-gama. *Parasitology*. 92, 325, 1986.
- 81- LIEW, F.Y.; SCHMIDT, J.A.; LIU, D.S.; MILLOTT, S.M.; SCOTT, M.T.; DHALIWAL, J.S. & GROFT, S.L.- Suppressive substance produced by T cells from mice chronically infected with *Trypanosoma cruzi*. II- Partial biochemical characterization. *J. Immunol.* 140(3): 973, 1988.
- 82- LI HSU, S.Y.; HSU, H.F.; MITROS, F.A.; HELMES, C.M. & SOLOMON, R.I.- Eosinophils of effector cell in the destruction of *S.mansoni* eggs in granulomas. *Ann. Trop. Med. Parasitology*. 74(2), 179, 1980.
- 83- LONG, E.; MYINT, L.W. & TARGETT, G. - Factor affeting the acquisition of resistance against *Schistosoma mansoni* in the mouse. VIII- Failure of concurrent infections with *Plasmodium chabaudi* to affect resistance a reinfection with *S.mansoni*. *Ann. Trop. Med. Parasitology*. 75(1): 79-86, 1981.
- 84- LWIN, M.; LAST, C.; TARGETT, G.A.T. & DOENHOFF, M.J. - Infection of mice concurrently with *Schistosoma mansoni* and rodent malarias: contrasting effects of patent *S.mansoni* infections on *Plasmpdium chabaudi*, *Plasmodium yoelii* and *P.berghei*. *Ann. Trop. Med. Parasitology* 76(3), 265, 1982.
- 85- MACEDO, V. - Forma indeterminada da Doença de Chagas. *J. Bras. de Medicina*, 38: 34, 1980.
- 86- MAHMOUD, A.A.F.; WARREN. K.S.; STRICKLAND, G.T. - Acquired resistance to infection with *Schistosoma mansoni* induced by *Toxoplasma gondii*. *Nature* 263: 56-57, 1976.

- 87- MAHMOUD, A.A.F.; STRICKLAND, G.T. & WARREN, K.S. - Toxoplasmosis and the host-parasite relationship in murine schistosomiasis mansoni. J. Infect. Diseases 135(3): 408, 1977.
- 88- MAHMOUD, A.A.F.; PETERS, P.A.; CIVIL, R.H. & REMINGTON, J.S.- In vitro killing of schistosomula of *Schistosoma mansoni* by BCG and *Corynebacterium parvum* activated macrophages. J. Immunol. 122(5), 1655, 1979.
- 89- MALECKAR, J. R. & KIERSZENBAUM, F. - Inhibition of mitogeninduced proliferation of mouse T and B lymphocytes by bloodstream forms of *Trypanosoma cruzi*. J. Immunol. 130, 908, 1983.
- 90- MAKINODAN, T. & KAY, M.M.B. - Age influence on the immune system. Adv. Immunol. 29, 287, 1980.
- 91- MITCHELL, G. - Response to infection with metazoan and protozoan parasites in mice. Adv. Immunol. 28, 451, 1979.
- 92- MITCHELL, G. - T cell dependent effects in parasitic infection and disease. In: GOUGEREAU e DAUSSET (1980). Immunology 80. Progress in Immunology IV. London, Academic Press, p. 794.
- 93- MOLONEY, N.A.; DOENHOFF, M.J.; WEBBE, G. & HINCHCLIFF, P. - Studies on the host-parasite relationship of *Schistosoma japonicum* in normal and immunosuppressed mice. Parasite Immunology 4, 431, 1982.
- 94- MORRISON, W.I.; ROELANTS, G.S.; MAYOR-WITHEY, K.S. & MURRAY, M.- Susceptibility of inbred strain of mice to *Trypanosoma congolense*: correlation with changes in spleen lymphocyte populations. Clin. Exp. Immunol. 32, 25, 1978.
- 95- MOTA-SANTOS, T.A.; GAZZINELLI, G.; RAMALHO PINTO, F.J. ; PELLEGRINO, J. & DIAS DA SILVA, W.- Immunodepression in mice following *Schistosoma mansoni* infection. Rev.Inst. Med. Trop. S.Paulo 18(4): 246, 1976.
- 96- MOTA-SANTOS, T.A.; TAVARES, C.A.L. ; GAZZINELLI, G. & PELLEGRINO, J.- Immunosuppression mediated by adult worms in chronic schistosomiasis mansoni. Am. J. Trop. Med. Hyg. 26(4): 727, 1977.
- 97- MURRAY, P.K.; JENNINES, F.W.; MURRAY, M. & URQUHART, G.M. - The nature of immunosuppression in *Trypanosoma brucei*, infections in mice. I- The role of the macrophages. Immunology 27: 815, 1974a.

- 98- MURRAY, P.K.; JENNINES, F.W. MURRAY, M. & URQUHART, G.M. - The nature of immunosuppression in *Trypanosoma brucei* infections in mice. I- The role of the T and B lymphocytes. *Immunology* 27: 825, 1974b.
- 99- NETO, R.C.L.; MAGALHÃES, L.A. & PIEDRABUENA, A.E. - Alguns aspectos referentes ao estudo de linhagens de *S.mansoni* SAMBON 1907, provenientes dos Estados de Minas Gerais e de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública de S. Paulo* 12 : 277, 1978.
- 100- NOGUEIRA, N.; GORDON'S & COHN, A. - *Trypanosoma cruzi*: modification of macrophage function during infection. *J. Exp. Medicine* 146: 157, 1977.
- 101- NOGUEIRA, N.; CHAPLAN, S.; REESINK, M.; TIDINGS, J. & COHN, Z.A.- *Trypanosoma cruzi*: induction of microbicidal activity in human mononuclear phagocytes. *J. Immunology* 128(5): 2142, 1982.
- 102- OLIVIER, L. & STIREWALT, M.A. - An efficient method for the exposure of mice to cercarie of *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit.* 38: 19-23, 1952.
- 103- ORTIZ-ORTIZ, L.; PARKS, D.E.; RODRIGUES, M. & WEIGLE, W - Polyclonal B lymphocyte activation during *Trypanosoma cruzi* infection. *J. Immunol.* 124(1): 121, 1980.
- 104- OSSUNA, A.; GAMARRO, F.; CASTANYS, S. & RUIZ-PEREZ, M.- Inhibition of lysosomal fusion by *Trypanosoma cruzi* in peritoneal macrophages. *International Journal for Parasitology*: 16 (6), 629, 1986.
- 105- PARAENSE, W.L.- Distribuição dos caramujos no Brasil - Modernos conhecimentos sobre esquistossomose mansônica. *Anais da Academia Mineira de Medicina* (supl. anais 83/84) pg 117-128, 1986.
- 106- PEARSON, T.W.; ROELANTES, G.E.; LUNDIN, L.B.; MAYOR-WITHEY, K.S.- Immune depression in Trypanosome-infected mice. I- Depressed T lymphocyte responses. *Eur. J. Immunol.* 8: 723, 1978.
- 107- PEARSON, T.W.; ROELANTS, G.E.; PINDER, M.; LUNDIN, L.B. & MAYOR-WITHEY, K.S.- Immune depression in Trypanosome-infected mice. III- Suppressor cells. *Eur. J. Immunol.* 9: 200, 1979.
- 108- PHILLIPS, S.M.; DI CONZA, J.J.; GOLD, J.A. & REID, W.A. - Schistosomiasis in the congenitally athymic (nude) mouse. I- thymic dependency of eosinophilia, granuloma formation and host morbidity. *J. Immunol.* 118(2) 594, 1977.

- 109- PELLEGRINO, J. & MACEDO, D.G. - A simplified method for concentration of cercárie. *J. Parasit.* 41: 329, 1955.
- 110- PELLEGRINO, J. & KATZ, N. - Experimental chemotherapy of Schistosomiasis mansoni. *Adv. Parasit.* 6: 233-290, 1968.
- 111- PELLEGRINO, J.; OLIVEIRA, C.A.; FARIA, J. & CUNHA, A.S.- New approach to the screening of drugs in experimental schistosomiasis mansoni in mice. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 11(2): 201, 1962.
- 112- PRATA, A.- Formas Clínicas da Doença de Chagas. In: CANCADO, J.R. - ed. DOENÇA de CHAGAS. Belo Horizonte, Brasil, Imprensa Oficial do Estado de Minas Gerais., 1968. p. 344-358.
- 113- PRESTON, O.M. & DUMONDE, D.C. - Experimental cutaneous leishmaniasis. V- Protective immunity in subclinical and self-healing infection in the mouse. *Clin. Exp. Immunol.* 23: 126, 1976.
- 114- RAMOS, C. LAMOYI, E. ; FEOLI, M.; RODRIGUES, M.; PEREZ, M. & ORTIZ_ORTIZ, L.- Trypanosoma cruzi: Immunosuppressed response to different antigens induced in the infected mouse. *Exp. Parasitol.* 45: 190, 1978.
- 115- RAMOS, C.; SCHADTLER-SIWON, I.; ORTIZ-ORTIZ, L.- Suppressor cells present in the spleen of Trypanosoma cruzi-infected mice. *J. Immunol.* 122: 1243, 1979.
- 116- REED, S.G.; LARSON, C.L. & SPEER, C.A.- Suppression of cell-mediated immunity in experimental Chagas disease. *Z.Parasitenk.* 52: 11, 1977.
- 117- ROCHA, H.; OLIVEIRA, V.S.; OLIVEIRA, M.M.G.- The interaction of gran negative bacteria and Schistosoma mansoni in mice with experimental schistosomiasis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 75(1-2) 161-172, 1980.
- 118- ROCHA, H.; McGRORY, M.; OLIVEIRA, M.M.G.- Início da infecção por Salmonella typhimurium em camundongos com esquistossomose mansônica. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* 13(5), 328, 1971.
- 119- ROCKLIN, R.E.; BROWN, A.P.; WARREN, K.S.; PELLE, R.P. ; HOUBA, V.; SIONGOK, T.K.A.; OUMA, J.; STURROCK, R.F. & BUTTERWORTH, A.E.- Factors that modify the cellular-immune response in patients infected by Schistosoma mansoni. *J. Immunology.* 125(5): 1916, 1980.

- 120- ROELANTS, G.E.; PEARSON, T.W.; TYPER, H.W.; MAYOR-WITHEY, K. & LUNDAN, L.B.- Immune depression in trypanosome-infected mice. II- characterization on the spleen cell types involved. *J. Immunol.* 9: 195, 1979.
- 121- ROSENBERG, J.S.; GILMAN, S.G.; FELDMAN, J.D. - Effects of aging on cell cooperation and lymphocyte responsiveness to cytokines. *J. Immunol.* 130(4), 1754, 1983.
- 122- ROTTENBERG, M.E.; CARDONI, R.L.; De TITTO, E.H.; MORENO, M. & SEGURA, E.L.- *Trypanosoma cruzi* : Immune response in mice immunized with parasite antigens. *Exp. Parasit.* 65: 101, 1988.
- 123- ROWLAND, E & KUHN, R. - Suppression of cellular responses during *Trypanosoma cruzi* infections. *Infect. Immunity* 20(2): 393, 1978.
- 124- SACKS, D.L. & ASKONAS, B.A.- Trypanosome-induced suppression of anti-parasite responses during experimental African trypanosomiasis. *Eur. J. Immunol.* 10: 971, 1980.
- 125- SALES, A.- *Esquistossomose mansonii*. p. 135, ed. USP, 1970.
- 126- SCHMUNIS, G.A.; SZARFMAN, A.; PESCE, U.J. & GONZALEZ-CAPA, S.M.- The effect of acute infection by *Trypanosoma cruzi* upon the response of mice to sheep erythrocytes. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 19 (5) : 323, 1977.
- 127- SHER, A.; McINTYRE, S. & VON LICHTENBERG, F. - *Schistosoma mansoni*: kinetics and class specificity of hypergammaglobulinemia induced during murine infection. *Exp. Parasitol.* 41: 415, 1977.
- 128- SILVEIRA, A.C.- Controle da *Esquistossomose* no Brasil - *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. Sup I vol 84, outubro 1989, pg. 91.
- 129- SMITHERS, S.R & DOENHOFF, M.J. - *Schistosomiasis*. In: *Immunology of Parasitic Disease*, pg 527, 1982.
- 130- STIREWALT, M.A.- Comparison of penetration and maturation of *Schistosoma mansoni* in four strain of mice. *Parasitology* 55: 227, 1965.
- 131- STRICKLAND, G.T.; VOLLE, A.; PETTIL, L.E. & FLECK, D.G. - Immunodepression associated with concomitant toxoplasma and malarial infections in mice *J. Infect. Diseases*, 126(1): 54, 1972.
- 132- STUTMAN, O. - Cell mediated immunity and aging. *Fed. Proceedings* 33(9): 2028, 1974.

- 133- SUZUKI, Y.; JOH, K. & KOBAYASHI, A. - Macrophage-mediated suppression of immune responses in toxoplasma-infected mice. *Cellular Immunology* 110: 218, 1987.
- 134- SUZUKI, G.; KAWASI, Y.; KOYASU, S.; YAHARA, I.; KOBAYASHI, Y. & SCHWARTZ, R.H.- Antigen-induced suppression of the proliferative response of T cell clones. *J. of Immunol.* 140(5): 1359, 1988.
- 135- TARLETON, R.L. & KUHN, R.E. - Measurement of parasite specific immune responses in vitro : evidence for suppression of the antibody response to *Trypanosoma cruzi*. *Eur. J. Immunol.* 15: 845, 1985.
- 136- TALIAFERRO, W.H. & PIZZI, T.- Connective tissue reactions in normal and immunized mice to a reticulotropic strain of *Trypanosoma cruzi*. *J. Infect. Dis.* 96(3): 199, 1955.
- 137- TEIXEIRA, A.R.L. & SANTOS, B.C.A. - The immunology of experimental Chagas' disease. II- Delayed hypersensitivity to *T.cruzi* antigens. *Immunology*, 28: 401, 1975.
- 138- TEIXEIRA, A.R.L.; TEIXEIRA, G.; MACEDO, V. & PRATA, A. - Acquired cell-mediated immunodepression in acute Chagas' disease. *J. Clin. Invest.* 62: 1132, 1978.
- 139- TRISCHMANN, T.; TANOWITZ, H. & WITTNER, M. - *Trypanosoma cruzi*: role of the immune response in the natural resistance of inbred strains of mice. *Exp. Parasitology*, 45: 160, 1978.
- 140- THRISCHMANN THOMAS, M. - Non-antibody-mediated control of parasitemia in acute experimental Chagas' Disease. *The Journal of Immunology* : 130 (4), 1953-1957, 1983.
- 141- THRISCHMANN, T. - *Trypanosoma cruzi* : early parasite proliferation and host resistance in inbred strains of mice. *Exp. Parasitology* 62: 194, 1986.
- 142- WARREN, K.S. - The contribution of worm burdenn and host response to the development of hepato-splenic *Schistosomiasis mansoni* in mice. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 12: 34, 1963.
- 143- WARREN, K.S.; DOMING, E.O. & COWAN, R.B.T. - Granuloma formation around schistosoma eggs as a manifestation of delayed hypersensitivity. *Am. J. Pathol.* 51: 735, 1967.
- 144- WARREN, K.S.; ROSENTHAL, M.S.; DOMINGO, E.O. - Mouse hepatitis virus (MHV3) infection in chronic murine schistosomiasis *mansoni*. *Bull. N.Y. Acad. Med.* 45: 211, 1969.

- 145- WELLHAUSEN, S.R. & BOROS, D.L.- Atrophy of the thymic cortex in mice with granulomatous schistosomiasis mansoni. *Infect. Immun.* 35, 1063, 1982.
- 146- WELLHAUSEN, S.R. & MANSFIELD, J.M. - Lymphocyte function in experimental African Trypanosomiasis. II- splenic suppressor cell activity *J. Immunol.* 122(3): 818, 1979.
- 147- WILLIAMS, D.M.; SAWYER, S. & REMINGTON, J.S. - Role of activated macrophages in resistance of mice to infection with *Trypanosoma cruzi*. *J. Infect. Diseases* 134 (6): 810, 1976.
- 148- WILSON, R.A.; COULSON, P.S. & MCHUGH, S.M. - A significant part of the concomitant immunity of mice to *Schistosoma mansoni* is the consequence of a leaky hepatic portal system, not immune killing. *Parasite Immunology* 5: 595, 1983.
- 149- WORLD HEALTH ORGANIZATION - report of the first meeting of the scientific working group on Chagas' disease. TDR/CHA - SWG (1) 77.3. Buenos Aires, Argentina, 1977, p. 1-45.
- 150- WORLD HEALTH ORGANIZATION - Memoranda. Immunology of Chagas' disease. Bulletin of the World Health Organization, 50(5): 459, 1974.
- 151- WORLD HEALTH ORGANIZATION - The membrane pathobiology of tropical disease. Chapter V - UNDP/World Bank/ WHO, Basel, Schwabe, 1979.
- 152- VADAS, M.R.; MILLER, J.F.A.O.; GAMBLE, J. & WHITLAW, A. - Radioisotopic method to measure delayed type hypersensitivity in the mouse. I- Studies in sensitized and normal mice. *Int. Archs. Allergy. App Immunol.* 49, 670, 1975.
- 153- YOLLES, T.K.; MOORE, D.V.; DE YIUSTI, D.C. & MELENEY, H.E. - A Technique for perfusion of laboratory animals for the recovery of schistosome. *J. Parasit.* 33: 419-426, 1947.
- 154- ZANOTTI, E.M. - Esquistosomose mansônica experimental no camundongo albino, comportamento do trematódeo no plexo porta nas infecções unissexuais e bissexuais. Avaliação dos níveis séricos da imunoglobulina A. Campinas- SP- Universidade Estadual de Campinas- UNICAMP- 1980. (Tese de Mestrado).
- 155- ZANOTTI, E.M.; MAGALHÃES, L.A. & PIEDRABUENA, A.E. - Avaliação da patogenicidade decorrente da infecção pelo *Schistosoma mansoni* (SAMBON, 1907) agente de infecções unissexuais em *Mus musculus*. *Rev. Saúde Pública S.Paulo*, 17: 394, 1983.

- 156- ZANOTTI, E.M.- Observações sobre a capacidade de infecção do molusco vetor e a patogenicidade do *Schistosoma mansonii* (SAMBON, 1907) no hospedeiro vertebrado. Campinas - SP - Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP - 1987 (Tese de Doutorado).