

Cláudia Moura de Melo

SECRETÁRIA  
DE  
PÓS-GRADUAÇÃO  
I. B.

**CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA E MORFOLÓGICA DA  
LINHAGEM PAULISTA DE *Schistosoma mansoni* DA REGIÃO DE  
CAMPINAS, SP**

Este exemplar corresponde à redação final  
da tese defendida pelo(a) candidato a)  
Claudia Moura de Melo nº 17  
e aprovada pela Comissão Julgadora  
J. Candido de Souza Dias

Tese apresentada ao Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas como um dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas com área de concentração em Parasitologia.

**Orientador:** Prof. Dr. Luiz Candido de Souza Dias

Campinas  
1994

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

UNIDADE	78
N.º CHAMADA:	T/UNICAMP
	M491c
V. E.	
TOMBO BQ/	23.711
PROC.	433/95
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	88.11,00
DATA	23/02/95
N.º CPD	

CM-00065496-3

Melo, Claudia Moura de  
M491c Caracterizaco biológica e morfológica da linhagem paulista de  
Schistosoma mansoni da região de Campinas, SP / Claudia Moura de  
Melo - - Campinas, SP : [s.n.l], 1994.

Orientador: Luiz Candido de Souza Dias.

Tese (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas. Instituto  
de Biologia.

1. Esquistossomose mansoniaca - Campinas. 2. Parasito.  
I. Dias, Luiz Candido de Souza. II. Universidade Estadual de  
Campinas. Instituto de Biologia. III. Titulo.

**Para painho e mainha.**

**Para Bisuca.**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas ( UNICAMP ) pela estrutura física e operacional que permitiu a realização desta dissertação.

Aos docentes do Departamento de Parasitologia ( UNICAMP ), pelos conhecimentos e experiências compartilhados. Em especial, às professoras Eliana Maria Zanotti-Magalhães, Marlene Tiduko Ueta e Selma Giorge.

Ao Prof. Luiz Candido de Souza Dias, pela orientação constante e marcante.

Aos funcionários do Departamento de Parasitologia ( UNICAMP ), pelos diversos auxílios prestados.

À Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de São Paulo, pelo suporte financeiro.

À Superintendência de Controle de Endemias ( SUCEN ), pelo apoio durante a fase inicial deste trabalho.

À Profa. Gabriela Stanhegaus e Damião Nóbrega da Silva, pela caprichosa análise estatística.

À Carlinhos, Helô, Lú, Marinha, Rê, Rubinho, Toninho e Vê. Amigos eternos...

" ... quem ficou, no pensamento voou  
Com seu pranto que o outro lembrou.  
E quem voou, no pensamento ficou  
Com a lembrança que o outro contou. "

# ÍNDICE

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	01
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	12
<b>1.Linhagem de <i>Schistosoma mansoni</i></b> .....	12
<b>2.Hospedeiro intermediário</b> .....	12
<b>3.Hospedeiro definitivo</b> .....	13
<b>4.Formação dos grupos experimentais</b> .....	13
<b>5.Identificação dos camundongos</b> .....	14
<b>6.Sorteio dos tratamentos para os camundongos</b> .....	15
<b>7.Manutenção de <i>Biomphalaria tenagophila</i> em laboratório</b> .....	16
<b>8.Obtenção de miracídio</b> .....	16
<b>9.Infecção dos moluscos</b> .....	16
<b>10.Avaliação da suscetibilidade dos moluscos</b> .....	17
<b>10.1.Exame dos moluscos</b> .....	17
<b>10.2.Mortalidade de moluscos</b> .....	17
<b>10.3.Acompanhamento do período de eliminação de cercárias</b> .....	18
<b>11.Infecção dos camundongos</b> .....	18
<b>12.Capacidade de penetração de cercárias</b> .....	18
<b>13.Mortalidade dos camundongos</b> .....	19

<b>14.Tratamento dos camundongos com drogas esquistossomicidas.....</b>	<b>19</b>
<b>15.Perfusão dos camundongos.....</b>	<b>19</b>
<b>16.Coleta dos vermes.....</b>	<b>20</b>
<b>17.Percentagem de recuperação de vermes.....</b>	<b>20</b>
<b>18.Morfologia dos vermes.....</b>	<b>20</b>
<b>19.Avaliação da suscetibilidade do verme a drogas esquistossomicidas.....</b>	<b>21</b>
<b>20.Oograma.....</b>	<b>22</b>
<b>21.Verificação dos pesos corporal, do fígado e do baço.....</b>	<b>22</b>
<b>22.Fixação de fragmento do fígado.....</b>	<b>23</b>
<b>23.Cortes histológicos.....</b>	<b>23</b>
<b>24.Medidas dos diâmetros das reações granulomatosas.....</b>	<b>23</b>
<b>25.Medidas dos ovos de <i>Schistosoma mansoni</i>.....</b>	<b>24</b>
<b>26.Análise estatística.....</b>	<b>24</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
<b>1.Estudo da linhagem no hospedeiro intermediário.....</b>	<b>26</b>
<b>2.Estudo da linhagem no hospedeiro definitivo.....</b>	<b>27</b>
<b>3.Estudo da suscetibilidade do <i>Schistosoma mansoni</i> a drogas esquistossomicidas.....</b>	<b>28</b>
<b>4.Estudo morfológico da linhagem de <i>Schistosoma mansoni</i>.....</b>	<b>31</b>

<b>4.1.Ovos.....</b>	<b>31</b>
<b>4.2.Vermes adultos.....</b>	<b>31</b>
<b>TABELAS.....</b>	<b>32</b>
<b>FIGURAS.....</b>	<b>38</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>53</b>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>71</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>73</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>75</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>77</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>97</b>

## INTRODUÇÃO

A esquistossomose é atualmente endêmica em 74 países e a estimativa global é que existam 200 milhões de pessoas infectadas e 500 a 600 milhões de pessoas expostas ao risco de infecção. Essa situação ocorre principalmente em zonas rurais e agrícolas e é causada por condições deficientes de moradia, educação e serviços sanitários (WHO, 1991).

A urbanização de doenças infecciosas e parasitárias próprias do meio rural e o recrudescimento, nas cidades, de doenças consideradas controladas, vêm sendo objeto de preocupação e estudo em diversas instituições ligadas à saúde (GUBLER, 1989; MOTT *et alii*, 1991; KNUDSEN & SLOOFF, 1992). A esquistossomose é uma destas doenças que, apesar de estar intimamente ligada ao meio rural, está se urbanizando através da chegada de pessoas infectadas a áreas urbanas mas com a presença do hospedeiro intermediário (MOTT *et alii*, 1991).

A distribuição geográfica da doença no Brasil demonstra que, com a intensificação da urbanização e com a migração rural (LIMA, 1993), a transmissão da doença começou a ocorrer em cidades de maior porte em suas áreas tipicamente urbanas e, principalmente, nas peri-urbanas (BARRETO, 1984; REY, 1991; SILVA, 1992).

O Estado de São Paulo, importante pólo de atração da migração do país, apresenta esquistossomose mansônica autóctone nas regiões do Vale do Paraíba, Grande São Paulo, Vale do Ribeira, Baixada Santista, Litoral Sul, Região de Campinas e Vale do Paranapanema (SUCEN, 1982). Exceto nesta última região, o hospedeiro intermediário é a *Biomphalaria tenagophila*; no Vale do Paranapanema *Biomphalaria glabrata* é a espécie hospedeira (VAZ *et alii*,



1983; VAZ **et alii**, 1986; VAZ **et alii**, 1987).

A região de Campinas, local de isolamento da linhagem do molusco de nosso estudo, distingue-se em três grandes áreas: (1) o norte menos desenvolvido na encosta ocidental da Mantiqueira Paulista, formado pelas sub-regiões de Casa Branca e São João da Boa Vista; (2) o leste agrícola formado pelas sub-regiões de Limeira, Rio Claro e Piracicaba e (3) o sul mais industrializado integrante da área macrometrópole do Estado, formado pelas sub-regiões de Campinas, Jundiaí e Bragança Paulista. No tocante à esquistossomose, são importantes as transformações sofridas por esta última área (SUCEN, 1982; LIMA, 1993).

ZIMMERMANN (1988) considerou Campinas o município mais industrializado, mais urbanizado e o que mais atrai população no interior do Estado de São Paulo, caracterizando-se como uma área metropolitana emergente. Sua Região Administrativa ocupa o segundo lugar no Estado em desenvolvimento, sendo a terceira concentração industrial do País e a sétima produção agropecuária. Até a década de 60, o município se orgulhava de fornecer ótimas condições de vida a seus habitantes, porém, no final desta década, começaram a surgir dificuldades no atendimento às necessidades básicas da população, principalmente abastecimento de água, e o crescimento populacional e o intenso fluxo migratório são considerados os fatores responsáveis (BAENINGER, 1991).

Apesar da teoria de introdução recente da esquistossomose, na década de 60, através de migrantes, existe uma hipótese de que a esquistossomose em Campinas seja mais antiga, introduzida por escravos africanos que trabalhavam nos canaviais e cafezais da região (BRUCE-CHWATT & BRUCE-CHWATT, 1980).

A presença de moluscos *B. tenagophila* não infectados por *S. mansoni* no

município de Campinas foi registrada em 1955, nas bacias do ribeirão Anhumas e do rio Capivari (MACHADO *et alii*, 1955; MACHADO & ABREU, 1955).

Campinas, em 1960, foi o primeiro município da região a apresentar casos autóctones de esquistossomose (PIZA & RAMOS, 1960).

CORRÊA *et alii* (1962) e MAGALHÃES (1967) relataram encontro de moluscos infectados em coleções hídricas do município, respectivamente, com índices de infecção de 0,06% e 0,01%.

Em 1966, uma criança adquiriu a doença, provavelmente na Lagoa do Taquaral, onde foram coletados moluscos com índice de infecção de 0,11%. Na década de 70, foi construído um parque e loteados os terrenos ao redor da Lagoa, diminuindo assim o contato com a lagoa. No entanto, atualmente ainda são encontrados moluscos infectados no local (SUCEN, comunicação pessoal).

Em 1976 e 1977, foram descobertos outros focos de esquistossomose no município nos bairros Chácara do Japonês, Vila Costa e Silva e Barão Geraldo, a partir de moluscos positivos (SUCEN, comunicação pessoal).

Os dados sobre a situação da esquistossomose no município de Campinas no período anterior a 1979 são muito escassos, resumindo-se a algumas fichas epidemiológicas e a publicações citadas até aqui. Essa situação começou a ser modificada a partir de 1978, com a regulamentação do sistema de Vigilância Epidemiológica no Estado e a confirmação da esquistossomose como doença de notificação compulsória (LIMA, 1993).

CAMPOS *et alii* (1991) analisaram a evolução do Programa de Controle da Esquistossomose no Estado de São Paulo, no período de 1981-1990, e observaram a notificação de 200.001 casos, sendo que destes 23.016 (11,5%) eram autóctones. Estes dados indicam uma tendência de queda no total de casos notificados e na autoctonia. Segundo CAMPOS *et alii* (1991) "na área de

abrangência do Serviço Regional de Campinas, nos três últimos anos, observa-se aumento do número de casos autóctones e do percentual de autoctonia (75%) em relação aos casos notificados, sugerindo uma possível expansão da doença nesta área".

LIMA (1993) analisou os dados da SUCEN no período de 1970-1990 e observou uma tendência decrescente nos coeficientes de casos autóctones notificados; porém notou uma ampliação da área do município onde residem os casos autóctones e uma tendência de afastamento desses bairros em relação a zona central da cidade. Estes casos se distribuem por 117 bairros e a transmissão ocorre através do contato com coleções hídricas destinadas a atividades de lazer, assim como em outros focos paulistas (SUCEN, 1982; MARÇAL Jr. et alii, 1993).

Em 1994, foram coletados caramujos positivos no Jardim São Marcos, em Campinas, e as cercárias liberadas foram identificadas como sendo de *S. mansoni* (REZENDE, 1994).

A maioria dos estudos sobre linhagens paulistas de *S. mansoni* foram feitos utilizando-se as linhagens do Vale do Paraíba (SJ) e Vale do Ribeira (Itariri), comparando-as com a linhagem mineira (BH) (MAGALHÃES, 1969a; MAGALHÃES & CARVALHO, 1973a, 1973b; MAGALHÃES & DIAS, 1973; PARAENSE & CORRÊA, 1981; FIGUEIREDO, 1991).

Estudos experimentais e de campo têm demonstrado que ocorre variação intraespecífica dentro do gênero *Schistosoma* quanto à características morfológicas, infectividade para os moluscos, período de eliminação de cercárias, resposta a drogas, capacidade de desenvolvimento em hospedeiros definitivos experimentais, taxa de crescimento, produção de ovos, período pré-patente, patogenicidade e imunogenicidade (ROLLINSON & SOUTHGATE,

1987).

Existem numerosos trabalhos sobre a suscetibilidade de moluscos; FILES & CRAM (1949) afirmaram que parasitos oriundos de áreas endêmicas diferentes apresentam diferenças fisiológicas intra e interespecíficas. PARAENSE & CORRÊA (1963a) estudaram a suscetibilidade de 23 populações de *B. glabrata* de procedências diversas e seus resultados corroboram aqueles apresentados acima. NEWTON (1953) e RICHARDS & MERRITT (1972) concluíram que a suscetibilidade está relacionada a fatores genéticos e outros, tais como o tamanho e idade do molusco e a quantidade de miracídios infectantes.

Diferentes índices de positividade têm sido observados por vários pesquisadores, quando estudaram experimentalmente a suscetibilidade de *B. glabrata* e *B. tenagophila* à infecção por diferentes linhagens de *S. mansoni* (PARAENSE & CORRÊA, 1963a, 1963b, 1978, 1981; MAGALHÃES & DIAS, 1973; CHIEFFI, 1975; SANTANA *et alii*, 1978; CARVALHO *et alii*, 1979; FREITAS *et alii*, 1985; DIAS *et alii*, 1987; ZANOTTI-MAGALHÃES, 1987; DIAS *et alii*, 1988; FIGUEIREDO *et alii*, 1992).

PARAENSE & CORRÊA (1963b) constataram a existência de duas linhagens de *S. mansoni* distintas no Brasil, a linhagem BH, oriunda de Belo Horizonte (MG) e a linhagem SJ, oriunda de São José dos Campos (SP), que têm como hospedeiros intermediários a *B. glabrata* e *B. tenagophila*, respectivamente. Os autores sugeriram a existência, em certas áreas, de uma adaptação fisiológica entre o molusco e a linhagem local do parasito. O estudo comparativo entre as duas linhagens revelou as seguintes diferenças (PARAENSE & CORRÊA, 1981): comprimento dos vermes adultos e tamanho dos ovos são maiores na linhagem BH; índices de infecção mais altos na

associação *B. glabrata* - linhagem BH; período pré-patente mais longo na associação *B. tenagophila* - linhagem SJ; as duas populações de moluscos são praticamente refratárias à infecção com a linhagem alopátrica. Estes resultados indicam melhor adaptação hospedeiro-parasito na associação *B. glabrata* - linhagem BH do que na associação *B. tenagophila* - linhagem SJ de *S. mansoni*. A infertilidade entre as duas linhagens permite concluir que as diferenças observadas são meramente intra-específicas e que elas podem ser consideradas como raças biológicas distintas de *S. mansoni* (PARAENSE & CORRÊA, 1981).

MAGALHÃES (1969a) obteve índices de infecção de 40% e mortalidade de 50%, na exposição da *B. tenagophila* de Campinas (SP) à infecção com a linhagem SJ do trematódeo.

CHIEFFI (1975) mostrou que exemplares de *B. tenagophila*, originários de Londrina, eram resistentes à infecção pela linhagem simpátrica de *S. mansoni*, não sendo infectado nenhum caramujo, independente do seu diâmetro ( idade ) e do número de miracídios a que foram expostos. Estes resultados levantaram a hipótese de que a linhagem paranaense do molusco difere das linhagens paulistas, responsáveis pela manutenção de focos de esquistossomose mansônica.

PARAENSE & CORRÊA (1978) observaram um índice de positividade de 37,7% utilizando a *B. tenagophila* de Campinas e a linhagem SJ de *S. mansoni*. O estudo determinou a suscetibilidade de *B. tenagophila* de 20 localidades a esta linhagem com índices de infecção de 0 a 91,5%.

SOUZA (1986) reviu os trabalhos sobre suscetibilidade das três espécies de moluscos mineiros ( *B. tenagophila*, *B. straminea* e *B. glabrata* ) a diferentes linhagens de *S. mansoni*, salientando a importância epidemiológica da adaptação parasito-hospedeiro.

DIAS et alii (1987) detectaram variações de suscetibilidade de *B.*

*tenagophila*, *B. straminea* e *B. glabrata* a seis linhagens diferentes de *S. mansoni* que associadas às correntes migratórias de portadores indicaram a importância da transmissão da esquistossomose humana de São Paulo à outras regiões brasileiras.

DOUMENGE *et alii* (1987) compararam uma linhagem do verme adaptada a *B. glabrata* e outra adaptada a *B. tenagophila*, encontrando diferenças no tamanho dos vermes adultos, dos ovos e no período pré-patente da infecção no molusco. As populações de moluscos estudadas têm se mostrado suscetíveis à sua linhagem específica de *S. mansoni* mas refratária à infecção com outras linhagens.

ZANOTTI-MAGALHÃES (1987) relacionou a suscetibilidade de *B. glabrata* de Belo Horizonte (MG) e *B. tenagophila* de São José dos Campos (SJ) à infecção pelas linhagens BH e SJ, respectivamente, de *S. mansoni* simpátricas e a patogenicidade desenvolvida pelo parasito no hospedeiro definitivo. A autora ressaltou que, na linhagem paulista, quanto maior a suscetibilidade do molusco maior o número de ovos do parasito eliminados com as fezes do hospedeiro, sendo esse fator de grande importância epidemiológica.

FIGUEIREDO (1992) observou que, levando em conta que o hospedeiro intermediário era *B. tenagophila*, a linhagem paulista de Itariri (Vale do Ribeira) apresentou índice de infecção bastante elevado ( 8,3% com 1 miracídio e 60% com 10 ).

Há diferenças na infectividade, patogenicidade e morfologia entre linhagens de *S. mansoni* de diferentes áreas geográficas e hospedeiros definitivos (SAOUD, 1966; WARREN, 1967, ANDERSON & CHEEVER, 1972; POWERS & CHEEVER, 1972; MAGALHÃES & CARVALHO, 1969, 1973a, 1973b, 1976; MAGALHÃES *et alii*, 1975; PARAENSE & CORRÊA, 1981; ZANOTTI

**et alii**, 1983; CARVALHO **et alii**, 1986; ZANOTTI-MAGALHÃES, 1987; COELHO **et alii**, 1989; FIGUEIREDO, 1991).

SAOUD (1966), em estudos com *S. mansoni* do Egito, Porto Rico e Tanzânia, demonstrou que não há relação entre a virulência e a carga parasitária e que, a distribuição dos ovos nos tecidos era influenciada pela linhagem do parasito e pela espécie do hospedeiro. Além disso, ele sugeriu que o grau de infectividade do hospedeiro intermediário determinaria a patogenicidade dos esquistossomos.

MAGALHÃES & CARVALHO (1969; 1973a) avaliaram a capacidade de penetração de cercárias e a recuperação de vermes adultos nas linhagens BH e SJ. Esses autores constataram que a linhagem BH apresentou maior poder de penetração pela cauda de camundongos e que não houve diferenças nos índices de recuperação de vermes. MAGALHÃES **et alii** (1975) verificaram que a capacidade patogênica da linhagem BH é maior que da SJ.

ELOI-SANTOS **et alii** (1992) relacionaram diferenças na mortalidade, patofisiologia e suscetibilidade com o sexo do hospedeiro definitivo, em estudo utilizando cercárias da linhagem de *S. mansoni* de Porto Rico.

FIGUEIREDO (1991) estudou, experimentalmente, a patogenicidade da linhagem paulista de Itariri em camundongos, segundo os seguintes parâmetros: capacidade de penetração de cercárias e recuperação de vermes e virulência causada ao camundongo.

Estudos clínicos e experimentais sobre a quimioterapia da esquistossomose demonstram que existe uma grande variação nas respostas terapêuticas e na suscetibilidade de linhagens diversas de *S. mansoni* (KATZ **et alii**, 1973; CAMPOS **et alii**, 1976; DIAS **et alii**, 1978; ARAÚJO **et alii**, 1980; DIAS **et alii**, 1983; OLIVIER **et alii**, 1983; COLES **et alii**, 1986; BRUCE **et alii**,

1987; KINOTTI, 1987; FIGUEIREDO, 1991).

Suscetibilidade diferencial de linhagens de *S. mansoni* de áreas geográficas diferentes ao oxamniquine tem sido observada por FOSTER (1973), ARAÚJO *et alii* (1980), PEDRO *et alii* (1980) e DIAS *et alii* (1982).

ROLLINSON & SIMPSON (1987) acreditam que as diferentes suscetibilidades às drogas esquistossomicidas não são restritas a nível da espécie do parasito, mas que podem refletir também a origem geográfica, sexo e estágio de desenvolvimento dos parasitos.

FIGUEIREDO & DIAS (1988) avaliaram a suscetibilidade da linhagem paulista isolada em Campinas, distrito de Barão Geraldo, das fezes de paciente não tratado para esquistossomose. Esta se mostrou mais tolerante ao oxamniquine que ao praziquantel, nas dosagens de 1 x 100 mg/Kg e 5 x 100 mg/Kg, respectivamente.

FIGUEIREDO (1991) avaliou e comprovou, experimentalmente, a suscetibilidade da linhagem paulista de Itariri ao oxamniquine e praziquantel.

A suscetibilidade das linhagens às drogas esquistossomicidas deve ser avaliada em diferentes áreas endêmicas para determinar possível resistência de linhagens locais e avaliar estratégias de tratamento mais convenientes (DELGADO *et alii*, 1992).

SAOUD (1966) reportou diferenças na morfologia de linhagens de *S. mansoni* de Porto Rico, Tanzânia e Egito. As diferenças morfológicas entre os vermes adultos das linhagens BH e SJ foram demonstradas por MAGALHÃES & CARVALHO (1973b) e PARAENSE & CORRÊA (1981), que concluíram haver diferenças significativas entre elas. A mesma metodologia foi utilizada por FIGUEIREDO (1991) no estudo morfológico da linhagem paulista de Itariri.

Durante a última década, as técnicas de Biologia Molecular aplicadas à



Parasitologia têm levado os pesquisadores a utilizar o genoma de *S. mansoni* e sua expressão para o entendimento de questões fundamentais da biologia do parasito e suas relações com seus hospedeiros (SIMPSON, 1987).

McCUTCHAN **et alii** (1984) distinguiram linhagens de *S. mansoni* que exibiam diferentes índices de infectividade para o molusco, baseando-se no padrão de bandas gerado pela hibridização de probes rRNA no Southern blots.

Estudos eletroforéticos complementam os métodos tradicionais de caracterização usando as diferenças enzimáticas para distinguir espécies de *Schistosoma* (BRYANT & FLOCKHART, 1986; ROLLINSON **et alii**, 1986).

BRINDLEY **et alii** (1989) usaram probes de rRNA para investigar a base genética da resistência em modelo onde a resistência ao hycanthone foi produzida pela exposição de vermes imaturos à droga. Como ocorre resistência cruzada entre hycanthone e oxamniquine é possível que as alterações genéticas associadas à expressão de resistência ao oxamniquine podem ser semelhantes àquelas descritas para hycanthone.

Marcadores ou sequências de DNA polimórficos ampliados pela técnica de PCR ( Polymerase Chain Reaction ) têm sido utilizados na diferenciação entre espécies, linhagens e indivíduos dentro do gênero *Schistosoma*. WALKER **et alii** (1989), ROLLINSON **et alii** (1990) e GASSER **et alii** (1991), utilizando aqueles métodos, conseguiram identificar larvas de *Schistosoma* do campo de maneira rápida e sensível. BARRAL **et alii** (1993) as usaram como ferramenta na determinação de linhagens de *S. mansoni* de áreas geográficas diferentes: Brasil ( Recife ), Guadalupe e Venezuela. PENSCHOW **et alii** (1993) utilizaram tal método na identificação, em cortes histológicos do fígado de camundongos infectados com a linhagem de Porto Rico, de ovos que se desenvolveram em esquistossomos fêmeos, realizando uma hibridização histoquímica. O método de

hibridização histoquímica poderia ser usado, também, na determinação das proporções fêmea/macho no fígado e dos sexos de larvas nos moluscos.

Pelo exposto, temos conhecimento de dados biológicos e morfológicos de apenas duas linhagens paulistas do trematódeo ( SJ e Itariri ). É então necessário o estudo biológico e morfológico de linhagens de *S. mansoni* em seus hospedeiros definitivos e intermediários simpátricos, de outras regiões epidemiologicamente importantes do Estado, entre as quais se encontra a região do município de Campinas.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar biológica e morfológicamente a linhagem campineira de *S. mansoni* no modelo experimental *B. tenagophila*-camundongo swiss, avaliando-se os seguintes parâmetros:

- \* Suscetibilidade do hospedeiro intermediário (*B. tenagophila*);
  - Índice de infecção
  - Período pré-patente
  - Mortalidade
  
- \* Suscetibilidade do hospedeiro definitivo ( camundongo swiss ):
  - Capacidade de penetração de cercárias
  - Peso do fígado e do baço
  - Diâmetro dos granulomas hepáticos
  - Oograma
  - Morfometria dos vermes adultos e ovos
  
- \* Suscetibilidade da linhagem de *S. mansoni* às drogas esquistossomicidas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **1. Linhagem de *Schistosoma mansoni***

A linhagem utilizada no estudo foi a CAMP-H, originária do Jardim São Domingos, Campinas, SP. Esta foi isolada a partir das fezes de três pacientes autóctones, não tratados para esquistossomose, em agosto de 1992. Com a finalidade de proceder o isolamento da linhagem, foram infectados 100 moluscos com 10 miracídios (GRUPO M1). As cercárias obtidas nestes moluscos foram usadas na infecção de 20 camundongos Swiss (GRUPO C1- geração parental do verme). Os miracídios obtidos dos ovos coletados nas fezes destes roedores foram utilizados para a constituição dos grupos experimentais de moluscos. A linhagem está sendo mantida no Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da UNICAMP, no modelo experimental *B. tenagophila* simpátrica-camundongo Swiss.

### **2. Hospedeiro intermediário**

A criação de moluscos *B. tenagophila* foi ampliada a partir de matrizes mantidas no Departamento de Parasitologia, sendo originários do distrito de Barão Geraldo, Campinas, SP.

### **3. Hospedeiro definitivo**

Os camundongos utilizados foram Swiss, fêmeas com idade ao redor de 4 semanas, fornecidos pelo Biotério Central da UNICAMP. Eles foram mantidos em caixas plásticas com tampa metálica e alimentados com ração de animal de laboratório e água " ad libitum ".

### **4. Formação dos grupos experimentais**

Para o experimento foi usada a progênie F1 do verme da seguinte maneira (Figura 1):

#### **\* MOLUSCOS**

**GRUPO M2-** 60 moluscos infectados com 10 miracídeos/molusco.

**GRUPO M3-** 60 moluscos infectados com 1 miracídio/molusco.

**GRUPO M4-** 60 moluscos não infectados (controle).

#### **\* CAMUNDONGOS**

**GRUPO C2-** 20 camundongos infectados com 70 cercárias/camundongo e tratados com oxamniquine ( OXA ).

**GRUPO C3-** 20 camundongos infectados com 70 cercárias/camundongo e tratados com praziquantel ( PZQ ).

**GRUPO C4-** 20 camundongos infectados com 70 cercárias/camundongo que não receberam tratamento (controle).

**GRUPO C5-** 20 camundongos não infectados (sadios).

Paralelamente, foram formados outros grupos com a finalidade de manter o estoque da linhagem, caso ocorressem imprevistos no desenvolvimento do trabalho.

Optou-se por grupos de 20 animais devido ao desconhecimento da patologia da linhagem do parasito em estudo.

### **5. Identificação dos camundongos**

Os camundongos foram marcados com ácido pícrico no pêlo, sendo separados em gaiolas (10 animais / gaiola), conforme esquema a seguir:

<b>CAMUNDONGO</b>	<b>MARCAÇÃO</b>
1 .....	CABEÇA
2 .....	DORSO
3 .....	CABEÇA E DORSO
4 .....	CAUDA
5 .....	PATA DIANTEIRA DIREITA
6 .....	PATA DIANTEIRA ESQUERDA
7 .....	PATA TRASEIRA DIREITA
8 .....	PATA TRASEIRA ESQUERDA
9 .....	AMBAS PATAS DIANTEIRAS
10 .....	AMBAS PATAS TRASEIRAS

A numeração foi feita seguindo essa sequência da gaiola 1 a 10 ininterruptamente.

## **6. Sorteio dos tratamentos para os camundongos**

Os camundongos dos grupos C2, C3 e C4 foram submetidos a sorteio.

O método de aleatorização usado para aplicação dos 3 tratamentos (C2, C3 e C4) teve como objetivos: evitar o uso de julgamento pré-concebido ou arranjos sistemáticos; garantir um número de camundongos para cada tratamento e prover uma base para posterior análise estatística. Este método, de blocos permutados aleatoriamente, é descrito abaixo:

Para 3 tratamentos (blocos de 3 camundongos), foram selecionadas as seguintes combinações:

A B C para dígito 1

A C B para dígito 2

B A C para dígito 3

B C A para dígito 4

C A B para dígito 5

C B A para dígito 6

ignorando os dígitos 0, 7, 8 e 9

Números foram obtidos, usando-se a tabela de números aleatórios e assinalados cada um a combinação de letras correspondente.

Desta maneira, uma lista aleatória de tratamentos foi gerada usando-se os dígitos de 1 a 6, um dígito para cada 3 tratamentos (POCOCK, 1986).

### **7. Manutenção de *Biomphalaria tenagophila* em laboratório**

Os moluscos destinados à exposição ao trematódeo foram mantidos em tanques de Eternit ( 50 L ) e alimentados, diariamente, com folhas de alface fresca ( lavada com solução de ácido acético 0,1% ) e ração para rato triturada com adição de carbonato de cálcio 10% (SOUZA *et alii*, 1987). Para facilitar a obtenção e transferência das desovas, usamos pedaços de isopor como substrato.

### **8. Obtenção de miracídios**

As fezes humanas foram homogeneizadas com salina 0,85% e filtradas em gaze. Esse filtrado foi passado em uma sequência de quatro peneiras de malhas metálicas de 125, 105, 88 e 37  $\mu\text{m}$ . Durante esta operação o material foi lavado com salina 0,85% a 10 C. O sedimento obtido na peneira de malha mais fina foi ressuspenso em água decolorada e exposto à luz e temperatura de 28 C para a eclosão dos miracídios (STANDEN, 1952) .

### **9. Infecção dos moluscos**

Espécimes de *B. tenagophila*, criados no laboratório, medindo de 5 a 8

mm de diâmetro, foram expostos individualmente em frascos com 1 e/ou 10 miracídios recém-eclodidos. Os moluscos foram expostos à luz e temperatura de 28 C durante 2 horas (PELLEGRINO & MACEDO, 1955). Após o período de exposição, os moluscos foram transferidos para aquários de vidro e mantidos conforme aqueles dos tanques de Eternit. Os moluscos do grupo controle foram submetidos às mesmas condições de manipulação e exposição à luz e calor.

## **10. Avaliação da suscetibilidade dos moluscos**

Esta avaliação foi realizada em todos os grupos experimentais cujos moluscos foram expostos a miracídios de *S. mansoni* da geração F1.

### **10.1. Exame dos moluscos**

Os moluscos foram examinados semanalmente a partir de 21 dias após a infecção e durante 77 dias. O grupo controle (M4) foi submetido às mesmas condições dos infectados (M2 e M3).

Os moluscos foram examinados individualmente, para observar a eliminação de cercárias, usando-se pequenos frascos de vidro com água declorada; após a exposição individual à luz e temperatura de 28 C durante 2 horas; a presença de cercárias foi detectada com microscópio estereoscópico (OLIVIER & STIREWALT, 1952).

### **10.2. Mortalidade de moluscos**

A mortalidade de moluscos expostos à infecção e a do grupo controle foi



registrada diariamente, durante 77 dias após a infecção.

### **10.3. Acompanhamento do período de eliminação de cercárias**

Após 77 dias de infecção aqueles moluscos que eliminaram cercárias, foram mantidos em observação, sendo examinados semanalmente, com a finalidade de se detectar o término de liberação das larvas.

## **11. Infecção dos camundongos**

Realizou-se infecção dos camundongos, utilizando-se a técnica de imersão da cauda do animal em suspensão contendo 70 cercárias/roedor, durante 2 horas de exposição à luz e temperatura de 28 C (OLIVIER & STIREWALT, 1952). As cercárias foram obtidas a partir de moluscos infectados no laboratório. Foram usados, no mínimo, 40 moluscos positivos, a fim de se conseguir uma infecção com equilíbrio no sexo dos vermes (PELLEGRINO & KATZ, 1970).

Os animais foram imobilizados segundo a técnica descrita por BROOME & RADKE (1971) e adaptada por FIGUEIREDO (1991).

## **12. Capacidade de penetração de cercárias**

A capacidade de penetração das cercárias foi avaliada pela contagem de cercárias inteiras sobrenadantes, após exposição de camundongos do grupo controle ( C4 ) à luz e temperatura de 28 C. O número de cercárias penetrantes foi obtido pela diferença de cercárias a que cada camundongo foi exposto e o número obtido na contagem de cercárias sobrenadantes (MAGALHÃES, 1969b).

### **13. Mortalidade de camundongos**

A mortalidade dos camundongos foi anotada diariamente, durante 10 semanas após a infecção, quando foram, então, sacrificados. A mortalidade foi avaliada em todos os grupos de camundongos.

### **14. Tratamento dos camundongos com drogas esquistossomicidas**

Os animais foram pesados após 55 dias de infecção e as drogas foram administradas oralmente por tubagem gástrica, nas seguintes dosagens:

**GRUPO C2** - Oxamniquine - dose única de 100 mg / Kg ( mansil xarope diluído em água destilada ).

**GRUPO C3** - Praziquantel puro - dose diária de 100 mg/Kg/5 dias; diluído em solução aquosa contendo 25% de glicerina e 1% de cremophor (COLES et alii, 1986).

**GRUPO C4** - Controle - dose única de 0,3 ml de água destilada.

O intervalo entre o término do tratamento e a perfusão foi de 14 dias.

### **15. Perfusão dos camundongos**

Os camundongos de todos os grupos foram sacrificados na décima semana

de infecção, por deslocamento cervical e submetidos à perfusão do sistema porta-hepático (YOLLES *et alii*, 1947). Os vermes da veia porta foram somados àqueles do sistema das veias mesentéricas.

## **16. Coleta dos vermes**

Após a perfusão e extração de vermes do fígado por esmagamento (HILL, 1956), eles foram contados e classificados segundo a localização, sexo e vitalidade.

## **17. Percentagem de recuperação de vermes**

A recuperação de vermes foi verificada, mediante a contagem de vermes recolhidos nas perfusões dos sistemas porta-hepáticos dos camundongos infectados (GRUPO C4).

A percentagem de recuperação foi calculada a partir do número de cercárias penetrantes por camundongo.

## **18. Morfologia dos vermes**

Os vermes coletados de camundongos não tratados (GRUPO C4) foram fixados em álcool 70% e corados pelo Carmin Clorídrico (SCHELL, 1969).

As medições foram feitas utilizando-se um microscópio óptico com câmara clara, mesa digitalizadora acoplada ao microcomputador e programação idealizada pelo Prof. Eduardo Buzatto, do Departamento de Computação, do Instituto de Matemática, Estatística e Ciências da Computação, da UNICAMP.

Os vermes foram observados no microscópio com aumento de 32X.

### 19. Avaliação da suscetibilidade do verme a drogas esquistossomicidas

A avaliação da suscetibilidade dos grupos tratados com drogas esquistossomicidas obedeceu os seguintes critérios:

- \* Percentagem de vermes no fígado e mesentério
- \* Percentagem de vermes acasalados
- \* Percentagem de vermes mortos no fígado
- \* Percentagem de animais com alteração de oograma (PELLEGRINO & KATZ, 1968)

- \* Percentagem de vermes sobreviventes (JANSMA *et alii*, 1977):

$$T \times 100$$

$$\% \text{ de vermes sobreviventes} = \frac{\quad}{\quad}$$

$$C$$

onde:

T= nº médio de vermes vivos no grupo teste

C= nº médio de vermes vivos no grupo controle

- \* Percentagem de redução de vermes (GÖNNERT & ANDREWS, 1977):

$$100 \times n^{\circ} \text{ de vermes mortos}$$

$$\% \text{ de redução de vermes} = \frac{\quad}{\quad}$$

$$n^{\circ} \text{ de vermes mortos e vivos}$$

\* Percentagem de eficácia (KEMP *et alii*, 1956):

$$X - Y$$

$$\% \text{ de eficácia} = \frac{\text{-----}}{X} \times 100$$

X

onde:

X= n<sup>o</sup> médio de vermes vivos no grupo controle

Y= n<sup>o</sup> médio de vermes vivos no grupo teste

## 20. Oograma

O estudo do oograma qualitativo foi realizado em fragmentos do intestino delgado em animais dos grupos C2, C3 e C4. A classificação dos estágios de desenvolvimento dos ovos imaturos seguiu o seguinte critério (PRATA, 1957; PELLEGRINO *et alii*, 1962): 1º estágio, o embrião ocupa um terço do diâmetro transversal do ovo; 2º estágio, o embrião tem tamanho aproximadamente igual ao diâmetro transversal do ovo; 3º estágio, o embrião ocupa dois terços do diâmetro longitudinal do ovo; 4º estágio, embrião ocupa praticamente a casca do ovo inteira. Os ovos maduros contêm um miracídio completamente desenvolvido. Os ovos mortos e cascas de ovos também foram classificados. Foram observados cerca de 300 ovos por animal (PELLEGRINO & KATZ, 1968).

## 21. Verificação dos pesos corporal, do fígado e do baço

Os camundongos dos grupos C2, C3, C4 e C5 foram pesados em balança semi-analítica, antes da infecção, na vigência do tratamento e do sacrifício.

As pesagens do fígado e do baço dos animais dos grupos C4 e C5 foram

efetuadas após perfusão utilizando-se balança semi-analítica.

## **22. Fixação de fragmento do fígado**

Após a pesagem do órgão, retirou-se um fragmento do lobo maior do fígado dos camundongos controle infectados (GRUPO C4). O material foi fixado em solução de Bouin aquoso 5% durante 24hs e incluídos em parafina para posterior realização de cortes histológicos.

## **23. Cortes histológicos**

Foram feitos cortes histológicos com 5  $\mu\text{m}$  de espessura, corados pela Hematoxilina e Eosina (HE).

Para cada fragmento de fígado foram montados 6 lâminas, com 4 a 10 cortes seriados, para cada lâmina. O intervalo de corte obedecido foi de 400 $\mu\text{m}$  para cada duas lâminas seriadas e assim sucessivamente (GUARALDO, 1987).

## **24. Medidas dos diâmetros das reações granulomatosas**

A verificação do tamanho da reação granulomatosa foi dada pela média de 2 diâmetros intercruzados em ângulo reto (CARVALHO *et alii*, 1986; GUARALDO, 1987; ZANOTTI-MAGALHÃES, 1987; COELHO *et alii*, 1989). Optou-se, também, em fornecer a área do granuloma, utilizando-se do produto de dois diâmetros: maior e menor. Com finalidade de se obter maior precisão no ângulo entre as medições, utilizou-se ocular micrométrica Zeiss (8X).

Para cada camundongo, foram medidas apenas as reações que apresentavam

com nitidez o ovo na sua porção central, presentes nos cortes das 6 lâminas examinadas (GUARALDO, 1987; ZANOTTI-MAGALHÃES, 1987). As lesões contendo mais de um ovo ou as contíguas com outras lesões foram ignoradas.

## **25. Medidas dos ovos de *Schistosoma mansoni***

As fezes dos camundongos do grupos C2, C3 e C4 foram coletadas aos 45-55 dias de infecção (antes do tratamento) e o pool destas foi submetido ao método de sedimentação espontânea (LUTZ, 1919) para obtenção de ovos.

O material obtido foi suspenso em solução salina 0,85% e observado em microscópio com aumento de 320 X.

As dimensões dos ovos ( maior comprimento e maior largura) foram medidas com ocular micrométrica Zeiss.

## **26. Análise estatística**

O sistema SAS® versão 6.04 (1986) foi utilizado para leitura e processamento dos dados. Utilizamos o procedimento UNIVARIATE para o cálculo das estatísticas sumárias contidas nas tabelas do ANEXO. Para gráficos e box-plots, foram utilizados os procedimentos GPLOT, SHEWHART e CAPABILITY. Todas as análises de variância foram realizadas ao nível de significância de 0,0001 e os testes de comparações múltiplas de Duncan a 0,05.

O box-plot (diagrama de caixa) é um gráfico simples que fornece uma grande quantidade de informação sobre características de um conjunto de dados. Diagramas de caixas descrevem a massa dos dados por um retângulo (caixa) cujos limites inferior e superior são, respectivamente, o primeiro (Q1) e o

terceiro (Q3) quartis. A mediana (Q2), ou segundo quartil, é designada por uma linha horizontal traçada dentro do retângulo. A média é denotada por um símbolo "+". Linhas verticais, são extraídas dos finais das caixas para um valor adjacente inferior e superior. O valor adjacente superior é a maior observação que é menor ou igual a  $Q3 + 1,5 ( Q3 - Q1 )$ . O valor adjacente inferior é a menor observação que é maior ou igual a  $Q1 - 1,5 ( Q3 - Q1 )$ . Quaisquer valores que caiam fora dos valores adjacentes são destacados separadamente sobre o gráfico ( com um símbolo  $\square$  ), pois eles identificam observações discrepantes ( outliers ). As posições relativas dos quartis Q1, Q2 e Q3, bem como as observações discrepantes, dão uma idéia da assimetria da distribuição.

Detalhes sobre os procedimentos estatísticos estão nas tabelas do ANEXO.



## RESULTADOS

### 1. Estudo da linhagem no hospedeiro intermediário

Avaliou-se a suscetibilidade de *B. tenagophila* à linhagem campineira de *S. mansoni* por meio do período pré-patente, da percentagem de moluscos que eliminavam cercárias e da mortalidade dos moluscos expostos.

Analisando-se descritivamente os períodos pré-patentes dos dois grupos de moluscos infectados, observamos que foram diferentes. O GRUPO M2 (exposto a 10 miracídios) começou a eliminar cercárias a partir do 35º dia após a infecção e o GRUPO M3 (exposto a 1 miracídio), aos 49 dias (Tabela I). O índice de infecção alcançado foi baixo: 25% no primeiro e 5,7% no segundo grupo (Tabela I; Figura 2).

Os moluscos infectados com 10 miracídios apresentaram índice de mortalidade- 90% mais alto que os infectados com 1 miracídio- 55% (Figura 3). Como ocorreram semanas com índices de mortalidade muito baixos, agrupamos as mortalidades semanais em períodos mais longos (0 a 28 dias, 28 a 42, 42 a 56, 56 a 70 e uma última categoria com o número de sobreviventes finais) para atender as propriedades do teste  $\chi^2$  (Tabela I). Os índices de mortalidade dos moluscos dos três grupos foram analisados pelo qui-quadrado de Pearson ( $\chi^2_{(10)} = 59,12$ ), revelando taxas de mortalidade altamente diferentes. Aplicamos o mesmo teste ( $\chi^2_{(5)} = 8,38$ ) na comparação entre as mortalidades dos grupos M3 e M4 (controle), com nível de significância de 13,6%, o que nos leva a afirmar que a pequena superioridade na mortalidade do

primeiro grupo não foi significativa . O período de liberação de cercárias foi acompanhado até o final, por ocasião da morte dos caramujos positivos que ocorreu aos 91 dias de infecção no GRUPO M2 e aos 84 dias de infecção no GRUPO M3 (Figuras 2 e 3).

## **2. Estudo da linhagem no hospedeiro definitivo**

A linhagem apresentou infectividade elevada no hospedeiro definitivo: magnitude média de  $68,7 \pm 1,53$  cercárias penetrantes (Tabela I do ANEXO) correspondente a 98,1% (Figura 4); a recuperação média de vermes adultos em camundongos infectados e não tratados ( GRUPO C4 ) foi de 44,5% (Figura 4).

As taxas de mortalidade dos camundongos após o tratamento foi de 21%, 5% e 0%, respectivamente, para os grupos tratados com praziquantel, oxamniquine e controle.

Os pesos corporais dos animais de todos os grupos nas datas da infecção ( iniciais ) e da perfusão ( finais ) foram avaliados utilizando análise de variância e o teste de comparações múltiplas de Duncan. Foi constatada igualdade entre os pesos finais médios do grupo de camundongos sadios ( 38,42g ) e tratados com praziquantel ( 38,80g ) e com oxamniquine ( 36,80g ), sendo estes maiores que aqueles não tratados ( 31,80g ) (Figura 5). A Figura 6 e a Tabela II exibem o ganho de peso corporal para os camundongos de todos os grupos entre as datas da infecção e perfusão. O GRUPO C3 ( tratado com PZQ ) obteve um ganho médio de peso de 16,2g, o GRUPO C2 ( tratado com OXA ) 14,4g, o GRUPO C4 ( controle ) 9,5g e o GRUPO C5 (sadios) 15,4g. O teste F e o teste de comparações múltiplas de Duncan revelaram que estes ganhos de peso são significativamente diferentes. Houve acentuado ganho de peso corporal dos

animais tratados comparável ao dos camundongos sadios (Figura 6).

Os pesos do fígado e baço dos animais infectados ( tratados e não tratados) foram superiores ao dos animais sadios ( Figuras 7 e 8 ). Com o objetivo de verificar como os pesos do fígado e do baço e o número de cercárias penetrantes agem sobre a determinação do peso final dos camundongos do grupo controle, foi aplicada uma análise de regressão, onde constatamos que o peso do fígado é altamente significativo ( significância  $\cong 0,007$ ), o número de cercárias penetrantes moderadamente significativo ( significância  $\cong 0,03$  ) e o baço não foi significativo ( significância  $\cong 0,75$  ).

As dimensões das reações granulomatosas foram obtidas através das medições de 54 granulomas presentes nos cortes histológicos dos fígados de 19 camundongos infectados ( GRUPO C4 ). O diâmetro médio obtido foi de 296,08  $\mu\text{m}$ , com valores máximo e mínimo de 375,58  $\mu\text{m}$  e 52,11  $\mu\text{m}$ , respectivamente. O produto médio dos diâmetros ( maior e menor ) correspondeu à área de  $296,08 \pm 81,27 \mu\text{m}^2$ . Não foi possível realizar maior número de medidas pois haviam numerosos granulomas coalescentes e com ausência de ovo na posição central.

### **3. Estudo da suscetibilidade de *Schistosoma mansoni* a drogas esquistossomicidas**

Na avaliação das drogas esquistossomicidas, trataram-se 19 animais nos grupos C3 ( tratados com PZQ ) e C4 ( controle ) e 20 no C2 ( tratados com OXA ). O número de animais examinados nos respectivos grupos foi de 15, 19 e 19 (Tabela II).

O número médio de vermes coletados nas perfusões dos camundongos não

tratados ( GRUPO C4 ) foi de  $30,58 \pm 6,73$  por animal e de apenas  $11,8 \pm 5,56$  e  $9,89 \pm 6,05$  para os animais medicados com praziquantel ( GRUPO C3 ) e oxamniquine (GRUPO C2 ), respectivamente (Tabela III).

Os dados sobre a distribuição dos vermes coletados e classificados por sexo ( macho, fêmea e casal ) encontram-se na Tabela III. Não houve diferenças entre as distribuições de vermes machos e fêmeas coletados nos grupos de camundongos infectados, embora a variabilidade do número de vermes machos do grupo controle seja maior (Figura 10). Nos grupos de camundongos tratados com OXA 61,7% eram vermes machos e nos medicados com PZQ 66,6% (Tabela III). Nos camundongos do grupo controle 61% dos vermes estavam acasalados; já nos tratados por PZQ e OXA 7,8% e 2,1% eram casais, respectivamente (Tabela III).

As percentagens de vermes vivos coletados na perfusão dos camundongos tratados com PZQ ( 11,8% ) e OXA ( 17% ) foram bem mais baixas que a dos não tratados ( 98,9% ) (Tabela III e Figura 11).

As distribuições do número de vermes coletados no fígado não tiveram grandes diferenças de um grupo para outro enquanto a dos vermes coletados no mesentério foram diferentes (Figura 12). A análise de variância ( $F_{(2,50)} = 232,34$ ) e o teste de comparações múltiplas de Duncan não revelaram diferenças entre as percentagens de vermes coletados no fígado obtidas no grupos tratados C2 ( 98,4% ) e C3 ( 92,1% ), sendo ambas diferentes e bem mais altas que as do controle ( 23,1% ) (Tabela IV e Figura 13). O fenômeno de migração dos vermes para o sistema porta-hepático foi nítido nos animais tratados.

A análise de variância e o teste de comparações múltiplas de Duncan foram utilizados para analisar as percentagens de vermes acasalados, de vermes mortos no fígado e de redução de vermes.

Foram encontradas diferenças (  $F_{(2,50)} = 112,49$  ) entre as percentagens médias de vermes acasalados. As percentagens médias de vermes acasalados dos grupos C2 ( 1,7% ) e C3 ( 7,4% ) não foram significativamente diferentes, contudo estas diferiram da média obtida no GRUPO C4 ( 57,8% ) que foi superior as outras duas ( Tabela V; Tabelas XX, XXI e XXII do ANEXO; Figura 14 ).

O teste para diferenças entre as percentagens de vermes mortos no fígado para os três grupos resultou altamente significativo (  $F_{(2,50)} = 209,58$  ). A percentagem de vermes mortos no fígado no grupo tratado com praziquantel ( 88,6% ) foi mais alta que no tratado com oxamniquine ( 83% ), que, por sua vez, foram em média, mais altas que a do grupo controle ( Tabela V; Tabelas XX, XXI e XXII do ANEXO; Figura 15 ).

O teste para as diferenças entre as percentagens de redução de vermes resultou altamente significativo (  $F_{(2,50)} = 176,16$  ). Não houve diferença significativa entre as percentagens de redução de vermes dos camundongos tratados com praziquantel ( 88,6% ) e oxamniquine ( 82,9% ) que foram, em média, mais altas que as dos camundongos não tratados com drogas esquistossomicidas ( 1,1% ) ( Tabela V; Tabelas XX, XXI e XXII do ANEXO; Figura 16 ).

As percentagens de alteração de oograma foram iguais nos grupos tratados ( 100% ) e diferiram da do grupo controle, onde não se observou alteração de oograma (Tabela VI). As percentagens de vermes sobreviventes nos grupos tratados ( 5,5% no GRUPO C2 e 4,6% no GRUPO C3 ) não revelaram grandes diferenças (Tabela VI).

A eficácia foi apreciável e estatisticamente igual nas duas drogas utilizadas: 95,4% para praziquantel e 94,4% para oxamniquine (Tabela VI).

#### **4. Estudo morfológico da linhagem de *Schistosoma mansoni***

##### **4.1. Ovos**

Para o estudo morfológico dos ovos de *S. mansoni* foram medidos 135 ovos e obtidos  $56,37 \pm 8,09\mu\text{m}$  de largura média e  $133,69 \pm 19,98\mu\text{m}$  de comprimento. Somente foram medidos ovos com o espículo visível no plano horizontal. Como medida para análise estatística tomamos, também, o produto das medidas de comprimento e largura: média de  $7591,96 \pm 1615,42\mu\text{m}^2$  por representarem proporcionalmente a área do ovo.

##### **4.2. Vermes adultos**

Para o estudo morfológico dos vermes foram medidos o comprimento de 104 vermes machos e 83 fêmeas pois estes estavam fixados em posição adequada. Os comprimentos médios observados em vermes machos e fêmeas foram, respectivamente,  $6,15 \pm 0,19\text{mm}$  e  $5,02 \pm 1,22\text{mm}$ .

**TABELAS**

---

Tabela I. Suscetibilidade de *Biomphalaria tenagophila* infectadas individualmente com 10 e 1 miracídeos da geração F1 da linhagem campineira de *Echistosoma mansoni*.

DIAS DE OBSERVAÇÃO APÓS A INFECÇÃO	MOLUSCOS INFECTADOS						CONTROLE NÃO- INFECTADO					
	COM 10 MIRACÍDIOS			COM 1 MIRACÍDIO			COM 10 MIRACÍDIOS			COM 1 MIRACÍDIO		
	VIVOS MORTOS	ELIMINARAM CERCÁRIAS	%	VIVOS MORTOS	ELIMINARAM CERCÁRIAS	%	VIVOS MORTOS	ELIMINARAM CERCÁRIAS	%	VIVOS MORTOS	ELIMINARAM CERCÁRIAS	%
00	60	-	0,0	60	-	0,0	60	-	0,0	60	-	0,0
07	57	-	5,0	60	-	0,0	60	-	0,0	60	-	0,0
14	57	-	5,0	60	-	0,0	60	-	0,0	60	-	0,0
21	51	0	15,0	55	0,0	8,3	55	0,0	8,3	60	0,0	0,0
28	47	0	21,7	55	0,0	8,3	55	0,0	8,3	57	0,0	5,0
35	43	5	28,3	54	11,6	10,0	54	0,0	10,0	57	0,0	5,0
42	35	1	41,7	53	2,9	11,7	53	0	11,7	57	0	5,0
49	28	3	53,3	50	10,7	16,7	50	1	16,7	53	2,0	11,7
56	21	4	65,0	48	19,0	20,0	48	2	20,0	51	4,2	15,0
63	18	4	70,0	42	22,2	30,0	42	2	30,0	47	4,8	21,7
70	12	3	80,0	35	25,0	41,7	35	2	41,7	45	5,7	25,0
77	06	1	90,0	27	16,7	55,0	27	1	55,0	40	3,7	33,3

Obs: Em cada grupo foram ripostos 60 moluscos



**Tabela II.** Pesos corporais de camundongos infectados com 70 cercárias, da geração F1 de *Schistosoma mansoni* isolada do município de Campinas, SP.

GRUPOS	NÚMERO DE CAMUNDONGOS	PESO MÉDIO ( g )			
		INICIAL	TRATAMENTO	FINAL	VARIAÇÃO
SADIO	19	23,05 ± 1,22	-	38,42 ± 4,15	15,37 ± 0,92
PRAZIQUANTEL	15	22,63 ± 1,90	31,44 ± 4,67	38,80 ± 0,48	16,17 ± 0,85
OXAMNIQUINE	19	22,38 ± 1,47	33,43 ± 3,34	36,79 ± 3,10	14,41 ± 0,80
CONTROLE	19	22,37 ± 2,19	31,25 ± 4,29	31,83 ± 0,45	9,46 ± 0,74

**Tabela III.** Número médio de vermes coletados em camundongos dos grupos controle, praziquantel e oxamniquine infectados com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni* isolado do município de Campinas, SP.

GRUPO DE CAMUNDONGOS	NÚMERO MÉDIO DE VERMES COLETADOS												
	VIVOS						MORTOS						
	MACHO		FÊMEA		CASAL		MACHO		FÊMEA		CASAL		TOTAL
N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
CONTROLE	9,16 ± 4,88	30,0	2,42 ± 1,84	7,9	9,32 ± 3,46	30,5	0,32 ± 0,65	1,0	0,05 ± 0,22	0,2	0	0,0	30,58 ± 6,73
PRAZIQUANTEL	0,33 ± 0,60	2,8	0,80 ± 1,87	6,8	0,13 ± 0,34	1,1	7,53 ± 3,07	63,8	2,20 ± 2,23	18,6	0,33 ± 0,47	2,8	11,80 ± 5,56
OXAMNIQUINE	0,26 ± 0,44	2,7	1,32 ± 1,69	13,3	0,05 ± 0,22	0,5	5,84 ± 5,25	59,0	2,26 ± 2,31	22,9	0,05 ± 0,22	0,5	9,89 ± 6,05

Dosagens: praziquantel- 100mg/Kg/5 dias, via oral  
oxamniquine- 100mg/Kg/dose única, via oral

**Tabela IV.** Distribuição média de vermes coletados nos grupos ( controle, praziquantel e oxamniquine ) de camundongos infectados com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni* isolado no município de Campinas, SP.

GRUPO DE CAMUNDONGOS	DISTRIBUIÇÃO DE VERMES			
	FÍGADO		MESENTÉRIO	
	N	%	N	%
CONTROLE	7,95 ± 6,82	26,0	22,63 ± 7,51	74,0
PRAZIQUANTEL	10,87 ± 5,82	92,1	0,93 ± 1,65	7,9
OXAMNIQUINE	9,74 ± 5,89	98,4	0,16 ± 0,49	1,6

Dosagens: praziquantel - 100 mg/Kg/5 dias, via oral  
 oxamniquine - 100 mg/Kg/dose única, via oral

**Tabela V.** Média dos critérios de atividade esquistossomícida: percentagens de vermes coletados no fígado, de vermes acasalados, de redução de vermes e de vermes mortos no fígado nos grupos de camundongos (controle, praziquantel e oxamniquine) infectados com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

GRUPO	(n)	NÚMERO MÉDIO			
		% DE VERMES COLETADOS NO FÍGADO	% DE VERMES ACASALADOS	% DE REDUÇÃO DE VERMES	% DE VERMES MORTOS NO FÍGADO
CONTROLE	19	23,15 ± 15,14	57,77 ± 17,81	1,12 ± 2,01	2,82 ± 8,47
PRAZIQUANTEL	15	92,19 ± 12,91	7,38 ± 10,91	88,58 ± 16,38	95,91 ± 10,51
OXAMNIQUINE	19	98,31 ± 5,06	1,69 ± 5,06	82,95 ± 21,74	84,20 ± 21,33

Dosagens: praziquantel - 100 mg/Kg/5 dias, via oral  
oxamniquine - 100 mg/Kg/ dose única, via oral

**Tabela VI.** Avaliação da suscetibilidade de camundongos infectados com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni* isolado no município de Campinas, SP, a drogas esquistossomícidas (praziquantel e oxamniquine).

GRUPO DE CAMUNDONGOS	PERCENTAGENS DE						
	VERMES NO FÍGADO	CASAIS	MORTOS	ALTERAÇÃO DE OOGRAMA	VERMES SOBREVIVENTES	REDUÇÃO	EFICÁCIA
CONTROLE	28,3	30,5	1,2	0,0	-	1,2	-
PRAZIQUANTEL	92,1	4,0	88,1	100,0	4,6	88,1	95,4
OXAMNIQUINE	98,4	3,1	83,0	100,0	5,6	83,0	94,4

Dosagens: praziquantel - 100 mg/Kg/5 dias, via oral  
oxamniquine - 100 mg/Kg/ dose única, via oral

**FIGURAS**

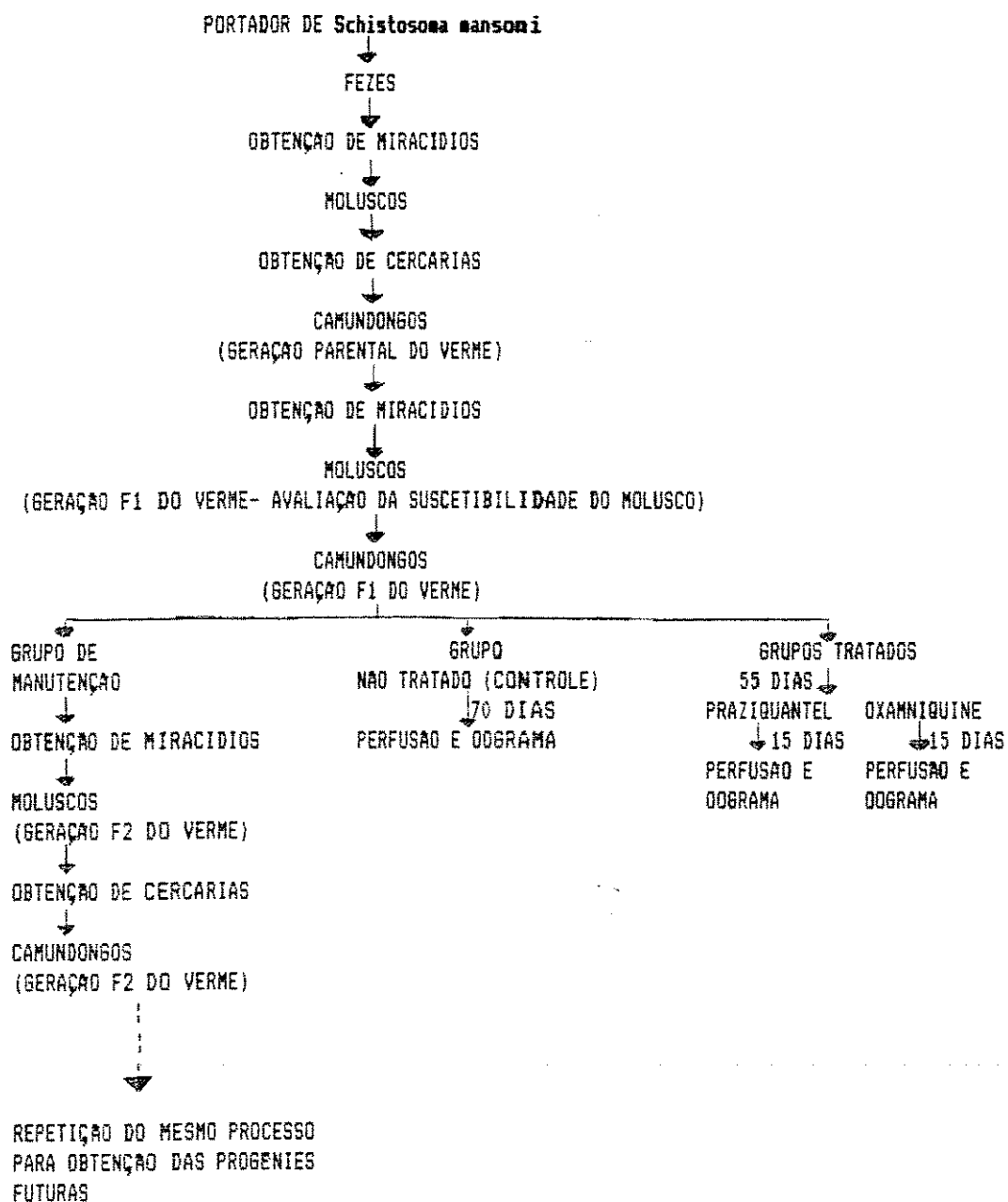


FIGURA 1 - MODELO EXPERIMENTAL PARA OBTENÇÃO E ESTUDO DA CEPA DE *S. mansoni*.

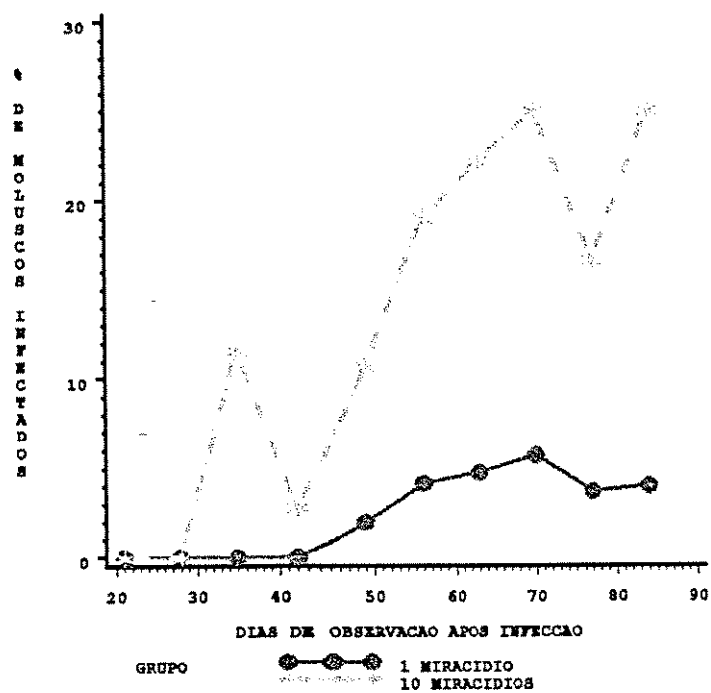


Figura 2. Cinética da eliminação de cercárias de *Biomphalaria tenagophila* infectadas com 1 e 10 miracídeos da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

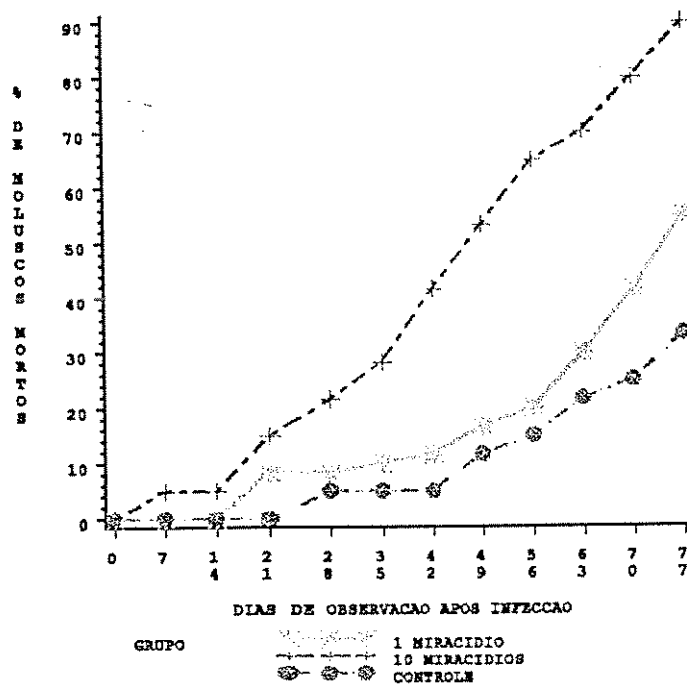
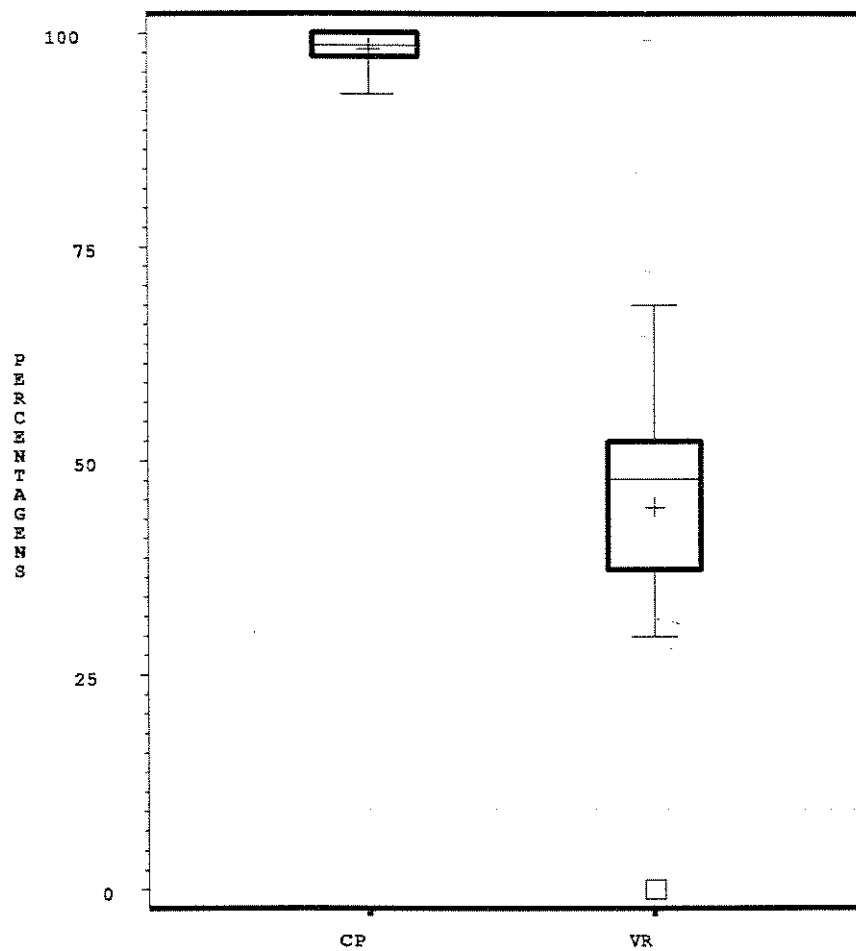
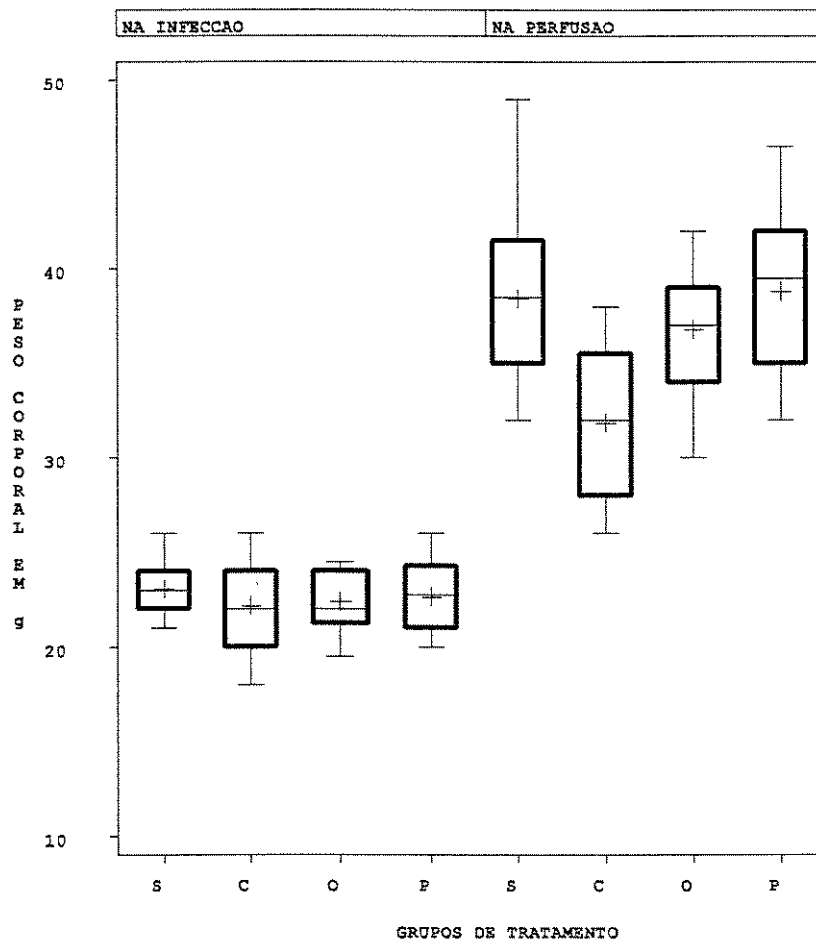


Figura 3. Mortalidade de *Biomphalaria tenagophila* não-infectadas (controle) e infectadas com 1 e 10 miracídeos, da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

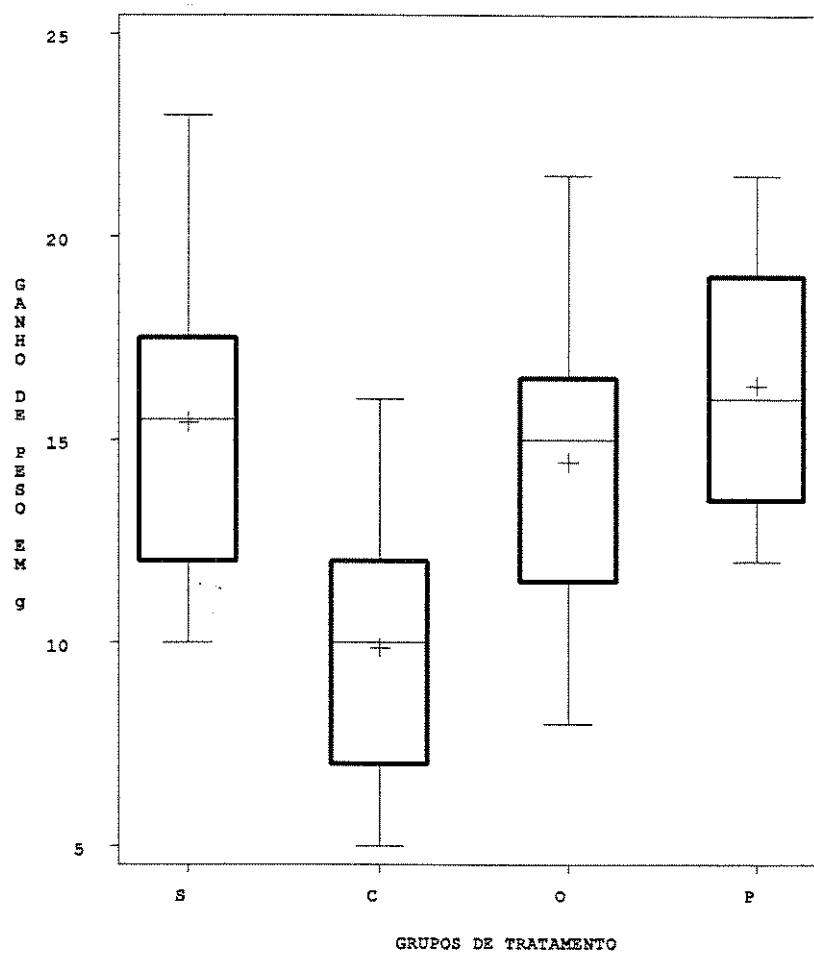


**Figura 4.** Diagramas de caixas ("Box-plots") para as distribuições das percentagens de cercárias penetrantes ( CP ) e vermes recuperados ( VR ), dos camundongos do grupo controle ( C ), infectados com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

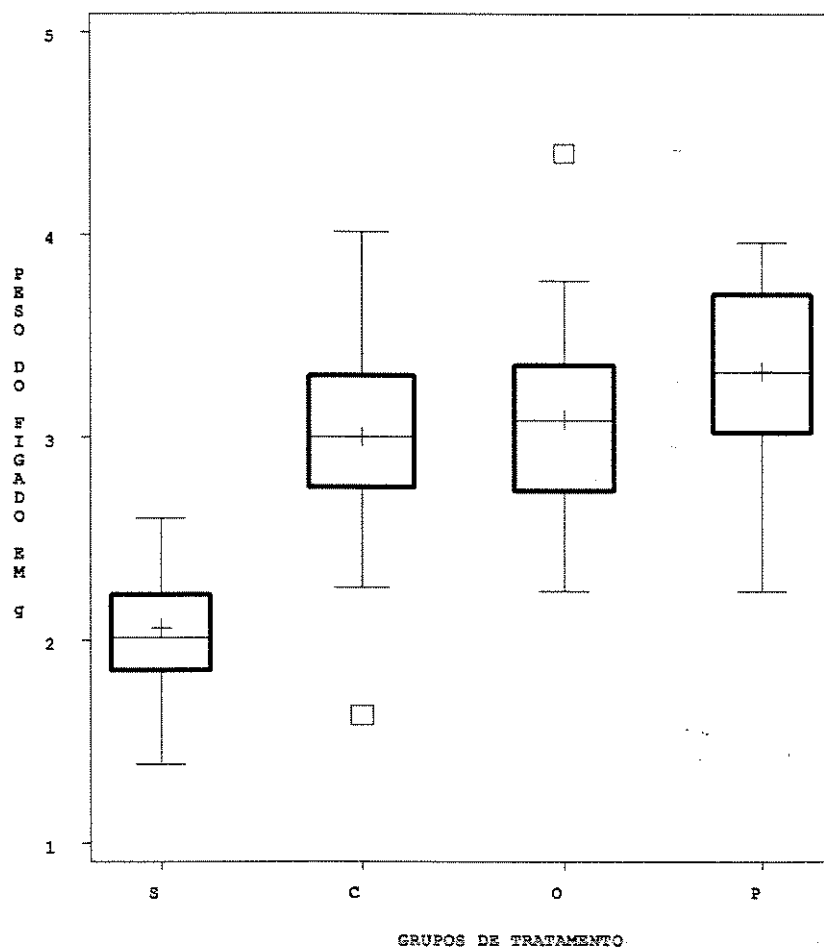




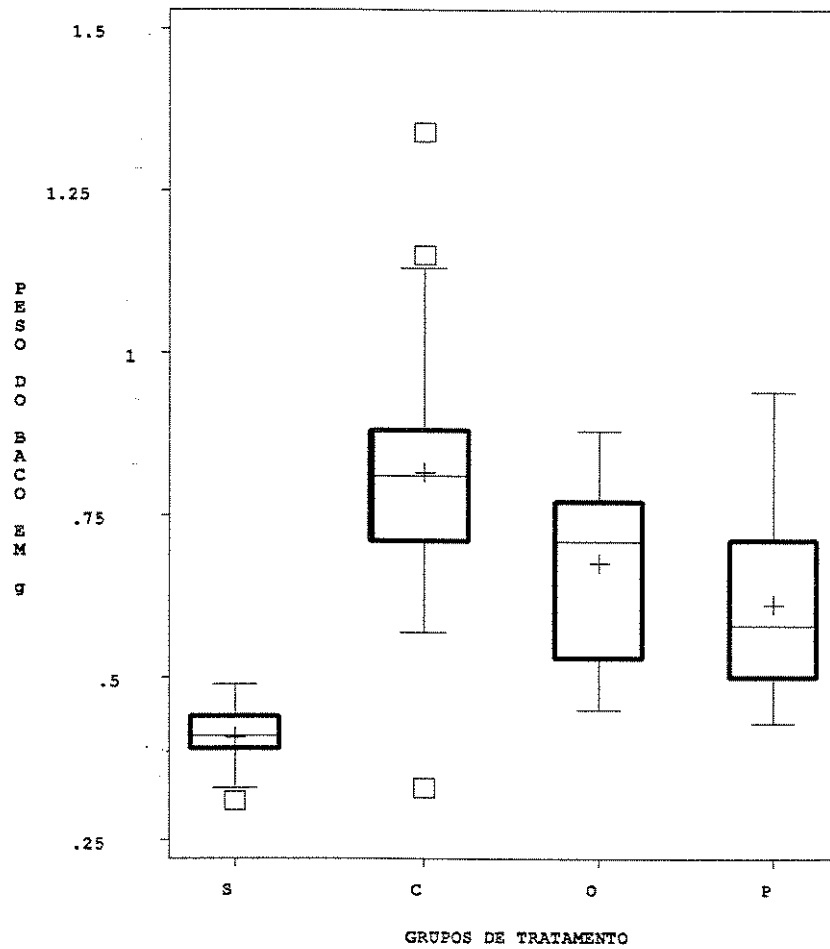
**Figura 5.** Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição dos pesos corporais, nas datas da infecção e perfusão, de camundongos saudios ( S ) e infectados ( C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.



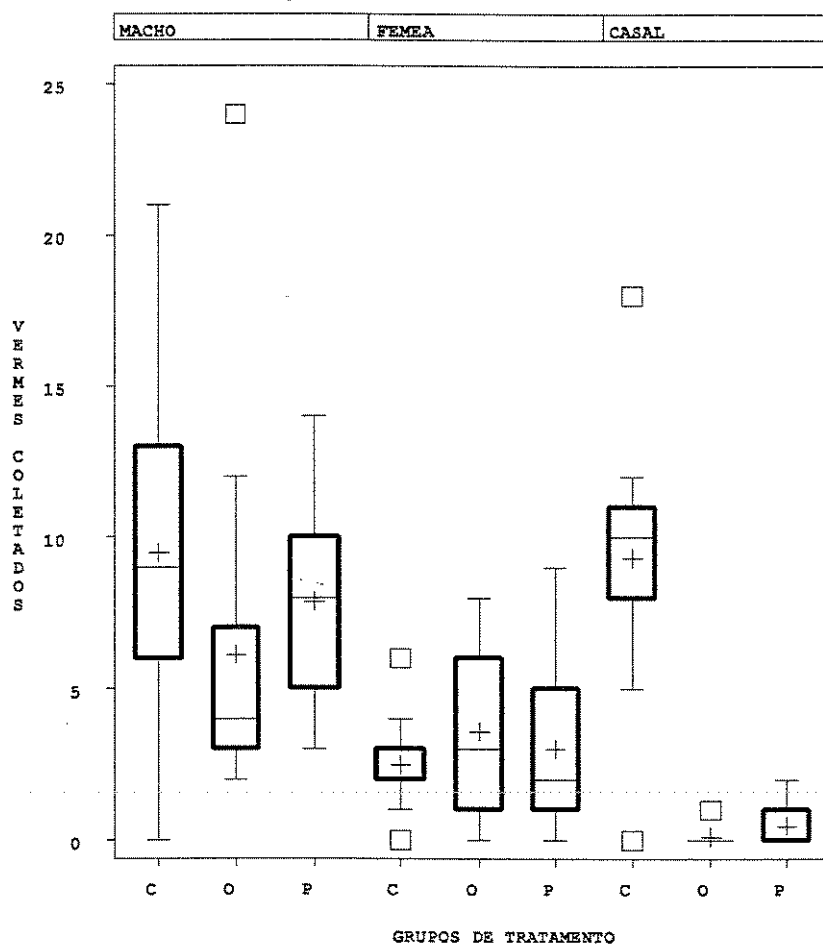
**Figura 6.** Diagrama de caixas ("Box-plots") para a distribuição do ganho de peso corporal entre as datas da infecção e perfusão, de camundongos sadios ( S ) e infectados ( C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel ) com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.



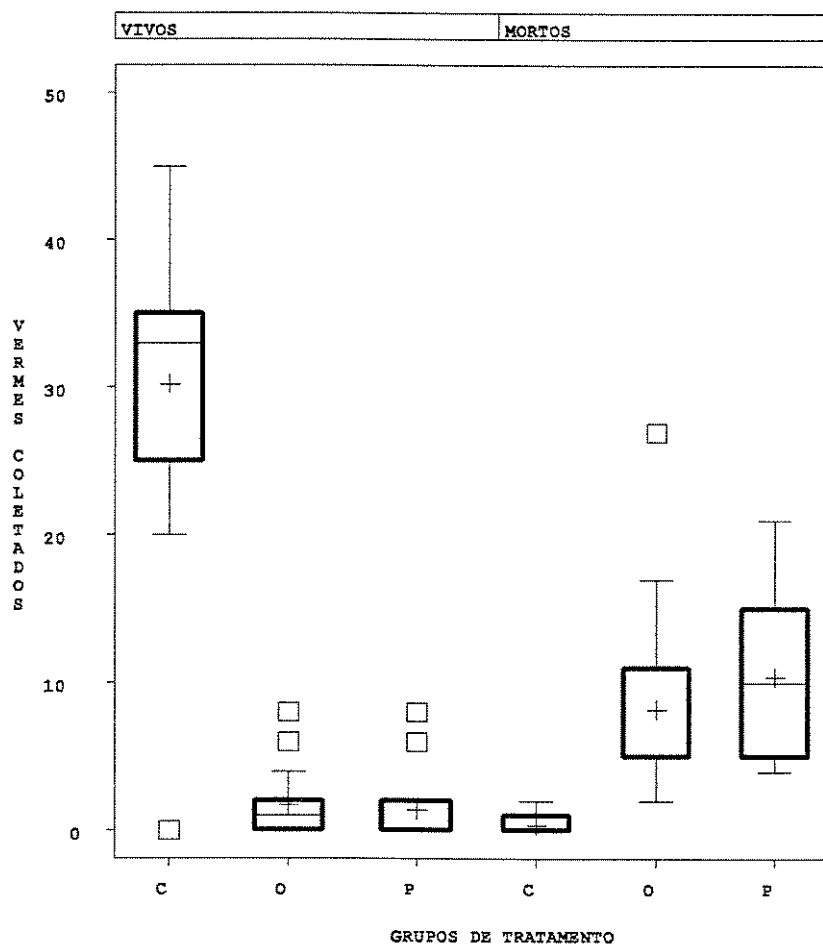
**Figura 7.** Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição do peso do fígado de camundongos sadios ( S ) e infectados ( C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel ) com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.



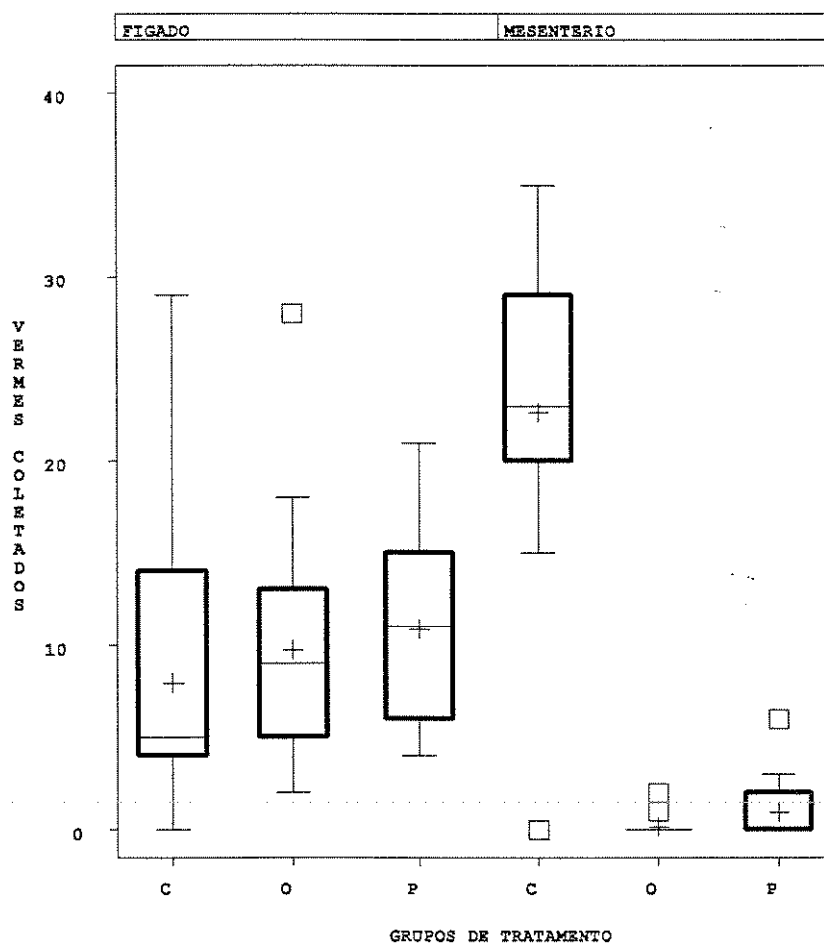
**Figura 8.** Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição do peso do baço de camundongos sadios ( S ) e infectados ( C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel ) com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.



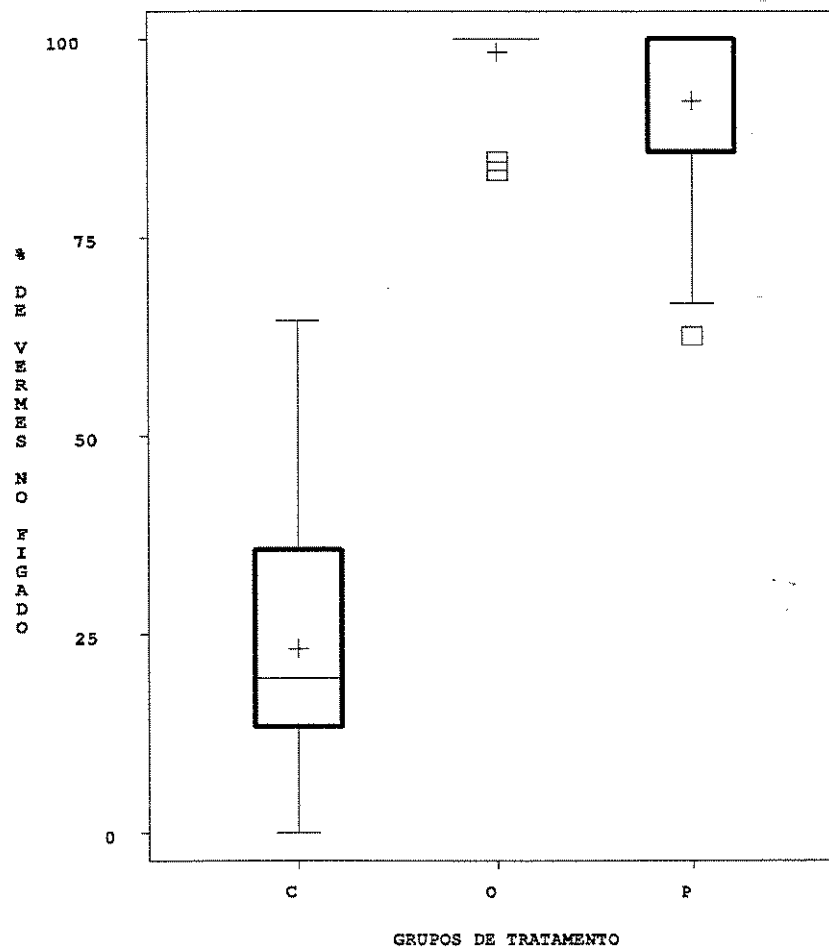
**Figura 9.** Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição por sexo, dos vermes coletados nos camundongos dos grupos (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), infectados com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.



**Figura 10.** Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição por vitalidade, dos vermes coletados nos camundongos dos grupos ( C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel ), infectados com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

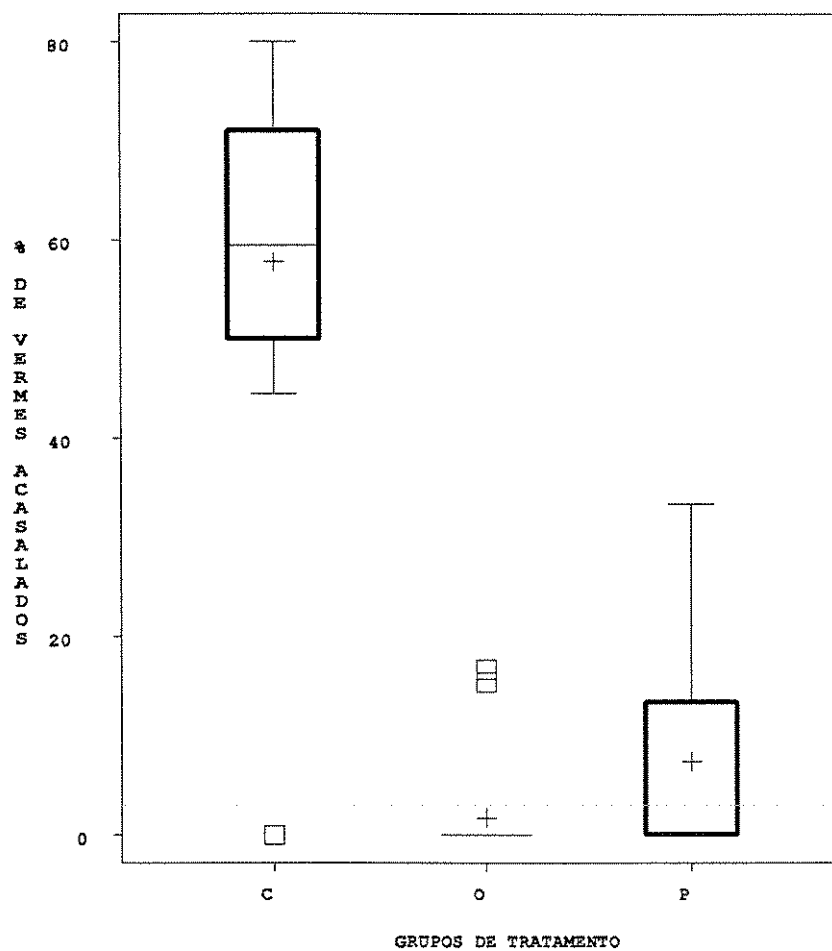


**Figura 11.** Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição por localização, dos vermes coletados nos camundongos dos grupos ( C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel ), infectados com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

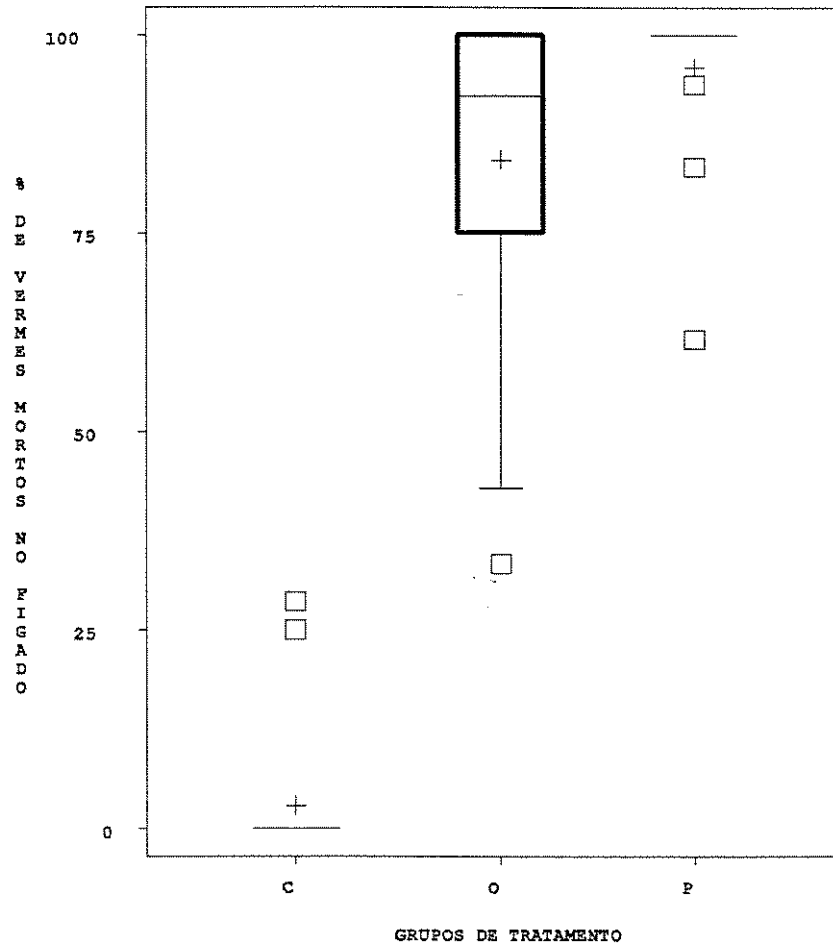


**Figura 12.** Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição das percentagens de vermes coletados no fígado, de camundongos dos grupos ( C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel ), infectados com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

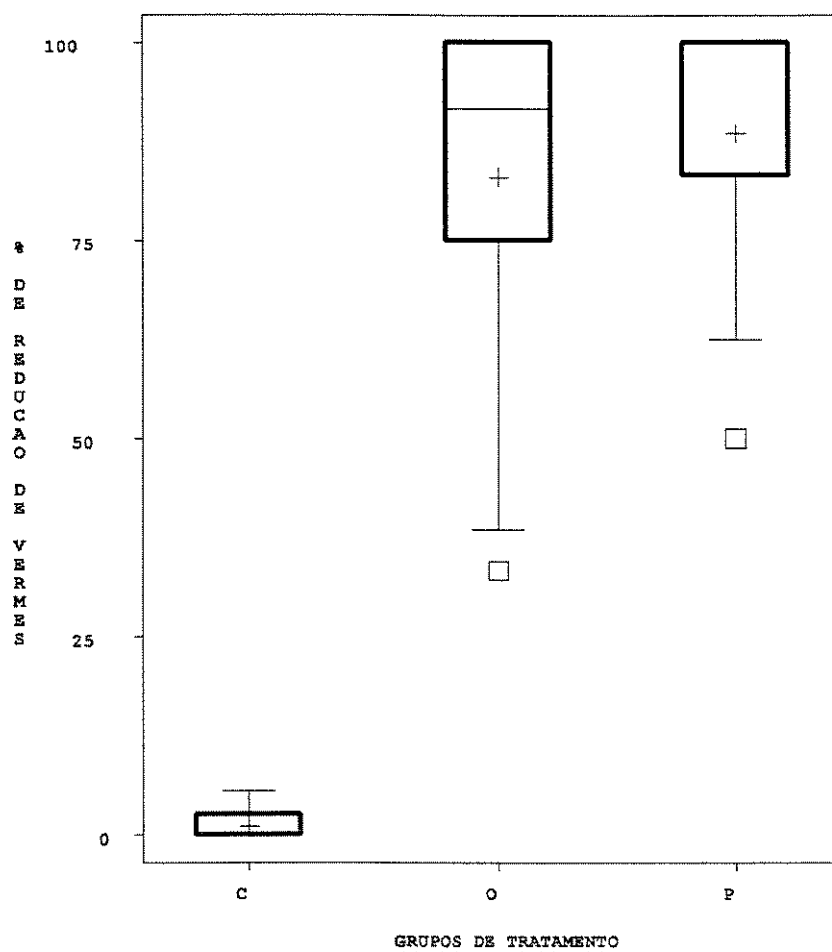




**Figura 13.** Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição das percentagens de vermes acasalados nos grupos ( C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel ), de camundongos infectados com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.



**Figura 14.** Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição das percentagens de vermes mortos no fígado, dos camundongos dos grupos ( C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel ), infectados com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.



**Figura 15.** Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição das percentagens de redução de vermes dos camundongos dos grupos ( C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel ), infectados com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

## DISCUSSÃO

A evolução dos organismos depende de sua variabilidade inerente. Se suas variações não se adaptam a uma mudança ambiente eles são usualmente eliminados; isto é verdade para organismos simples e complexos, porém, os helmintos eram frequentemente considerados como sendo estáticos em seu estágio de evolução por serem primitivos e bem adaptados aos seus hospedeiros (SAOUD, 1966). Estudos de linhagens geográficas de parasitos, inclusive *S. mansoni*, têm demonstrado que essa afirmação não é verdadeira (SAOUD, 1966). A variação intra-específica nas espécies humanas de *Schistosoma* é um fenômeno epidemiologicamente importante que gera conseqüências como diferenças na infectividade do molusco, no período de liberação de cercárias, na resposta a drogas, na capacidade de desenvolvimento no hospedeiro definitivo, nas taxas de crescimento, na produção e distribuição de ovos, nos períodos pré-patentes, na patogenicidade e na imunogenicidade (ROLLINSON *et alii*, 1986; BRYANT & FLOCKHART, 1986; McMANUS & HOPE, 1993).

O conhecimento do mecanismo de suscetibilidade do molusco a linhagens locais de *S. mansoni* (BASCH, 1975) e dos padrões de liberação de cercárias (MEHLHORN, 1988) são de grande interesse teórico e prático para o controle eficiente da esquistossomose. A suscetibilidade pode estar associada à constituição genética do miracídio (BASCH, 1975) e/ou ao genótipo das populações de moluscos (PARAENSE & CORRÊA, 1963b). Em populações naturais, esse genótipo varia tanto qualitativa quanto quantitativamente, ocasionando variações locais nas relações parasito-hospedeiro intermediário (RICHARDS, 1977). Tem sido verificado que as reações teciduais provocadas

pelas células amebocitárias impedem ou dificultam o desenvolvimento dos esporocistos em moluscos pouco suscetíveis ( NEWTON, 1952; KASSIM & RICHARDS, 1979; GUARALDO **et alii**, 1981; SULLIVAN & RICHARDS, 1981 ). No entanto, MINCHELLA & LoVERDE (1983) afirmaram que a fecundidade e sobrevivência de linhagens resistentes e suscetíveis de *B. glabrata* foram igualmente afetadas pela infecção com *S. mansoni*. Portanto, é questionável se resistência do hospedeiro intermediário à infecção é uma vantagem adaptativa.

A *B. tenagophila* tem sido considerada uma má hospedeira de *S. mansoni* no campo e no laboratório, não sendo, portanto, epidemiologicamente importante (PARAENSE & CORRÊA, 1963b; SUCEN, 1982; MAGALHÃES **et alii**, 1991). Nas últimas décadas, no entanto, em determinadas regiões do Estado de São Paulo, como nos vales dos rios Paraíba e Ribeira têm sido detectados focos onde ela é o hospedeiro intermediário com baixos índices de infecção natural (PIZA **et alii**, 1960; RAMOS **et alii**, 1969; SUCEN, 1982).

A suscetibilidade da *B. tenagophila* à linhagem CAMP-H foi avaliada segundo o índice de infecção, acompanhamento do período de eliminação de cercárias e a taxa de mortalidade.

Considerando o índice de moluscos que eliminavam cercárias, 25% para moluscos infectados com 10 miracídeos e 5,7% com 1 miracídio (Figura 2) e as altas taxas de mortalidade, 90,0% em moluscos infectados com 10 miracídeos, 55% nos infectados com 1 miracídio e 33,3% no controle (Figura 3), podemos sugerir que a cepa campineira ainda não está bem adaptada ao seu hospedeiro intermediário simpátrico. Somente as chances de infecção é que são maiores com 10 miracídeos e o efeito da infecção é significativo na morte dos moluscos ( Figura 3 ). Estes começaram a morrer no período de formação e migração dos

esporocistos secundários para órgãos essenciais como glândulas digestivas ( hepatopâncreas ) e menos frequentemente, ovoteste (JOURDANE & THÉRON, 1987). Por outro lado, os curtos períodos pré-patentes ( 35 dias - GRUPO M2 e 49 dias- GRUPO M3 ) apresentados pelos moluscos infectados ( Figura 2 ) parecem refletir uma adaptação parasito-hospedeiro mais adequada. A análise da cinética de eliminação de cercárias não foi acompanhada até a cura espontânea porque os caramujos positivos morreram aos 91 dias de infecção ( 1 miracídio ) e 84 dias ( 10 miracídios ) (Figura 2). MAGALHÃES (1969a) encontrou índices de infecção mais alto ( 40% ) e de mortalidade mais baixo ( 50% ) com a *B. tenagophila* campineira exposta à linhagem alopátrica SJ. FIGUEIREDO *et alii* (1992) acompanhou o período pré-patente da linhagem de Itariri ( 55 dias para moluscos infectados com 1 e 10 miracídios ) e observou uma sobrevida de moluscos positivos maiores que a nossa: 137 dias ( 1 miracídio ) e 159 dias de infecção ( 10 miracídios ). PARAENSE & CORRÊA (1981) encontraram índices de infecção de 3,98% ( 1 miracídio ) e 67,65% ( 10 miracídios ) com a linhagem SJ de São José dos Campos (SP) e FIGUEIREDO *et alii* (1992), 8% e 60%, respectivamente, com a linhagem paulista de Itariri. A infecção de moluscos com esta linhagem, ao contrário, não foi capaz de causar mortalidade significativa: 31% com 10 miracídios e 23% com 1 miracídio (FIGUEIREDO *et alii*, 1992). A alta mortalidade causada pela linhagem CAMP-H no hospedeiro intermediário não indica que ela seja mais bem adaptada que a linhagem de Itariri, uma vez que uma maior sobrevida do hospedeiro intermediário significaria maiores chances do parasito completar seu ciclo de vida no hospedeiro definitivo (ANDERSON & MAY, 1979). GOMES *et alii* (1993) observaram que a suscetibilidade dos caramujos *B. glabrata* à infecção pela linhagem de Ourinhos ( Vale do Paranapanema, SP ) e as taxas de

mortalidade foram de, respectivamente, 35% e 90% com 1 miracídio e 40% e 90% com 10 miracídios, demonstrando pouca adaptação do parasito ao seu hospedeiro intermediário.

Em Campinas, a despeito de nossos baixos índices de infecção em condições experimentais e de campo, o número absoluto de casos autóctones de esquistossomose tem aumentado nos últimos três anos (CAMPOS *et alii*, 1991; LIMA, 1993; REZENDE, 1994). A tendência de índices de infecção mais baixos em *B. tenagophila* e a diminuição da sobrevivência observados em nosso trabalho devem ser entendidas no contexto de um processo dinâmico de adaptação fisiológica ao *B. tenagophila*-*S. mansoni* através de passagens sucessivas pelo caramujo hospedeiro (PARAENSE & CORRÊA, 1978; DIAS *et alii*, 1987). É bem conhecido que em áreas de baixa endemicidade há uma desproporção entre o número de portadores e as taxas de infecção de moluscos. Ou seja, baixos índices de caramujos infectados e 10 a 15% de indivíduos parasitados por *S. mansoni* (DIAS *et alii*, 1988).

O grau de morbidade da esquistossomose mansônica humana não é o mesmo em regiões diferentes, possivelmente porque a infectividade e fecundidade de *S. mansoni* também variam (HIGGINS-OPITIZ & DETTMAN, 1991). A patogenia da esquistossomose mansônica pode estar relacionada com a infectividade da linhagem de *S. mansoni* aos hospedeiros definitivos e intermediários, com a produção e distribuição dos ovos nos tecidos, com o tamanho das reações granulomatosas e conseqüente aumento do tamanho do fígado e do baço.

As diferenças de infectividade entre as linhagens de *S. mansoni* em camundongo podem ocorrer devido a vários fatores: estado fisiológico da cercária; quantidade de cercárias penetrantes; duração da infecção; método de

infecção do hospedeiro definitivo; linhagem, sexo e idade do camundongo; pH e salinidade da água usada como meio de exposição e temperatura ambiente (SAOUD, 1966). Com o interesse de caracterizar as infecções de *S. mansoni* em camundongos a curto e longo prazo, CHEEVER *et alii* (1994) observaram a passagem de ovos nas fezes, o acúmulo de ovos nos tecidos, a patologia hepática e pulmonar e a relação dessas variáveis na intensidade de infecção, utilizando a linhagem porto-riquenha (NMRI) e concluíram que a presença de ovos nos tecidos e nas fezes diminui nas infecções crônicas.

O processo de penetração de cercárias no hospedeiro definitivo foi descrito por HASS (1976) em três etapas: (1) fixação ao hospedeiro, (2) movimentação no substrato e exploração de sítios de entrada e (3) penetração da epiderme por um sítio específico pela ação das glândulas cefálicas. As duas primeiras são desencadeadas por estímulos térmicos ou químicos e a penetração propriamente dita somente por estímulos químicos (HASS & SCHMITT, 1982a). AUSTIN *et alii* (1972) estudaram em ratos e SHIFF *et alii* (1972) no homem que a penetração é estimulada pelos lipídios da pele, principalmente as frações contendo ácidos graxos. A especificidade dos processos de penetração em *S. mansoni* é uma boa adaptação para o hospedeiro definitivo porque este padrão parece ser estável e expresso de forma similar por diversas linhagens de *S. mansoni*, dificultando a penetração das cercárias na pele do hospedeiro definitivo. Além disso, as cercárias sofrem injúrias causadas por substâncias estimulantes da epiderme e pela perda da proteção osmótica durante sua transformação para esquistossômulo. Entretanto, essa transformação é indispensável para a sobrevivência do parasito no hospedeiro e para a garantia da conclusão do ciclo de vida com a recuperação de vermes adultos (HASS & SCHMITT, 1982b).



Os resultados obtidos na infecção do hospedeiro definitivo (camundongo) com geração F1 de *S. mansoni* permitem observar que a capacidade de penetração de cercárias ( infectividade ) da linhagem CAMP-H foi bastante elevada ( 98,1% ) ( Figura 4 ), considerando que os parasitos penetram rapidamente via cutânea ou mucosa ( 2 a 15 minutos ) (BARBOSA, 1970) mas somente uma pequena proporção chega ao fígado para completar sua evolução. MILLER & WILSON (1978) observaram que a pele do camundongo constitui uma barreira intransponível para 60 a 70% das cercárias de *S. mansoni*. A percentagem de recuperação de vermes ( 44,5% ) em nosso estudo também foi elevada ( Figura 4 ) quando comparada com outros trabalhos. FIGUEIREDO (1991) observou, como nós, elevadas capacidade de penetração de cercárias ( 87% ) e recuperação de vermes ( 53% ) em estudo com a linhagem de Itariri. A capacidade de penetração de cercárias ( 92% ) e a recuperação de vermes adultos ( 52% ) na linhagem paulista de Ourinhos ( Vale do Paranapanema ) infectando *B. glabrata* foram também elevadas (GOMES et alii, 1993). MAGALHÃES & CARVALHO (1969) e LEMOS NETO et alii (1978) verificaram que as cercárias da linhagem mineira BH possuem maior capacidade de penetração ( 97% ) que as da SJ ( 79,1% ). Já ZANOTTI-MAGALHÃES (1987) usando os mesmos critérios de avaliação, observou que na linhagem SJ há maior capacidade de penetração das larvas que na BH, 95,5% e 90,3%, respectivamente. CLEGG (1965) observou, in vitro, que apenas 20% das cercárias são capazes de atingir a maturidade. SAOUD (1966) verificou índices de recuperação de vermes mais baixos ( entre 28% e 40% ) que os nossos, trabalhando com quatro linhagens diferentes de *S. mansoni* e utilizando 100 cercárias por camundongo. SAOUD (1966) ressaltou que estes resultados devem ser analisados levando-se em consideração a espécie do hospedeiro definitivo, a

temperatura ambiente e o número de cercárias utilizadas.

O camundongo foi nosso modelo de escolha devido suas características na evolução da infecção, em seu manejo simples e em sua fácil manutenção em laboratório (BRENER *et alii*, 1956). Além disso, são animais muito suscetíveis à infecção com *S. mansoni*, sendo o percentual de vermes recuperados grande e sua evolução assincrônica (FAUST *et alii*, 1934). Deste modo, a partir de uma única carga infectante é obtida grande quantidade de vermes em diferentes estádios evolutivos. BARBOSA (1976) estudou a migração e assincronismo evolutivo de *S. mansoni* em camundongo infectado, transcutaneamente, e observou que este ocorre desde a penetração das cercárias, durante a migração, até o desenvolvimento dos vermes adultos. Em nosso trabalho, não acompanhamos esse assincronismo e sacrificamos os camundongos quando havia apenas vermes adultos, ou seja, 70 dias após a infecção.

As reações inflamatórias granulomatosas induzidas pelos antígenos solúveis do ovo de *S. mansoni* nos tecidos do hospedeiro e mediadas pelos linfócitos T são as grandes responsáveis pelo quadro clínico apresentado na esquistossomose (WARREN, 1978). A reação granulomatosa máxima ocorre normalmente na oitava semana de infecção, após o que granulomas recém-formados não crescem muito, caracterizando o fenômeno denominado modulação (BOROS & WARREN, 1970; CHENSUE & BOROS, 1979). As medidas dos granulomas hepáticos de nosso estudo foram feitas na décima semana de infecção (70 dias), quando seu tamanho já estava modulado. COELHO *et alii* (1989) constataram que as dimensões dos granulomas hepáticos causados pelos ovos de *S. mansoni* na fase aguda da doença, variam em consequência de fatores, tais como: tempo de evolução do granuloma; estado imunológico do hospedeiro; intensidade de infecção; número de exposições à

mesma ou a linhagens diferentes; número de vermes que escapam à defesa do organismo do hospedeiro e número de ovos depositados nos tecidos.

A comparação dos diâmetros das reações granulomatosas de nosso experimento ( $296,08 \pm 81,27 \mu\text{m}$ ) com os de outros trabalhos é bastante restrita devido às grandes variações nas metodologias utilizadas. Todavia, nos trabalhos que seguem a mesma metodologia, as medidas obtidas foram semelhantes. FIGUEIREDO (1991) obteve  $340,71 \pm 68,52 \mu\text{m}$  de diâmetro nas reações granulomatosas provocadas pela linhagem de Itariri e GOMES *et alii* (1993),  $326 \pm 68,5 \mu\text{m}$  na linhagem de Ourinhos. CARVALHO *et alii* (1986) mediram os granulomas da linhagem BH recém-isolada e obtiveram diâmetros de  $313 \pm 82,6 \mu\text{m}$  e  $340 \pm 82,80 \mu\text{m}$ , para amostras em fases aguda e crônica, respectivamente. ZANOTTI-MAGALHÃES (1987) estudou as linhagens BH e SJ, observando que os granulomas hepáticos de camundongos infectados com cercárias de moluscos mais suscetíveis eram menores e aventou a possibilidade de um reconhecimento mais rápido dos antígenos do ovo, responsáveis pela reação granulomatosa e por sua rápida modulação.

A maior mortalidade de camundongos tratados com praziquantel 21%, ( grupo C3 ) foi atribuída ao processo de tubagem gástrica. Aqui ele foi executado cinco vezes ( 1 / dia ) e nos grupos C2 ( 5% ) e C4 ( 0% ), respectivamente, oxamniquine e controle, apenas uma vez. Tem sido reportado que a hemorragia intestinal está associada com a mortalidade em camundongos infectados com *S. mansoni* e não tratados (CHEEVER, 1965). Em nossa linhagem, no entanto, não foi observado este sintoma nos camundongos e as reações granulomatosas eram pequenas ( $296,08 \mu\text{m}$ ). Reações granulomatosas pequenas ocasionam menor mortalidade dos camundongos devido a uma menor reação imune celular em torno do ovo do parasito (ZANOTTI-MAGALHÃES,

1987) e, conseqüentemente, menor severidade na reação hepática (WARREN, 1967). A baixa patogenicidade da linhagem campineira no hospedeiro definitivo poderia também ser uma implicação da pouca suscetibilidade apresentada pelo hospedeiro intermediário. ZANOTTI-MAGALHÃES (1987) observou o mesmo nas linhagens BH e SJ.

Os pesos do fígado ( $3 \pm 0,56g$ ) e baço ( $0,82 \pm 0,23g$ ) dos animais infectados (GRUPO C4) foram maiores que os dos animais sadios ( $2,06 \pm 0,30g$  do fígado e  $0,41 \pm 0,05g$  do baço) como conseqüência do desenvolvimento da hepatoesplenomegalia, observada normalmente em camundongos esquistossomóticos (ZANOTTI-MAGALHÃES, 1987) (Figuras 7 e 8). O aumento dos pesos do baço e do fígado foi observado, com metodologia semelhante à nossa, por FIGUEIREDO (1991) ao estudar a linhagem de Itariri (fígado-  $2,059 \pm 0,374g$ ; baço-  $0,509 \pm 0,254g$ ), por GOMES *et alii* (1993) na linhagem de Ourinhos, por MAGALHÃES *et alii* (1975) nas linhagens BH e SJ e por diversos outros autores (WARREN, 1967; KLOETZEL, 1969; ANDERSON & CHEEVER, 1972; ZANOTTI *et alii*, 1983; CARVALHO *et alii*, 1986; ZANOTTI-MAGALHÃES, 1987; GUARALDO, 1987).

As lesões no fígado caracterizam uma fibrose periportal com vários graus de obstrução dos ramos intra-hepáticos da veia porta e a esplenomegalia é conseqüência da hiperplasia e hipertrofia das células do sistema monofagocitário e também por congestão venosa (ANDRADE, 1962). A hepatoesplenomegalia está relacionada com a resposta imune mediada por células T que é observada como granulomas ao redor do ovo de *S. mansoni* (PHILLIPS *et alii*, 1977). No entanto, CHEEVER (1968) em estudo "post mortem" de pacientes com esquistossomose mansônica hepatoesplênica observou que o lobo esquerdo do fígado era maior mas os ovos não estavam concentrados nesse local. As nossas

observações foram feitas na décima semana após a infecção. É interessante salientar que a hepatomegalia é mais acentuada entre a sétima e oitava semana de infecção, regredindo na fase crônica (GUARALDO, 1987; TELLES, 1990). A esplenomegalia máxima ocorre por volta da décima-primeira semana, com processo involutivo muito lento (GUARALDO, 1987).

O peso corporal dos camundongos após o tratamento foi mais elevado do que aqueles dos camundongos não tratados (Figura 5), confirmando o valor da terapêutica na prevenção de formas graves, na interrupção da oviposição e na mortalidade dos vermes em curto espaço de tempo. Estas observações indicam que a constante deposição de ovos nos tecidos funciona como um dos fatores limitantes ao crescimento ponderal do hospedeiro definitivo (GUARALDO, 1987). O ganho de peso dos animais infectados (grupo controle) foi significativamente diferente e menor, quando comparado com os demais grupos. Esses dados comprovam que a infecção por *S. mansoni*, provocou alteração no ganho de peso dos camundongos. FIGUEIREDO (1991) fez observações semelhantes com a linhagem de Itariri, sendo o ganho de peso dos animais proporcional ao constatado por nós, na linhagem CAMP-H (Tabela II).

PELLEGRINO & FARIA (1965) afirmaram que uma droga é considerada ativa contra a esquistossomose quando um ou mais estágios de desenvolvimento de ovos imaturos estão ausentes no oograma, indicando a interrupção da oviposição devido à morte dos vermes, lesão dos órgãos reprodutores dos mesmos ou migração para o fígado. Existe um equilíbrio dinâmico entre os ovos que estão sendo postos, os maduros e aqueles que estão continuamente sendo eliminados com as fezes e que é alcançado poucas semanas depois do início da postura dos ovos e é mantido por um período relativamente longo. Então, pequenas alterações deste equilíbrio são detectadas em oogramas de fragmentos

intestinais (PELLEGRINO & FARIA, 1965).

A atividade esquistossomicida do praziquantel e do oxamniquine foi medida pela localização dos vermes no sistema porta-hepático; pelas alterações no oograma; pelas percentagens de vermes acasalados, de vermes mortos, de vermes sobreviventes, de redução do parasito e de eficácia da droga (Tabela VI). A análise da atividade de ambas as drogas na linhagem campineira CAMP-H revelou que, apesar do predomínio de vermes machos registrados nos animais infectados ( grupo controle ) (Tabela II e Figura 10), não houve prejuízo na produção de ovos conforme indicam os oogramas e a presença de granulomas esquistossomóticos , principalmente, no fígado. Entre os vermes vivos coletados nas perfusões dos grupos tratados a maioria, 61,9% no PZQ e 81,3% no OXA, era fêmea, confirmando outros trabalhos em quimioterapia experimental, onde os machos se mostraram mais sensíveis a ambas as drogas (MARSHALL, 1987; SHAW, 1990; FIGUEIREDO, 1991; DELGADO *et alii*, 1992). A razão para a relativa falta de refratariedade às drogas do tegumento de fêmeas de *S. mansoni* deve residir em diferenças fisiológicas e/ou morfológicas entre o tegumento de ambos sexos (BECKER *et alii*, 1980). MODHA *et alii* (1990) estudaram o efeito do praziquantel sobre vermes adultos de *S. mansoni* a nível ultra-estrutural e observaram a formação de protuberâncias na região dorsal do macho, inexistentes na fêmea. Os efeitos usualmente relatados são: invasão da superfície do vermes machos por leucócitos do hospedeiro, contração muscular, paralisia como conseqüência da alteração da permeabilidade da membrana dos vermes a íons inorgânicos:  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$  e  $N^+$  (PAX *et alii*, 1978; COLES, 1979 ; BLAIR *et alii*, 1992), vacuolização e degeneração do tegumento do verme (BECKER *et alii*, 1980) e migração do parasito das veias mesentéricas para o fígado como efeito primário da droga ( FLISSER *et alii*, 1989). O mecanismo de ação do

praziquantel possibilita a perda da capacidade do parasito de evadir-se do sistema imune do hospedeiro por meio da super-exposição de antígenos ou células de superfície do parasita, *in vitro* (HARNETT & KUSEL, 1986). O oxamniquine tem como efeito esquistossomicida a redução da biosíntese macromolecular (PICA-MATTOCCIA & CIOLI, 1985), mas o seu mecanismo de ação é desconhecido.

A maior distribuição dos vermes no fígado, a baixa percentagem de vermes acasalados, a alta percentagem de vermes mortos, a totalidade de oogramas alterados e a alta percentagem de eficácia nos grupos de camundongos tratados indicam a ação das duas drogas (Tabela VI). No Estado de São Paulo, já existem trabalhos testando a ação das duas drogas em linhagens de algumas regiões epidemiologicamente importantes: Itariri (FIGUEIREDO, 1991) e Ourinhos (GOMES *et alii*, 1993). FIGUEIREDO (1991) verificou que a linhagem de Itariri era suscetível às duas drogas, nas mesmas dosagens, sendo que a percentagem de vermes sobreviventes foi igual aos dos nossos dados para o PZQ ( 4,6% ) e muito superior no OXA ( 12,2% ). Na linhagem de Ourinhos, GOMES *et alii* (1993) constataram taxas de vermes sobreviventes e de eficácia de, respectivamente, 43,9% e 87,5% para o PZQ e 59,7% e 69,7% para o OXA. Nos dois estudos o praziquantel mostrou-se mais eficaz. ARAÚJO *et alii* (1980) verificaram percentagens de vermes mortos que variavam de 1,1 a 67,5% e de alteração de oograma de 10 a 100% em camundongos infectados com sete linhagens mineiras diferentes e tratados com oxamniquine na mesma dosagem de nosso estudo. Este trabalho demonstra a variabilidade da resposta às drogas de linhagens de *S. mansoni* de uma mesma região geográfica.

DAVIS (1993) definiu resistência quando uma população de um organismo infectante previamente suscetível passa a não responder à dose

terapêutica usual de uma droga e tolerância, quando uma população nunca respondeu adequadamente à terapia. De acordo com nossos dados, podemos observar que a linhagem CAMP-H possui certa tolerância ao oxamniquine e praziquantel. Essa linhagem foi isolada de pacientes que nunca tiveram contato com as drogas utilizadas em nosso estudo. A percentagem de vermes vivos pode ser considerada um pouco alta sendo, 11,9% no tratamento com PZQ, dos quais 6,8% eram fêmeas, 1,1% casais e 2,8% machos; nos medicados com OXA haviam 17% de vermes vivos, dos quais 13,3% eram fêmeas, 0,5% casais e 2,7% machos (Tabela III). Assim são necessários novos estudos para determinar o período de oviposição dos vermes fêmeas sobreviventes de camundongos tratados (ROGERS & BUEDING, 1971; YEANG *et alii*, 1987). Esses estudos são importantes porque ovos de pacientes tratados e não curados podem contaminar o ambiente e gerar vermes tolerantes que sob pressão de drogas serão selecionados (COLES *et alii*, 1986). BONESSO-SABADINI *et alii* (1994) observou na linhagem de Ourinhos, percentagens de vermes sobreviventes de 34% e 9,9% (machos, fêmeas e casais) com o tratamento com OXA e PZQ, respectivamente, nas mesmas dosagens utilizadas em nosso trabalho.

KINOTTI (1987) estudou a variação da suscetibilidade de *S. mansoni* ao oxamniquine e concluiu que o parasito possui uma grande capacidade de desenvolver resistência a doses terapêuticas sob pressão contínua da droga. A área do município de Campinas sofre pressão de droga menor que a área de Ourinhos e menor ainda que a de Itariri. Podemos atribuir a menor pressão de droga em Campinas ao reduzido número de casos autóctones (SUCEN, 1982). Ressaltamos ainda que os focos das duas primeiras regiões são mais aglomerados, enquanto que em Campinas eles são espaçados (SUCEN, 1982; LIMA, 1993). Além disso, em Ourinhos, o hospedeiro intermediário é a *B.*



*glabrata*, mais bem adaptada ao *S. mansoni* que a *B. tenagophila*.

A suscetibilidade diferencial a drogas não é restrita a nível de espécie mas também pode refletir a origem geográfica, sexo e estágio de desenvolvimento dos parasitas (ARAÚJO *et alii*, 1980; MARSHALL, 1987). DIAS *et alii* (1983) avaliaram a suscetibilidade de linhagens paulistas humana e de roedor silvestre de Pedro de Toledo ( Vale do Ribeira ) e humanas de Pindamonhangaba ( Vale do Paraíba ) e mineira de Belo Horizonte a quatro drogas esquistossomicidas ( hycanthon, niridazole, oxamniquine e praziquantel ) e verificaram que as linhagens de Pedro de Toledo e Belo Horizonte eram sensíveis às quatro drogas e que a linhagem de Pindamonhangaba mostrou-se resistente ao niridazole e sensível às outras drogas. A resistência e a tolerância são importantes clínica e epidemiologicamente porque podem ser transmitidas as progênes de *S. mansoni* (JANSMA *et alii*, 1977). DRESCHER *et alii* (1993) estudaram a eficácia destas drogas contra outras linhagens de *S. mansoni*, utilizando as doses em valores de  $\mu\text{mol/Kg}$ , devido a diferenças nos pesos moleculares das drogas, e encontraram resultados variados. Assim, com a cepa brasileira BH a eficácia foi de 99,8% para oxamniquine e 99,4% para praziquantel, as mesmas dosagens utilizadas em nosso trabalho; já para a linhagem brasileira MAP, a eficácia foi de 7,0% para oxamniquine e 99,4% para praziquantel. Essa linhagem foi isolada de paciente que se infectou em Minas Gerais e é mantida em laboratório desde 1978, no modelo *B. glabrata* e camundongo albino (DIAS *et alii*, 1987). É relevante mencionar que esta linhagem é mantida em laboratório sem pressão de droga e que sua progênie mantém a resistência ao oxamniquine. Esta é resultado da inativação de uma enzima responsável pela conversão da droga em metabólitos ativos, devido à mutação de um gene autossômico recessivo (CIOLI *et alii*, 1989; PICA-MATTOCCIA *et alii*, 1993).

Na morfometria dos ovos da linhagem CAMP-H de *S. mansoni* os valores médios de comprimento (  $133,69 \pm 19,98 \mu\text{m}$  ) e largura (  $56,37 \pm 8,09 \mu\text{m}$  ) mostraram-se diferentes aos observados por PARAENSE & CORRÊA (1981) ( linhagem BH-  $159,74 \times 70 \mu\text{m}$ ; linhagem SJ-  $150,75 \times 69,55 \mu\text{m}$  ), ROLLISON & SIMPSON (1987) ( linhagem não identificada-  $142 \times 60 \mu\text{m}$  ), FIGUEIREDO (1991) ( linhagem de Itariri-  $152,36 \times 64,41 \mu\text{m}$  ) e GOMES *et alii* (1993) ( linhagem de Ourinhos-  $146,27 \pm 7,87 \times 62,33 \pm 2,88 \mu\text{m}$  ). Os ovos da cepa CAMP-H são mais curtos e mais estreitos, sendo seu tamanho mais próximo ao das linhagens paulistas. DIAS & PIEDRABUENA (1980) encontraram em roedores silvestres infectados naturalmente pelo trematódeo na região de São José dos Campos (SP), medidas similares aos trabalhos citados acima:  $148,82 \pm 14,64 \mu\text{m} \times 66,33 \pm 8,30 \mu\text{m}$  .

As fêmeas (  $5,02 \pm 1,24 \text{mm}$  ) e machos (  $6,15 \pm 0,91 \text{mm}$  ) da linhagem CAMP-H de *S. mansoni* são relativamente menores que as BH ( machos-  $9,04 \pm 1,16 \text{mm}$ ; fêmeas-  $11,85 \pm 1,29 \text{mm}$  ) ( PARAENSE & CORRÊA, 1981 ), SJ ( machos-  $8,44 \pm 0,95 \text{mm}$ ; fêmeas-  $9,76 \pm 1,15 \text{mm}$  ) ( PARAENSE & CORRÊA, 1981), de Itariri ( machos-  $7,35 \pm 1,47 \text{mm}$ ; fêmeas-  $8,22 \pm 1,67 \text{mm}$  ) ( FIGUEIREDO, 1991) e de Ourinhos ( machos-  $13,38 \pm 2,16 \text{mm}$ ; fêmeas-  $15,51 \pm 4,30 \text{mm}$  ) ( GOMES *et alii*, 1993 ). A morfometria de vermes adultos de *S. mansoni* das linhagens BH e SJ foi realizada também por MAGALHÃES & CARVALHO (1973b) em camundongos que encontraram medidas menores para as linhagens BH ( machos-  $6,9 \text{mm}$ ; fêmeas-  $7,6 \text{mm}$  ) e SJ ( machos-  $5,6 \text{mm}$ ; fêmeas-  $5,8 \text{mm}$  ), quando comparados com dados de PARAENSE & CORRÊA (1981). Os vermes machos de nosso estudo, ao contrário dos outros citados aqui, são menores que as fêmeas.

A pressão seletiva do hospedeiro (LoVERDE *et alii*, 1985a) e a

diminuição da variabilidade genética são aspectos importantes no estudo de linhagens recém-isoladas e daquelas mantidas rotineiramente em laboratório. A variabilidade genômica, em termos de rDNA foi observada entre linhagens brasileiras de *Schistosoma* derivadas de um hospedeiro definitivo infectado ou de pequenas amostras de cercárias coletadas no campo (efeito fundador) (VIEIRA *et alii*, 1991) e estudos enzimáticos (FLETCHER *et alii*, 1981; LoVERDE *et alii*, 1985b; NAVARRO *et alii*, 1992) sugerem que existe maior heterogeneidade em populações naturais que em cepas mantidas em laboratório. Isto pode resultar, pelo menos em parte, de seleção induzida pelo hospedeiro vertebrado, levando a uma diminuição na variabilidade genética do parasito, devido a fixação de um ou outro alelo envolvido na manifestação de um determinado caráter. Nossa linhagem recém-isolada representa melhor o que ocorre no campo.

A linhagem CAMP-H está em fase de adaptação ao seu hospedeiro intermediário, apresentando índice intermediário de positividade, se comparado com outros resultados, alta taxa de mortalidade e curto período pré-patente. No hospedeiro definitivo, ela se mostra com alta infectividade e baixa patogenicidade. Neste último a linhagem está melhor adaptada. Haja visto estas características apresentadas em laboratório, a linhagem parece estar passando por um processo de adaptação aos seus hospedeiros intermediário e definitivo no campo.

Levando em consideração os resultados obtidos no presente estudo, a linhagem isolada do município de Campinas apresenta características biológicas e morfológicas próprias, diferindo-se de outras linhagens: a mineira BH e as paulistas SJ, de Itariri e de Ourinhos. O cruzamento destas linhagens permitiria-nos determinar se estas diferenças são inter ou intra-específicas e se são linhagens

biológicas distintas de *S. mansoni* ( PARAENSE & CORRÊA, 1981 ).

As características de suscetibilidade de moluscos, patogenicidade e suscetibilidade às drogas da linhagem campineira CAMP-H são informações importantes que poderão ser utilizadas como parâmetros na comparação e determinação de outras linhagens de *S. mansoni*. Agora, seria interessante realizar um estudo comparativo com linhagens de outras áreas epidemiologicamente importantes do Estado de São Paulo e com características diversas tais como: áreas rurais e urbanas, com e sem pressão de drogas, endêmicas ou não, etc.

O conhecimento da dinâmica do processo de suscetibilidade do hospedeiro intermediário à linhagem campineira e a resposta desta frente às drogas fornecerá suporte para outros estudos como determinação de medidas de controle mais racionais em Campinas, respeitando seu padrão epidemiológico, e da droga escolhida e sua dosagem efetiva.

A distinção entre linhagens poderia ser feita utilizando-se metodologias alternativas a nível bioquímico, imunológico e molecular. Essas investigações poderiam, também, corroborar nossos resultados e elucidar os mecanismos genéticos e fisiológicos da suscetibilidade. O estudo de enzimas diferentes, através de técnicas eletroforéticas, confirmaria a identificação da linhagem CAMP-H e fornecerá marcadores para entender a estrutura genética do parasito. Técnicas de clonagem de DNA, análises com enzimas de restrição e

seqüenciamento de nucleotídeos seria métodos alternativos para a identificação da espécie e linhagens do parasito.

## CONCLUSÕES

\* A linhagem CAMP-H de *S. mansoni* se encontra em fase de adaptação ao seu hospedeiro intermediário simpátrico ocasionando altos índices de mortalidade nos moluscos infectados ( 93,3% com 10 miracídios e 58,3% com 1 miracídio ). A *B. tenagophila* é suscetível à linhagem de *S. mansoni* simpátrica, apresentando índices de positividade de 25% e 5,7%, respectivamente nas infecções com 10 e 1 miracídios. Os períodos pré-patentes foram de 35 e 49 dias para infecções com 10 e 1 miracídios, respectivamente.

\* A infectividade da linhagem CAMP-H de *S. mansoni* ao hospedeiro definitivo ( camundongo swiss ) foi elevada, com altos índices de penetração de cercárias ( 98,1% ) e recuperação de vermes adultos (44,5%).

\* A mortalidade do hospedeiro definitivo não foi causada pela infecção com a linhagem CAMP-H de *S. mansoni*. Entretanto, esta alterou o crescimento ponderal dos camundongos.

\* O tratamento com as drogas esquistossomicidas, praziquantel e oxamniquine, proporcionou ganho de peso equivalente nos animais, no período entre o tratamento e a perfusão, e superior ao grupo de camundongos controle.

\* Os camundongos infectados apresentaram hepatomegalia (  $3 \pm 0,56g$  ) e esplenomegalia (  $0,82 \pm 0,23g$  ).

- \* A área do granuloma provocado pela linhagem CAMP-H de *S. mansoni* foi de  $296,08 \pm 81,27 \mu\text{m}^2$ .
- \* Demonstrou-se que linhagem CAMP-H de *S. mansoni* é suscetível às duas drogas praziquantel e oxamniquine. Todavia, constatou-se pequena percentagem de vermes vivos ( machos, fêmeas e casais ).
- \* A morfometria de vermes adultos ( fêmeas-  $5,02 \pm 1,22\text{mm}$ ; machos-  $6,15 \pm 0,19\text{mm}$  ) e ovos ( comprimento-  $133,69 \pm 19,98\mu\text{m}$ ; largura-  $56,37 \pm 8,09\mu\text{m}$  ) demonstrou características morfológicas distintas de outras linhagens de *S. mansoni*.

De acordo com nossos dados, a linhagem CAMP-H, recém-isolada no município de Campinas, SP, revelou em hospedeiros intermediário ( *B. tenagophila* ) e definitivo ( camundongo swiss ) características distintas das linhagens paulistas SJ ( Vale do Paraíba ), Itariri ( Vale do Ribeira ) e Ourinhos ( Vale do Paranapanema ); e mineira BH ( Belo Horizonte ).

## RESUMO

O Estado de São Paulo apresenta esquistossomose mansônica autóctone em várias regiões, entre elas a de Campinas. O presente trabalho foi elaborado com o objetivo de determinar características biológicas de *Schistosoma mansoni* recém-isolado do bairro Jardim São Domingos, município de Campinas, SP. O isolamento foi feito em 1993, a partir de miracídios eclodidos de ovos das fezes de três pacientes autóctones e não tratados para esquistossomose. O estudo foi desenvolvido em modelo experimental camundongo swiss - *Biomphalaria tenagophila* simpátrica. Avaliou-se a suscetibilidade de 180 moluscos *B. tenagophila* expostos a 1 e 10 miracídios. Em 80 camundongos infectados pela cauda com 70 cercárias e sacrificados na décima semana, avaliou-se: suscetibilidade do *S. mansoni* ao oxamniquine (100 mg/Kg, dose única, via oral) e ao praziquantel (100 mg/Kg, 5 dias, via oral); capacidade de penetração de cercárias e recuperação de vermes; peso corporal, do fígado e do baço; mortalidade; diâmetro dos granulomas hepáticos e morfometria de vermes adultos e ovos. A mortalidade dos caramujos até os 77 dias de infecção foi 58,3% (1 miracídio) e de 93,3% (10 miracídios), indicando que a infecção foi significativa na morte dos animais. Os índices de infecção foram baixos: 8,3% na infecção com 10 miracídios e 3,3%, com 1 miracídio. Estes dados indicam que a linhagem campineira CAMP-H não está bem adaptada ao seu hospedeiro intermediário. A quimioterapia experimental revelou que o praziquantel (95,4%) foi ligeiramente mais eficaz que o oxamniquine (94,4%), sendo que a percentagem de vermes sobreviventes foi de 11,9%



para a primeira droga e 17% para a segunda. Essas percentagens foram diferentes estatisticamente e consideradas altas, sendo necessários novos estudos para determinar o período de oviposição de vermes sobreviventes de camundongos tratados. Nos camundongos infectados verificou-se altos índices de penetração de cercárias ( 98,1% ) e de recuperação de vermes ( 53,3% ); alteração no crescimento ponderal dos animais infectados com diminuição de peso quando comparados com aqueles do grupo controle; no período entre a administração das duas drogas esquistossomicidas e sacrifício dos camundongos, houve ganho de peso corporal dos animais tratados; hepatomegalia (  $3 \pm 0,56\text{g}$  ) e esplenomegalia (  $0,82 \pm 0,23\text{g}$  ) com aumentos de 72,8% e 100%, respectivamente, quando comparados com essas vísceras dos animais do grupo controle; reações granulomatosas hepáticas medindo  $296,08 \pm 81,27 \mu\text{m}^2$ . O tamanho dos vermes machos foi de  $6,15 \pm 1,47\text{mm}$  e das fêmeas de  $5,02 \pm 1,22\text{mm}$ . Os ovos apresentaram largura média de  $56,37 \pm 8,09\mu\text{m}$  e comprimento de  $133,69 \pm 19,98\mu\text{m}$ . A linhagem de *S. mansoni* de Campinas, SP apresentou características distintas das linhagens paulistas SJ ( Vale do Paraíba ), Itariri ( Vale do Ribeira ), Ourinhos ( Vale do Paranapanema ), e da mineira BH ( Belo Horizonte ).

## SUMMARY

The São Paulo State ( Brazil ) shows autochthonous schistosomiasis *mansoni* in several regions, including the region of Campinas. This suggests a possible development of this disease during the last three years. The present work was elaborate having in view to determine biological characteristics of *Schistosoma mansoni* recently isolated from the Ward São Domingos, municipality of Campinas, SP. The isolation was carried out in 1993, originating of hatched miracidia from eggs of feces of three autochthonous patients and non-treated to schistosomiasis. The study was developed using as experimental model swiss mice-sympatric *Biomphalaria tenagophila*. The suscetibility of 180 snails *B. tenagophila* exposed to 1 and 10 miracidia was evaluated. Eighty mice were infected with 70 cercariae by immersion of the tail in water. After 10 weeks, they were killed and evaluated following this analysis: suscetibility of *S. mansoni* to oxamniquine ( 100 mg/Kg, single dose, oral route ) and to praziquantel ( 100 mg/Kg, 5 days, oral route ); ability of cercariae penetration and worm recovery; body weights, of liver and spleen; mortality rate ; diameter of hepatic granuloma and morphometry of adults worms and eggs. The mortality rates until 77 days of infection was 58,3% ( 1 miracidium ) and 93,3% ( 10 miracidia ), indicating that the infection was significant to the death of the animals. The rate of infection were low: 8,3% to 10 miracidia and 3,3% to 1 miracidium. This date indicates that the strain CAMP-H is not well-adapted to its intermediate host. The experimental chemotherapy revealed that praziquantel (95,4%) was lightly more effective than oxamniquine (94,4%), while the percentage of surviving worms was of 11,9% to the first drug and

of 17% to the second one. This percentages were statistically different and it was considered high. This finding suggest that new studies will be necessary to determine the oviposition of surviving worms of treated mice. We also verified high rate of cercariae penetration ( 98,1% ) and of recovery worms ( 53,3% ) in the infected mice; alteration of the ponderal growth from infected animals succeeding ina decrease of the weight when compared to the control group; in the period between the administration of the two antischistosomal drugs and the killing of the animals, we noticed body weight gain of treated animals; hepatomegaly (  $3 \pm 0,56g$  ) and splenomegaly (  $0,82 \pm 0,23g$  ) showing a weight gain of 72,8% and 100%, respectively, when compared to these viscera of the control group; granulomatous reactions hepatic measuring  $296,08 \pm 81,27 \mu m^2$ . The measurements of worms was of  $6,15 \pm 1,47mm$  for male and  $5,02 \pm 1,22mm$  for female; and the eggs showed  $56,37 \pm 8,09\mu m$  of width and  $133,69 \pm 19,98\mu m$  of length. The *S. mansoni* strain of Campinas ( SP ) showed different characteristics from other strains of São Paulo State as SJ ( Paraíba Valley ), Itariri ( Ribeira Valley ), Ourinhos (Paranapanema Valley) and of BH strain ( Belo Horizonte, Minas Gerais State ).

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ANDERSON, L. A. & CHEEVER, A. W. - Comparison of geographical strains of *Schistosoma mansoni* in the mouse. **Bull. WHO**, v. 46, p. 233-241, 1972.
- ANDERSON, R. M. & MAY, R. M. - Prevalence of schistosome infections within molluscan populations: observed patterns and theoretical predictions. **Parasitology**, v. 79, p. 63-94, 1979.
- ANDRADE, Z. A. - Aspectos experimentais da esplenomegalia da Esquistossomose. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 4, p. 240, 1962.
- ARAÚJO, N.; KATZ, N.; DIAS, E. P. & SOUZA, C. P. - Susceptibility to chemotherapeutic agents of strains of *Schistosoma mansoni* isolated from treated and untreated patients. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 29, p. 890-894, 1980.
- AUSTIN, F. G.; STIREWALT, M. A. & DANZINGER, R. E. - *Schistosoma mansoni*: Stimulatory effect of rat skin lipid fractions on cercarial penetration behavior. **Exp. Parasitol.**, v. 31, p. 217-224, 1972.
- BAENINGER, R. - Espaço e tempo em Campinas. Campinas, SP, 1991. [ Tese de Mestrado- Instituto de Filosofia e Ciências Humanas da Universidade Estadual de Campinas ].
- BARBOSA, F. S. - Epidemiologia. **In:** " Esquistossomose mansoni " ( A. S. Cunha ) , **Editora da Universidade de São Paulo**, São Paulo, p. 31-59, 1970.
- BARBOSA, M. A. - Migração e assincronismo evolutivo do *Schistosoma masoni* Sambon, 1907 em camundongo albino ( *Mus musculus* ) infectado transcutaneamente. Belo Horizonte, MG, 1976. [ Tese de Mestrado- Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais ].

- BARRAL, V.; THIS, P.; IMBERT-ESTABLET, D.; COMBES, C. & DELSENY, M. - Genetic variability and evolution of the *Schistosoma mansoni* genome analysed by using random amplified polymorphic DNA markers. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 59, p. 211-222, 1993.
- BARRETO, M. L. - Esquistossomose Mansônica: Distribuição da Doença e Organização Social do Espaço. Secretaria da Saúde do Estado da Bahia, Salvador, Série de Estudos em Saúde, n. 6, 1984.
- BASCH, P. F. - An interpretation of snail-trematode infection rates: specificity based on concordance of compatible phenotypes. **Int. J. Parasitol.**, v. 5, p. 449-452, 1975.
- BECKER, B.; MEHLHORN, H.; ANDREWS, P.; THOMAS, H. & ECKERT, J. - Light and electron microscopic studies on the effect of praziquantel on *Schistosoma mansoni*, *Dicrocoelium dendriticum*, and *Fasciola hepatica* (Trematoda) in vitro. **Z. Parasitenkd.**, v. 63, n. 2, p. 113-128, 1980.
- BLAIR, K. L.; BENNET, J. L. & PAX, R. A. - Praziquantel : physiological evidence for its site(s) of action in magnesium-paralysed *Schistosoma mansoni*. **Parasitology**, v. 104, p.59-66, 1992.
- BONESSO-SABADINI, P. I. P.; DIAS, L. C. S. & CARVALHO, J. F. - *Schistosoma mansoni*: Suscetibilidade da linhagem Ouh ( Ourinhos, Vale do Paranapanema-SP ) ao oxamniquine e praziquantel. **Rev. Ciências Farm.**, v. 15, p. 33, 1994.
- BOROS, D. L. & WARREN, K. S. - Delayed hypersensitivity type granuloma formation and dermal reaction induced and elicited by a soluble factor isolated from *Schistosoma mansoni* eggs. **J. Exp. Med.**, v. 132, p. 488, 1970.
- BRENER, Z.; PELLEGRINO, J. & OLIVEIRA, F. D. - Terapêutica experimental da Esquistossomose mansoni. Aplicação do método de isolamento de granulomas do fígado de camundongos. **Rev. Bras. Malariol. Doenças Trop.**, v. 8, n. 4, p. 583-587, 1956.

- BRINDLEY, P. J.; LEWIS, F. A.; McCUTCHAN, F.; BUEDING, E. & SHER, A. - A genomic change associated with the development of resistance to hycanthonne in *Schistosoma mansoni*. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 36, p. 243-252, 1989.
- BROME, P. B. & RADKE, M. G. - An improved mouse retraining chamber. **Jpn. J. Parasitol.**, v. 20, p. 81-82, 1971.
- BRUCE, J. I.; DIAS, L. C. de S.; LIANG, Y. S. & COLES, G. C. - Drug resistance in schistosomiasis: A Review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 82, p. 143-150, 1987.
- BRUCE-CHWATT, L. J. & BRUCE-CHWATT, J. M. - Malaria and yellow fever: the mortality of British expatriotes in colonial west Africa. **In:** " Health in Tropical Africa during the Colonial Period " (E. E. Sabben-Clarke **et alii**, Eds.), **Clarendon Press**, Oxford, chap. 6, p. 43-59, 1980.
- BRYANT, C. & FLOCKHART, H. A. - Biochemical strain variation in parasitic helminths. **Adv. Parasitol.**, v. 25, p. 276-311, 1986.
- CAMPOS, P. C.; ALVES, M. J. C. P.; CRACIANO, N.; BUONICONTI, S. F. L. & FIGUEIREDO, W. - Esquistossomose no Estado de São Paulo - 1981 a 1990. **In:** Simpósio Internacional de Esquistossomose e Reunião Nacional de Esquistossomose, Recife. **Anais**, resumo nº 135, 1991.
- CAMPOS, R.; MOREIRA, A. A. B.; SETTE JR., H.; CHAMONE, D. A. F. & SILVA, L. C. - Hycanthonne resistance in a human strain of *Schistosoma mansoni*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 70, p. 261-262, 1976.
- CARVALHO, A. D. V.; ALVARENGA, R. J. & MELLO, A. L. - Histopatologia da esquistossomose mansoni em fígado de *Mus musculus* infectado por amostras humanas de fase aguda e crônica da periferia de Belo Horizonte, Minas Gerais. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 19, n. 2, p. 84-94, abr./jun., 1986.

- CARVALHO, O. S.; MILWARD-DE-ANDRADE, R. & SOUZA, C. P. - Susceptibilidade de *Biomphalaria tenagophila* ( d'Orbigny, 1835 ), de Itajubá (MG), à infecção pela cepa " LE " de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, de Belo Horizonte, MG ( Brasil ). **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 13, p. 20-25, 1979.
- CHEEVER, A. W. - A comparative study of *Schistosoma mansoni* infection in mice, gerbils, multimammate rats and hamsters. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 14, p. 227-238, 1965.
- CHEEVER, A. W. - A quantitative post mortem study of schistosomiasis mansoni in man. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 17, p. 38-64, 1968.
- CHEEVER, A. W.; MOSIMANN, J. E.; DEB, S. ; CHEEVER, E. A. & DUVALL, R. H. - Natural history of *Schistosoma mansoni* infection in mice: egg production, egg passage in the feces, and contribution of host and parasite death to changes in worm numbers. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 50, n. 3, p. 269-280, 1994.
- CHENSUE, S. W. & BOROS, D. L. - Population Dynamics of T and B lymphocytes in the lymphoid organs, circulation, and granulomas of mice infected with *Schistosoma mansoni*. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 28, n. 2, p. 291-299, 1979.
- CHIEFFI, P. P. - Resistência de cepa de *Biomphalaria tenagophila*, originária de Londrina ( Paraná, Brasil ) à infecção por duas cepas de *Schistosoma mansoni*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 9, n. 4, p. 209-212, jul./ag., 1975.
- CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L. & ARCHER, S. - Resistance of schistosomes to hycanthone and oxamniquine. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 84, suppl. I, p. 38-45, oct., 1989.
- CLEGG, J. A. - In vitro cultivation of *Schistosoma mansoni*. **Exp. Parasitol.**, v. 16, p. 133-147, 1965.

- COELHO, P. M. Z.; RASO, P.; MELLO, R. T. & TOPPA, N. H. - Dimensões do granuloma hepático produzido por ovos de duas linhagens geográficas do *Schistosoma mansoni*, no camundongo. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 84, p. 213-217, 1989.
- COLES, G. C. - The effect of praziquantel on *Schistosoma mansoni*. **J. Helminthol.**, v. 53, p. 31-33, 1979.
- COLES, G. C.; BRUCE, J. I.; KINOTTI, G. K.; MUTAHI, W. T.; DIAS, E. P. & KATZ, N. - Drug resistance in schistosomiasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 80, p. 347, 1986.
- CORRÊA, J. T.; RAMOS, A. S. & CAMARGO, L. V. - Planorbídeos do Estado de São Paulo: sua relação com a esquistossomose. **Arq. Hig. Saúde Pública**, v. 27, p. 139-159, 1962.
- DAVIS, A. - Antischistosomal drugs and clinical practice. In: " Human Schistosomiasis " ( P. Jordan; G. Webbe & R. F. Sturrock, Eds. ), **CAB International**, Wallingford, p. 367-404, 1993.
- DELGADO, V. S.; SUÁREZ, D. P.; CESARI, I. M. & INCANI, R.N. - Experimental chemotherapy of *Schistosoma mansoni* with praziquantel and oxamniquine: differential effect of single or combined formulations of drugs on various strains and on both sexes of the parasite. **Parasitol. Res.**, v. 78, p. 648-654, 1992.
- DIAS, L. C. S. & PIEDRABUENA, A. E. - Morphological aspects of *Schistosoma mansoni* in naturally infected *Holochilus brasiliensis leucogaster*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 74, n. 5, p. 690, 1980.
- DIAS, L. C. S.; ÁVILA-PIRES, F. D. & PINTO, A. C. M. - Parasitological and ecological aspects of schistosomiasis mansoni in the Valley of the Paraíba do Sul River ( São Paulo State, Brazil ) I- Natural infection of small mammals with *Schistosoma mansoni*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 72, p. 496-500, 1978.



- DIAS, L. C. S.; PEDRO, R. J. & DEBERALDINI, E. R. - Use of praziquantel in patients with schistosomiasis mansoni previously treated with oxamniquine and/or hycanthone: resistance of *Schistosoma mansoni* to schistosomicidal agents. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 76, p. 652-659, 1982.
- DIAS, L. C. DE S.; UETA, M. T. & GUARALDO, A. M. A. - Suscetibilidade de *Biomphalaria glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila* a diferentes cepas de *Schistosoma mansoni*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 29, p. 205-212, jul./ag., 1987.
- DIAS, L. C. de S.; GUARALDO, A. M. A.; ZANOTTI, E. & MAGALHÃES, L. A. - Suscetibilidade a esquistosomicidas de linhagens de *Schistosoma mansoni*. **In: CONGRESSOS INTEGRADOS DE PARASITOLOGIA**, São Paulo. **Resumos**. p. 205, 1983.
- DIAS, L. C. DE S.; GLASSER, C. M.; ETZEL, A.; KAWAZOE, U.; HOSHINO-SHIMIZU, S.; KANAMURA, H. Y.; CORDEIRO, J. A.; MARÇAL Jr., O.; CARVALHO, J. F.; GONÇALES Jr., F. L. & PATUCCI, R. - The epidemiology and control of schistosomiasis mansoni where *Biomphalaria tenagophila* is the snail host. **Rev. Saúde Pública**, v. 22, p. 462-463, 1988.
- DOUMENGE, J. P.; MOTT, K. E.; CHEUNG, C.; VILLENAVE, D.; CHAPUIS, O.; PERRIN, M. F. & REAUD-THOMAS, G. - Atlas of the global distribution of schistosomiasis. University of Bordeaux III, França, 1987.
- DRESCHER, K. M.; ROGERS, E. J.; BRUCE, J. I.; KATZ, N.; DIAS, L. C. de S.; COLES, G. C. - Response of drug resistant isolates of *Schistosoma mansoni* to antischistosomal agents. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 88, n. 1, p. 89-95, 1993.
- ELOI-SANTOS, S.; OLSEN, N. J.; CORREA-OLIVEIRA, R. & COLLEY, D. G. - *Schistosoma mansoni* : mortality, pathophysiology, and susceptibility differences in male and female mice. **Exp. Parasitol.**, v. 25, p. 168-175, 1992.

- FAUST, E. C.; JONES, C. A. & HOFFMAN, W. A. - Studies on schistosomiasis *mansoni* in Puerto Rico. III- Biological studies. 2. The mammalian phase of the life cycle. **J. Public. Health Trop. Med.**, Puerto Rico, v. 10, p. 133-196, 1934.
- FIGUEIREDO, A. C. - Estudo de características biológicas e morfológicas de cepa paulista de *Schistosoma mansoni* do Vale do Ribeira. Campinas, SP, 1991. [Tese de Mestrado- Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas].
- FIGUEIREDO, A. C. & DIAS, L. C. S. - Suscetibilidade de cepa paulista de *Schistosoma mansoni* a duas drogas esquistossomicidas. **In: 40ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA**, São Paulo, jul., 1988.
- FIGUEIREDO, A. C.; DIAS, L. C. S. & MARQUES, E. H. F. - Biological and morphological characteristics of *Schistosoma mansoni* from Ribeira Valley, State of São Paulo, Brazil. I- Susceptibility of *Biomphalaria tenagophila* snail to sympatric *S. mansoni* strain. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 34, n. 3, p. 199-203, mai./jun., 1992.
- FILES, V. S. & CRAM, E. B. - A study on comparative susceptibility of snails vectors to strains of *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 35, p. 555-560, 1949.
- FLETCHER, M.; LoVERDE, P. T. & WOODRUFF, D. S. - Genetic variation in *Schistosoma mansoni*: enzyme polymorphisms in populations from Africa, Southwest Asia, South America and the West Indies. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 30, p. 406-421, 1981.
- FLISSER, A.; ELSAGHIER, A. F. & McLAREN, D. J. - Effect of praziquantel on the migration and survival of developmental stages of *Schistosoma mansoni* in mice. **Int. J. Parasitol.**, v.79, n. 6, p. 665-672, 1989.
- FOSTER, R. - The preclinical development of oxamniquine. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 15, suppl. 1, p. 1-9, 1973.

- FREITAS, J. R. de; BOSCHI, M. B. & SANTOS, M. B. L. dos - Suscetibility de " híbridos " de *Biomphalaria tenagophila* à cepa LE (BH) do *Schistosoma mansoni*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 27, p. 6-12, 1985.
- GASSER, R. B.; MORAHAN, G. & MITCHELL, G. F. - Sexing single larval stages of *Schistosoma mansoni* by polymerase chain reaction. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 47, p. 255-258, 1991.
- GOMES, E.; DIAS, L. C. S.; TAKAKU, L. & STANGENHAUS, G. - Biological and morphological characteristics of *Schistosoma mansoni* from the Paranapanema Valley (Ourinhos), São Paulo, Brazil. 4° International Symposium on Schistosomiasis e Reunião Nacional de Esquistossomose, Rio de Janeiro, resumo n° 51, 1993.
- GÖNNERT, R. & ANDREWS, P. - Praziquantel, a new broads spectrum antischistosomal agent. **Z. Parasitenkd.**, v. 52, n. 2, p. 129-150, 1977.
- GUARALDO, A. M. A. - Avaliação da resposta imune à infecção por *Schistosoma mansoni* em camundongos C3H/ H e J submetidos à dieta hipoprotéica e normoprotéica. Campinas, SP, 1987. [ Tese de Doutorado-Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas ].
- GUARALDO, A. M. A.; MAGALHÃES, L. A.; RANGEL, H. A. & PAREJA, G. - Evolução dos esporocistos de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, em *Biomphalaria glabrata* ( Say, 1818 ) e *Biomphalaria tenagophila* ( D' Orbigny, 1835 ). **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 15, p. 436, 1981.
- GUBLER, D. J. - Surveillance for dengue and dengue hemorrhagic fever. **Bull. Org. panam., Santé**, v. 23, p. 397-494, 1989.
- HAAS, W. - Die Anheftung (Fixation) der Cercariae von *Schistosoma mansoni*. Einfluß natürlicher Substrate und der Temperatur. **Z. Parasitenkd.**, v. 49, p. 63-72, 1976.
- HAAS, W. & SCHMITT, R. - Characterization of chemical stimuli for the penetration of *Schistosoma mansoni* cercariae. **Z. Parasitenkd.**, v. 66, p. 293-307, 1982a.

- HAAS, W. & SCHMITT, R. - Characterization of chemical stimuli for the penetration of *Schistosoma mansoni* cercariae. **Z. Parasitenkd.**, v. 66, p. 309-319, 1982b.
- HARNETT, W. & KUSEL, J. R. - Increased exposure of parasite antigens at the surface of adult male *Schistosoma mansoni* exposed to praziquantel in vitro. **Parasitology**, v. 93, p. 401-405, 1986.
- HIGGINS-OPITZ, S. B. & DETTMAN, C. D. - The infection characteristics of a South African isolate of *Schistosoma mansoni* : a comparison with a Puerto Rican isolate in a BALB/c mice and *Mastomys coucha*. **Parasitol. Res.**, v. 77, n. 2, p. 142-151, 1991.
- HILL, J. - Chemotherapeutic studies with laboratory infections of *Schistosoma mansoni*. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 56, p. 39-48, 1956.
- JANSMA, W. B.; ROGERS, S. H.; LIU, C. L. & BUEDING, E. - Experimentally produced resistance of *Schistosoma mansoni* to hycanthone. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 26, p. 926-936, 1977.
- JOURDANE, J. & THÉRON, A. - Larval development. **In:** " The biology of schistosomes " ( D. Rollison & A. J. G. Simpson, Eds. ), **Academic Press**, New York/London, p. 83-113, 1987.
- KASSIN, O. O. & RICHARDS, C. S. - Host reactions in *Biomphalaria glabrata* to *Schistosoma mansoni* miracidia involving variations in parasite strains numbers and sequence of exposures. **J. Parasitol.**, v. 9, p. 565, 1979.
- KATZ, N.; DIAS, E. P.; ARAÚJO, N. & SOUZA, C. P. - Estudo de uma cepa humana de *Schistosoma mansoni* resistente a agentes esquistossomicidas. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 7, p. 381-387, 1973.
- KEMP, H. A.; HUNTER, G. W.; WILKINS, O. P.; SMALLEY, H. & DASHIEL, M. A. - Some aintments examined for protection against *Schistosoma mansoni* cercariae in preliminary tests. **Milit. Med.**, v. 119, p. 1-10, 1956.

- KINOTTI, G. K. - The significance of variation in the susceptibility of *Schistosoma mansoni* to the antischistosomal drug oxamniquine. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 82, p. 151-156, 1987.
- KLOETZEL, K. - Tissue reactions to *Schistosoma mansoni* eggs: I. Serological and histological reactions at various intervals after infections. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 63, p. 459-469, 1969.
- KNUDSEN, A. B. & SLOOFF, R. - Problèmes dus aux maladies à transmission vectorielle et urbanisation accélérée: nouvelles approches de la lutte antivectorielle. **Bull. Org. Mond. Sante**, v. 70, n. 1, p. 1-6, 1992.
- LEMONS NETO, R. C.; MAGALHÃES, L. A. & PIEDRABUENA, A. E. - Alguns aspectos referentes ao estudo de linhagens de *Schistosoma mansoni* SAMBON, 1907, provenientes dos estados de Minas Gerais e de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 12, p. 277-290, 1978.
- LIMA, V. L. C. - A esquistossomose no município de Campinas. Campinas, SP, 1993. [Tese de Doutorado- Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas].
- LoVERDE, P. T., DeWALD, J. & MINCHELLA, D. J. - Further studies of genetic variation in *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 71, p. 732-734, 1985a.
- LoVERDE, P. T.; DeWALD, J.; MINCHELLA, D. J.; BOSSHARDT, S. C. & DAMIAN, R. T. - Evidence for host-induced selection in *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 71, p. 297-301, 1985b.
- LUTZ, A. - Observações sobre a evolução do *Schistosomum mansoni*. **Rev. Soc. Bras. Ciências**, v. 1, p. 41-48, 1919.
- MACHADO, P. A. & ABREU, L. G. S. - A ocorrência de furcocercárias em planorbídeos capturados no município de Campinas. **Rev., Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 15, n. único, p. 235-238, 1955.
- MACHADO, P. A.; GUERRA, J. C. & ABREU, L. G. S. - Planorbídeos no município de Campinas. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 15, p. 168-172, 1955.

- MAGALHÃES, L. A., CAMARGO, L. A. P., MUNIZ, J. R. O. & ANDRADE, D. - Levantamento planorbídico da cidade de Campinas. **Ciência e Cultura**, v. 19, n. 2, p. 415-416, 1967.
- MAGALHÃES, L. A. - Estudo dos dados obtidos de uma população de *Biomphalaria glabrata* de Belo Horizonte infectada por *Schistosoma mansoni* da mesma cidade, e de uma população de *B. tenagophila* de Campinas, infectada por *S. mansoni* de São José dos Campos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 3, n. 4, p. 195-196, 1969a.
- MAGALHÃES, L. A. - Técnicas para a avaliação da viabilidade de penetração de cercárias de *Schistosoma mansoni* em *Mus musculus*. **O Hospital**, v. 75, p. 137-140, 1969b.
- MAGALHÃES, L. A. & CARVALHO, J. F. - Determinação do número de cercárias provenientes de cepas diferentes de *Schistosoma mansoni* que conseguem penetrar, sob determinadas condições de laboratório, em *Mus musculus*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 3, n. 5, p. 249-251, set./out., 1969.
- MAGALHÃES, L. A. & CARVALHO, J. F. - Desenvolvimento do *Schistosoma mansoni* das linhagens de Belo Horizonte (MG), e de São José dos Campos (SP) em *Mus musculus*. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 7, p. 285- 287, 1973a.
- MAGALHÃES, L. A. & CARVALHO, J. F. - Estudo morfológico de *Schistosoma mansoni* pertencentes a linhagens de Belo Horizonte (MG) e de São José dos Campos (SJ). **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 7, p. 289-294, 1973b.
- MAGALHÃES, L. A. & CARVALHO, J. F. - Sobre o comportamento de duas linhagens de *Schistosoma mansoni* de estudo quantitativo. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 10, p. 169-194, 1976.
- MAGALHÃES, L. A. & DIAS, L. C. de S. - Estudo da suscetibilidade de *Biomphalaria glabrata* de Ourinhos (SP), à infecção pelo *Schistosoma mansoni* de Belo Horizonte (MG), e de São José dos Campos (SP). **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v.7, p. 295-297, 1973.

- MAGALHÃES, L. A.; ALCÂNTARA, F. G. & CARVALHO, J. F. - Alguns dados referentes ao estudo parasitológico e anatomopatológico de duas linhagens de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 9, p. 1-5, 1975.
- MAGALHÃES, E. M. Z.; MAGALHÃES, L. A. & CARVALHO, J. F. - Relação entre a patogenicidade de *Schistosoma mansoni* em camundongos e a suscetibilidade do molusco vetor. I. Infeciosidade de cercárias e carga de vermes. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 25, p. 359-366, 1991.
- MARÇAL Jr., O.; HOTTA, L. K.; PATUCCI, R. M. J.; GLASSER, C. M. & DIAS, L. C. S. - Schistosomiasis mansoni in an area of low transmission. II. Risk factors for infection. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 35, n. 4, p. 331-335, jul./ag., 1993.
- MARSHALL, I. - Experimental Chemoterapy. In " The biology of schistosomes " ( D. Rollinson & A. J. G. Simpson, Eds. ), **Academic Press**, New York / London, p. 399-430, 1987.
- McCUTCHAN, T. F.; SIMPSON, A. J. G.; MULLINS, J. A.; SHER, A.; NASH, T. E.; LEWIS, F. & RICHARDS, C. - Differentiation of schistosomes by species, strain and sex by using cloned DNA markers. **Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A.**, v. 81, p. 889-893, 1984.
- McMANUS, D. P. & MICHELLE, H. - Molecular variation in the human schistosomes, **Acta Tropi.**, v. 53, p. 255-276, 1993.
- MELHORN, H. - Parasitology in Focus, **Springer Verlag**, 924 pp, 1988.
- MILLER, P. & WILSON, R. A. - Migration of the schistosomula of *Schistosoma mansoni* from skin to lungs. **Parasitology**, v. 77, p. 281, 1978.
- MINCHELLA, D. J. & LoVERDE, P. T. - Laboratory comparison of the relative success of *Biomphalaria glabrata* stocks which are susceptible and insusceptible to infection with *Schistosoma mansoni*. **Parasitology**, v. 86, p. 335-344, 1983.

- MODHA, J.; LAMBERTUCCI, J. R.; DOENHOFF, M. J. & McLAREN, D. J. - Immune dependence of Schistosomicidal chemotherapy: an ultrastructural study of *Schistosoma mansoni* adult worms exposed to praziquantel and immune serum in vivo. **Parasite Immunol.**, v. 12, p. 321-334, 1990.
- MOTT, K. E.; DESJEUX, P.; MONCAYO, A.; RANQUE, P. & RAADT, P. de - Parasitic diseases and urban development. **Bull. WHO**, v. 68, n. 6, p. 691-698, 1991.
- NAVARRO, M. C.; CESARI, I. M. & INCANI, R. N. - Isoenzyme studies in one Brazilian and two Venezuelan strains of *Schistosoma mansoni*. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 102B, p. 471-474, 1992.
- NEWTON, W. L. - The comparative tissue reaction of two strains of *Australorbis glabratus* to infection with *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 38, p. 362, 1952.
- NEWTON, W. L. - The inheritance of susceptibility to infection with *Schistosoma mansoni* in *Australorbis glabratus*. **Exp. Parasitol.**, v. 2, p. 242-257, 1953.
- OLIVIER, L. & STIREWALT, M. A. - An efficient method for exposure of mice to cercariae of *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 38, p. 19-23, 1952.
- PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. - Variation in susceptibility of populations of *Australorbis glabratus* to a strain of *Schistosoma mansoni*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 5, p. 15-22, 1963a.
- PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. - Suscetibility of *Australorbis tenagophilus* to infection with *Schistosoma mansoni*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 5, n. 1, p. 23-29, jan./fev, 1963b.
- PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. - Differential suscetibility of *Biomphalaria tenagophila* populations to infectios with a strain of *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 64, n. 5, p. 822-826, 1978.
- PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. - Observations of two biological races of *Schistosoma mansoni*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 76, p. 287-291, 1981.



- PAX, R. A.; BENNETT, J. L. & FETTERER, R. - A benzodiazepine derivate and praziquantel: Effects on musculature of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. **Nauyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, v. 304, p. 309-315, 1978.
- PEDRO, R. J.; DIAS, L. C. S.; AMATO NETO, V. & CARVALHO, S. A. - Observations on the treatment of mansoni schistosomiasis with oxamniquine: efficacy in children and in persistent salmonellosis; resistance of a strain of *Schistosoma mansoni*; hepatic toxicity and neurological side effects. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 22, suppl. 4, p. 32-36, 1980.
- PELLEGRINO, J. & FARIA, J. - The oogram method for the screening of drugs in Schistosomiasis mansoni. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 14, n. 3, p. 363-369, 1965.
- PELLEGRINO, J. & KATZ, N. - Experimental chemotherapy of schistosomiasis mansoni. **In: " Advances in Parasitology "**, Academic Press, London and New York, v. 6, p. 233-290, 1968.
- PELLEGRINO, J. & KATZ, N. - Terapêutica experimental. **In: " Esquistossomose mansoni "** ( A. S. Cunha ), Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 313-326, 1970.
- PELLEGRINO, J. & MACEDO, D. G. - A simplified method for the concentration of cercariae. **J. Parasitol.**, v. 41, p. 329- 330, 1955.
- 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.**, v. 11, p. 201-215, 1962.
- PENSCHOW, J. D.; GASSEER, R. B.; DARLING, P. E. & MITCHELL, G. F. - Female-specific genomic PCR sequences from *Schistosoma mansoni* as probes for hybridization histochemistry. **Int. J. Parasitol.**, v. 23, n. 3, p. 407-409, 1993.

- PHILLIPS, S. M.; DI CONZA, J. J.; GOLD, J. A. & RIED, W. A. - Schistosomiasis in the congenitally athymic ( nude ) mouse. I-Thymic dependency of eosinophilia, granuloma formation and host morbidity. **J. Immunol.**, v. 118, p. 594-599, 1977.
- PICA-MATTOCCIA, L. & CIOLI, D. - Studies on the mode of action of oxamniquine and related schistosomicidal drugs. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 34, p. 112-118, 1985.
- PICA-MATTOCCIA, L.; DIAS, L. C. de; MORONI, R. & CIOLI, D. - *Schistosoma mansoni*: Genetic complementation analysis shows that two independent hycanthone/oxamniquine-resistant strains are mutated in the same gene. **Exp. Parasitol.**, v. 77, p. 445-449, 1993.
- PIZA, J. T. & RAMOS, A. S. - Os focos autóctones de esquistossomose no Estado de São Paulo. **Arq. Hig. Saúde Pública**, v. 25, p. 261-271, 1960.
- PIZA, J. T.; RAMOS, A. de S. & CAMARGO, L. V. - Vale do Paraíba , foco endêmico de esquistossomose. **Arq. Hig. Saúde Pública.**, v. 25, p. 35-40, 1960.
- POCOCK, S. J. - Clinical Trials, 4<sup>a</sup>ed, **John Wiley & Sons**, 1986.
- POWERS, K. G. & CHEEVER, A. W. - Comparison of geographical strains of *Schistosoma mansoni* in the rhesus monkey. **Bull. WHO**, v. 46, p. 295, 1972.
- PRATA, A. - Biópsia retal na esquistossomose. Bases e aplicações no diagnóstico e tratamento. **Thesis**, Serviço Nacional de Educação Sanitária, Rio de Janeiro, 197 pp, 1957.
- RAMOS, A. de S.; PIZA, J. T.; PINTO, G. H.; TION, T.; FLEURY, G. C.; MORAIS, L. V. C. & CAMPOS, L. L. - Focos ativos de esquistossomose mansônica no Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 3, p. 59-65, 1969.
- REY, L. - Parasitologia, 2<sup>a</sup>ed, **Guanabara Kogan**, Rio de Janeiro, 731 pp., 1991.

- REZENDE, D. D. - Identificação e Pesquisa de focos de esquistossomose na região do Jardim São Marcos. **In:** 2º CONGRESSO ACADÊMICO DA UNICAMP, Campinas. **Resumos.** p. 32, 1994.
- RICHARDS, C. S. - *Schistosoma mansoni*: Susceptibility reversal with age in the snail host *Biomphalaria glabrata*. **Exp. Parasitol.**, v. 42, p. 165-168, 1977.
- RICHARDS, C. S. & MERRIT, J. W. Genetic factors in the susceptibility of juvenile *Biomphalaria glabrata* to *Schistosoma mansoni* infection. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 21, p. 425, 1972.
- ROGERS, S. H. & BUEDING, E. - Hycanthone resistance: Development in *Schistosoma mansoni*. **Science**, v. 172, p. 1057-1058, 1971.
- ROLLINSON, D. & SIMPSON, A. J. G. - The Biology of Schistosomes, **Academic Press**, Londres, 472 pp., 1987.
- ROLLINSON, D. & SOUTHGATE, V. R. - The genus *Schistosoma*: a taxonomic appraisal. **In:** " The Biology of Schistosomes " ( D. Rollinson & A. J. G. Simpson, Eds. ), **Academic Press**, Londres, p. 1-49, 1987.
- ROLLINSON, D., WALKER, T. K. & SIMPSON, A. J. G. - The application of recombinant DNA technology to problems of helminth identification. **Parasitology**, v. 91, p. S53- S71, 1986.
- ROLLINSON, D.; WALKER, T. K.; KNOWLES, R. J. & SIMPSON, A. J. G. - Identification of schistosome hybrids and larval parasites using r RNA probes. **Syst. Parasitol.**, v. 15, p. 65-73, 1990.
- SANTANA, J. V.; MAGALHÃES, L. A. & RANGEL, H. A. - Seleção de linhagem de *Biomphalaria glabrata* e *Biomphalaria tenagophila* visando maior suscetibilidade ao *Schistosoma mansoni*. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 12, p. 67, 1978.
- SAOUD, M. F. A. - The infectivity and pathogenicity of geographical strains of *Schistosoma mansoni*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 60, n. 5, p. 585-600, 1966.

- SAS Institut Inc. **SAS User's Guide: basics**, 5ª ed., Cary, NC: SAS Institut Inc, 1986.
- SAS Institut Inc. **SAS User's Guide: Statistics**, 5ª ed., Cary, NC: SAS Institut Inc, 1986.
- SAS Institut Inc. **SAS /GHAPH ® User's Guide**, 5ª ed., Cary, NC: SAS Institut Inc, 1986.
- SAS Institut Inc. **SAS/QC ® User's Guide**, 5ª ed, Cary, NC: SAS Institut Inc, 1986.
- SCHELL, S. C. - Manual de Laboratório en Parasitologia. **Editorial Academia**, León, 1969.
- SHAW, M. K. - *Schistosoma mansoni*: stage-dependent damage after in vivo treatment with praziquantel. **Parasitology**, v. 100, p. 65-72, 1990.
- SHIFF, C. J.; CMELIK, S. H. W.; LEY, H. E. & KRIEL, R. L. - The influence of human skin lipids on the cercarial penetration responses of *Schistosoma hematobium* and *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 58, n. 3, p. 476-480, 1972.
- SILVA, L. J. - A esquistossomose mansônica no Estado de São Paulo: origens, distribuição, epidemiologia e controle. Campinas, SP, 1992. [Tese de Livre-docência - Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas].
- SOUZA, C. P. de - Estudo de moluscos do gênero *Biomphalaria* de Minas Gerais, com relação a adaptação parasito hospedeiro e importância na epidemiologia da esquistossomose. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 28, p. 287-292, 1986.
- SOUZA, C. P. de; ARAÚJO, N.; JANNOTTI, L. K. & GAZZINELLI, G. - Fatores que podem afetar a criação e manutenção de caramujos infectados e a produção de cercárias de *Schistosoma mansoni*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 82, p. 73-79, 1987.

- STANDEN, O. D. - Experimental infection of *Austrolorbis glabratus* with *Schistosoma mansoni*. I. Individual and mass infection of snails, and the relationship of infection to temperature and season. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 46, p. 48-53, 1952.
- SUCEN - **SITUAÇÃO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA NO ESTADO DE SÃO PAULO. II ENCONTRO SOBRE ESQUISTOSSOMOSE, 1982.** IMPRENSA OFICIAL DO ESTADO DE SÃO PAULO {RELATÓRIO}.
- SULLIVAN, J. T. & RICHARDS, C. S. - *Schistosoma mansoni*, NIH-SM-PR-2 strain, in susceptible and nonsusceptible stocks of *Biomphalaria glabrata*: comparative histology. **J. Parasitol.**, v. 67, p. 702, 1981.
- TELLES, E. S. - Aspectos imunológicos e parasitológicos na infecção múltipla por *Trypanosoma cruzi* e *Schistosoma mansoni* em camundongos ( CBA x C57 b1/10 ) F1. Campinas, SP, 1990. [Tese de Mestrado - Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas].
- VAZ, J. F.; ELMOR, M. R. D.; GONÇALVES, L. M. C. & ISHIHATA, G. K. - Resultados do levantamento planorbídico da área de Presidente Prudente-Estado de São Paulo. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 25, p. 120-126, 1983.
- VAZ, J. F.; MANTEGAZZA, E.; TELES, H. M. S.; LEITE, S. P. S. & MORAIS, L. V. C. - Levantamento planorbídico de Estado de São Paulo ( Brasil ): 4ª região administrativa. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 21, p. 371-379, 1987.
- VAZ, J. F.; TELES, H. M. S.; LEITE, S. P. S.; CORRÊA, M. A.; FABBRO, A. L. D. & ROSA, W. S. - Levantamento planorbídico de Estado de São Paulo. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 20, p. 352-361, 1986.
- VIEIRA, L. Q.; CORREA-OLIVEIRA, R.; KATZ, N.; De SOUZA, C. P.; CARVALHO, O. S.; ARAUJO, N.; SHER, A. & BRINDLEY, P. J. - Genomic variability in field populations of *Schistosoma mansoni* in Brazil ad detected with a ribosomal gene probe. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 44, p. 69-78, 1991.

- WALKER, T. K.; ROLLISON, D. & SIMPSON, A. J. G. - A DNA probe from *Schistosoma mansoni* allows rapid determination of the sex of larval parasites. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 33, p. 93-100, 1989.
- WARREN, K. S. - A comparison of Puerto Rican, Brazilian, Egyptian and Tanzanian strains of *Schistosoma mansoni* in mice: penetration of cercariae, maturation of schistosomes and production of liver disease. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 61, p. 795-802, 1967.
- WARREN, K. S. - The pathology, pathogenesis of schistosomiasis. **Nature**, v. 273, p. 609-612, 1978.
- WHO - **The control of schistosomiasis**, 2° report of the WHO Expert Committee, Gênova, 1991.
- YEANG, F. S. W.; MARSHALL, I. & HUGGINS, M. - Oxamniquine resistance in *Schistosoma mansoni*: fact or fiction? **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 81, p. 337-339, 1987.
- YOLLES, T. K.; MOORE, P. V.; DEGENSTI, D. L.; RIPSON, C. A. & MELENEY, H. E. - A technique for the perfusion of laboratory animals for the recovery of schistosomes. **J. Parasitol.**, v. 33, p. 419, 1947.
- 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**, São Paulo, v. 17, p. 394-405, 1983.
- ZANOTTI-MAGALHÃES, E. M. - Observações sobre a capacidade de infecção do molusco vetor e a patogenicidade de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 no hospedeiro vertebrado. Campinas, SP, 1987. [ Tese de Doutorado-Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas ].
- ZIMMERMANN, G. - O município no sistema tributário: os municípios paulistas e o caso de Campinas. A interiorização do desenvolvimento econômico no Estado de São Paulo ( 1920-1980 ), Coleção Economia Paulista, **Fundação SEADE**, São Paulo, v. 1, n. 3, 1988.

Nota: As referências bibliográficas estão de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas ( ABNT ) NBR- 6023- Referências Bibliográficas,1989.

As abreviações dos títulos dos periódicos seguem o Serial Sources for The Biosis Previews. Data-base. v. 1990, Philadelphia: Biosis 1991.

**ANEXO**

---



**Tabela I.** Estatísticas sumárias para os dados referentes ao número e percentagem de cercárias penetrantes e vermes recuperados, de camundongos infectados, não-tratados ( grupo C ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Cercárias Penetrantes		Vermes Recuperados	
	#	%	#	%
n	20	20	19	19
min	65	92.86	0	0.00
Q1	68	97.14	26	37.14
Q2	69	98.57	33	47.83
Q3	70	100.00	36	52.17
máx	70	100.00	45	68.18
média	68.70	98.14	30.58	44.54
dp	1.53	2.18	10.01	14.76

**Tabela II.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de pesos corporais nas datas : da infecção, do tratamento e da perfusão, de camundongos infectados, não-tratados ( grupo C ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Pesos Corporais ( g )		
	na infecção	no tratamento	na perfusão
n	20	19	19
min	18.00	25.00	26.00
Q1	20.00	27.50	28.00
Q2	22.00	31.00	32.00
Q3	24.00	36.00	35.50
máx	26.00	38.50	38.00
média	22.15	31.21	31.84
dp	2.40	4.30	3.91

**Tabela III.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de pesos corporais nas datas : da infecção, do tratamento e da perfusão, de camundongos infectados, tratados com Oxamniquine ( grupo O ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Pesos Corporais ( g )		
	na infecção	no tratamento	na perfusão
n	20	20	19
mín	19.50	26.00	30.00
Q1	21.25	31.00	34.00
Q2	22.00	34.00	37.00
Q3	24.00	35.25	39.00
máx	24.50	39.50	42.00
média	22.38	33.42	36.79
dp	1.51	3.43	3.19

**Tabela IV.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de pesos corporais nas datas : da infecção, do tratamento e da perfusão, de camundongos infectados, tratados com Praziquantel ( grupo P ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Pesos Corporais ( g )		
	na infecção	no tratamento	na perfusão
n	20	19	15
mín	20.00	24.76	32.00
Q1	21.00	28.84	35.00
Q2	22.75	31.40	39.50
Q3	24.25	35.13	42.00
máx	26.00	42.18	46.50
média	22.63	31.91	38.80
dp	1.95	4.44	4.44

**Tabela V.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de pesos corporais nas datas : da infecção, do tratamento e da perfusão, de camundongos sadios ( grupo S ).

Estatísticas	Pesos Corporais ( g )		
	na infecção	no tratamento	na perfusão
n	20	-	19
min	21.00	-	32.00
Q1	22.00	-	35.00
Q2	23.00	-	38.50
Q3	24.00	-	41.50
máx	26.00	-	49.00
média	23.05	-	38.42
dp	1.26	-	4.26

**Tabela VI.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de pesos do fígado e do baço de camundongos infectados, não-tratados ( grupo C ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Pesos ( g )	
	fígado	baço
n	19	19
min	1.63	0.63
Q1	2.75	0.71
Q2	3.00	0.81
Q3	3.30	0.88
máx	4.01	1.34
média	3.00	0.82
dp	0.56	0.23

**Tabela VII.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de pesos do fígado e do baço de camundongos infectados, tratados com Oxamniquine ( grupo O ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Pesos ( g )	
	fígado	baço
n	19	19
mín	2.24	0.45
Q1	2.73	0.53
Q2	3.08	0.71
Q3	3.35	0.77
máx	4.40	0.88
média	3.08	0.68
dp	0.52	0.14

**Tabela VIII.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de pesos do fígado e do baço de camundongos infectados, tratados com Praziquantel ( grupo P ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Pesos ( g )	
	fígado	baço
n	15	15
mín	2.24	0.43
Q1	3.02	0.50
Q2	3.32	0.58
Q3	3.70	0.71
máx	3.96	0.94
média	3.32	0.61
dp	0.50	0.14

**Tabela IX.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de pesos do fígado e do baço de camundongos sadios ( grupo S ).

Estatísticas	Pesos ( g )	
	fígado	baço
n	19	19
min	1.39	0.31
Q1	1.85	0.39
Q2	2.01	0.41
Q3	2.22	0.44
máx	2.60	0.49
média	2.06	0.41
dp	0.30	0.05

**Tabela X.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos por sexo, em camundongos infectados, não-tratados ( grupo C ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)		
	macho	fêmea	casal
n	19	19	19
min	0	0	0
Q1	6	2	8
Q2	9	2	10
Q3	13	3	11
máx	21	6	18
média	9.47	2.47	9.32
dp	5.19	1.87	3.56

**Tabela XI.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos por sexo, em camundongos infectados, tratados com Oxamniquine ( grupo O ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)		
	macho	fêmea	casal
n	19	19	19
mín	2	0	0
Q1	3	1	0
Q2	4	3	0
Q3	7	6	0
máx	24	8	1
média	6.11	3.58	0.11
dp	5.37	2.55	0.32

**Tabela XII.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos por sexo, em camundongos infectados, tratados com Praziquantel ( grupo P ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)		
	macho	fêmea	casal
n	15	15	15
mín	3	0	0
Q1	5	1	0
Q2	8	2	0
Q3	10	5	1
máx	14	9	2
média	7.87	3	0.47
dp	3.14	2.83	0.64

**Tabela XIII.** Número e distribuição de vermes coletados nos grupos praziquantel, oxamniquine e controle, de camundongos infectados com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni* isolado do município de Campinas, SP.

Grupo	Camundongos		Vermes Coletados ( # )			Localização	
	n	exam.	vivos	mortos	total	figado	mesentério
C	20	19	574	7	581	151	430
P	20	15	21	156	177	163	14
O	20	19	32	156	188	185	3

**Tabela XIV.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos pela vitalidade, em camundongos infectados, não-tratados ( grupo C ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Vermes Coletados ( # )	
	vivos	mortos
n	19	19
mín	0	0
Q1	25	0
Q2	33	0
Q3	35	1
máx	45	2
média	30.21	0.37
dp	9.9	0.68

**Tabela XV.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos pela vitalidade, em camundongos infectados, tratados com Oxamniquine ( grupo O ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)	
	vivos	mortos
n	19	19
min	0	2
Q1	0	5
Q2	1	5
Q3	2	11
máx	8	27
média	1.68	8.21
dp	2.16	6.12

**Tabela XVI.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos pela vitalidade, em camundongos infectados, tratados com Praziquantel ( grupo P ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)	
	vivos	mortos
n	15	15
mín	0	4
Q1	0	5
Q2	0	10
Q3	2	15
máx	8	21
média	1.40	10.40
dp	2.41	5.47



**Tabela XVII.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos pela localização, em camundongos infectados, não-tratados ( grupo C ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)	
	fígado	mesentério
n	19	19
mín	0	0
Q1	4	20
Q2	5	23
Q3	14	29
máx	29	35
média	7.95	22.63
dp	6.82	7.51

**Tabela XVIII.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos pela localização, em camundongos infectados, tratados com Oxamniquine ( grupo O ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)	
	fígado	mesentério
n	19	19
mín	2	0
Q1	5	0
Q2	9	0
Q3	13	0
máx	28	2
média	9.74	0.16
dp	6.05	0.50

**Tabela XIX.** Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos pela localização, em camundongos infectados, tratados com Praziquantel ( grupo P ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)	
	figado	mesentério
n	15	15
min	4	0
Q1	6	0
Q2	11	0
Q3	15	2
máx	21	6
média	10.87	0.93
dp	5.46	1.71

**Tabela XX.** Estatísticas sumárias referentes aos dados das percentagens de vermes coletados no figado, percentagens de vermes acasalados, percentagens de redução de vermes e percentagens de vermes mortos no figado, dos camundongos infectados, não-tratados ( grupo C ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	% de vermes coletados no figado	% de vermes acasalados	% de redução de vermes	% de vermes mortos no figado
n	19	19	19	19
min	0.00	0.00	0.00	0.00
Q1	13.33	50.00	0.00	0.00
Q2	19.44	59.46	0.00	0.00
Q3	35.56	70.97	2.56	0.00
máx	64.44	80.00	5.56	28.57
média	23.15	57.77	1.12	2.82
dp	15.14	17.81	2.01	8.47

**Tabela XXI.** Estatísticas sumárias referentes aos dados das percentagens de vermes coletados no fígado, percentagens de vermes acasalados, percentagens de redução de vermes e percentagens de vermes mortos no fígado, dos camundongos infectados, tratados com Oxamniquine ( grupo O ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	% de vermes coletados no fígado	% de vermes acasalados	% de redução de vermes	% de vermes mortos no fígado
n	19	19	19	19
mín	83.33	0.00	33.33	33.33
Q1	100.00	0.00	75.00	75.00
Q2	100.00	0.00	91.67	92.31
Q3	100.00	0.00	100.00	100.00
máx	100.00	16.67	100.00	100.00
média	98.31	1.69	82.95	84.20
dp	5.06	5.06	21.74	21.33

**Tabela XXII.** Estatísticas sumárias referentes aos dados das percentagens de vermes coletados no fígado, percentagens de vermes acasalados, percentagens de redução de vermes e percentagens de vermes mortos no fígado, dos camundongos infectados, tratados com Praziquantel ( grupo P ), com 70 cercárias da geração F1 de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

Estatísticas	% de vermes coletados no fígado	% de vermes acasalados	% de redução de vermes	% de vermes mortos no fígado
n	15	15	15	15
mín	62.50	0.00	50.00	61.54
Q1	85.71	0.00	83.33	100.00
Q2	100.00	0.00	100.00	100.00
Q3	100.00	13.33	100.00	100.00
máx	100.00	33.33	100.00	100.00
média	92.19	7.38	88.58	95.91
dp	12.91	10.91	16.38	10.51

**Tabela XXIII.** Estatísticas sumárias referentes aos dados dos produtos das medidas de comprimento ( mm ) e largura ( mm ) dos ovos de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

<b>Estatísticas</b>	<b>Produto ( mm)<sup>2</sup></b>
n	135
mín	4304.84
Q1	6724.82
Q2	7717.89
Q3	8501.92
máx	14929.20
média	7591.96
dp	1615.42

**Tabela XXIV.** Estatísticas sumárias referentes aos dados das medidas de comprimento ( mm ) dos vermes, machos e fêmeas, de *Schistosoma mansoni*, isolado do município de Campinas, SP.

<b>Estatísticas</b>	<b>Comprimento ( mm )</b>	
	<b>macho</b>	<b>fêmea</b>
n	102	82
mín	4.3	2.8
Q1	5.4	4
Q2	6.2	4.9
Q3	6.8	5.8
máx	8.5	8.2
média	6.15	5.02
dp	0.91	1.24