

10 pl.
Eliana Maria Zanotti

Esquistossomose mansônica experimental no camundongo albino; comportamento do trematódeo no plexo porta, nas infecções unissexuais e bissexual. Avaliação dos níveis séricos da imunoglobulina A.

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do grau de Mestre.

Orientador:

Prof. Dr. Luiz Augusto Magalhães

Departamento de Parasitologia
Departamento de Microbiologia e Imunologia
Universidade Estadual de Campinas
Campinas - São Paulo
1980

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Esta tese é dedicada a quatro pessoas, que de maneira particular me incentivaram na realização de meus objetivos:

A meu avô Ricardo, que sempre insistiu sobre a necessidade de buscar novos horizontes.

A Mário e Aracy, meus pais, incansáveis nas suas renúncias, visando o meu bem estar e benefício.

A Luiz Augusto, orientador e sobretudo amigo e companheiro em todos os instante da minha vida, desde meu ingresso na universidade.

As minhas irmãs Vera, Iara e Susy e a meus cunhados João Carlos e Benedito, meu agradecimento, pelo apoio e compreensão.

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Campinas e particularmente, ao Departamento de Parasitologia, que há sete anos me vêm acolhendo e amparando nos estudos;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelos recursos proporcionados através das bolsas de Iniciação Científica e Mestrado;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio concedido para pesquisa pertinente às infecções experimentais unissexuais;

À Fundação de Desenvolvimento da Unicamp (FUNCAMP) pelos recursos proporcionados e pelo simpático acolhimento com que sempre me fui distinguida;

Todo o meu carinho ao Prof. Dr. Luiz Augusto Magalhães, pela dedicação e orientação amiga com que sempre me cercou;

Ao Prof. Dr. Paulo de Toledo Artigas, meu respeito e admiração pelo exemplo de pesquisador. Agradeço-lhe também as sugestões e críticas na leitura do manuscrito deste texto e que lhe proporcionaram um colorido especial;

Ao Prof. Dr. Aquiles Eugenio Piedrabuena, a quem devo a possibilidade da análise estatística dos dados desta pesquisa;

Ao Prof. Dr. Humberto de Araujo Rangel, pela orientação na área imunológica desta tese e pela atenção e carinho com que me recebeu no Departamento de Microbiologia e Imunologia da Unicamp;

Aos Profs. Ana Maria Aparecida Guaraldo, Marlene Tiduko Ueta e Luiz Candido de Souza Dias, pela compreensão e apoio demonstrados durante minha permanência no Departamento de Parasitologia;

Aos Profs. Othon de Carvalho Bastos e Paulo M. Ferreira de Araujo, pelas sugestões e críticas;

À Sonia e Beth, pelo companheirismo e amizade em todos os momentos;

À Cleusa e Maria, pelo carinho na manipulação das preparações histológicas;

À Vander, Lilliane, Célia e Ivo, por sua devotada aplicação na manutenção do moluscário e biotério;

À João, por seus préstimos na conservação e limpeza do material utilizado;

À Ana Maria e Lúcia Helena, pelos serviços datilográficos;

Aos colegas do curso de Pós-graduação de Imunologia: Beatriz, Regina, Marta, Odete, Marluce, Joice, Matilde e Mário, pelo apoio e compreensão.

Í N D I C E

	Pág.
I. Introdução	1
II. Material e métodos	6
III. Resultados	13
IV. Discussão	53
V. Resumo e conclusões	63
VI. Referências bibliográficas	65

I. Introdução

Apesar da frequente utilização de métodos profiláticos e de combate à esquistossomose, o número de portadores de *Schistosoma mansoni* vem aumentando a cada ano no Brasil.

Em vista disso, impõe-se a necessidade de conhecimentos mais profundos sobre o comportamento do parasita no hospedeiro definitivo e no hospedeiro intermediário.

As primeiras observações sobre a biologia de esquistossomos foram feitas por BILHARZ, em 1851, quando em carta endereçada a seu mestre, von SIEBOLD, fez a descrição incompleta de um helminto encontrado na veia porta de um hospedeiro humano (PARAENSE, 1959). Ainda em comunicação a seu mestre, BILHARZ informou que, além do referido verme ser um trematódeo sanguícola, o primeiro a ser descrito até então, era "algo ainda mais extraordinário, um trematódeo com sexos separados".

Muito se discutiu a respeito da pluralidade das espécies do gênero *Schistosoma*, parasitos do homem, até que, em 1907, SAMBON caracterizou *Schistosoma mansoni* como espécie diferente e produzindo bilharziose distinta daquela produzida por *Schistosoma haematobium*, mas semelhante àquela determinada por *Schistosoma japonicum*.

É oportuno ressaltar os estudos de PIRAJÁ DA SILVA (1908a, 1908b, 1908c, 1908d, 1909, 1912a e 1912b), que se tornaram decisivos para a demonstração da especificidade do *S. mansoni*.

Estudos esclarecedores sobre a biologia do *S. mansoni* foram

feitos por LEIPER (1915a, 1915b, 1915c, 1916, 1918), evidenciando o desenvolvimento do esquistossomo nos hospedeiros intermediário e definitivo.

Trabalhando independentemente no Brasil, LUTZ, (1919) reproduziu todo o ciclo biológico do trematódeo, contribuindo ainda para o melhor conhecimento dos aspectos sintomatológico, patogenico, anatomopatológico, terapêutico e profilático. Coube ainda a LUTZ (1918) a descrição de quase todas as espécies conhecidas de planorbídeos existentes no Brasil.

Sendo *S. mansoni* um trematódeo que apresenta dimorfismo sexual, deve ser considerada a ocorrência de infecções unissexuais.

A natureza unissexual do miracídio foi confirmada experimentalmente por GIOVANNOLA (1936), VOGEL (1947) e STIREWALT (1951).

SEVERINGHAUS (1928), em seus estudos com *S. japonicum*, concordou que o sexo é estabelecido na fertilização, verificando que existe diferença no número de cromossomos do macho e da fêmea. RAGHUNATHAN & BRUCKNER (1975) conseguiram diferenciar por antecipação, macho e fêmea, através da cromatina sexual das cercárias de *S. mansoni*.

Com relação ao desenvolvimento dos vermes no hospedeiro definitivo, SAGAWA e cols. (1928) estabeleceram que o acasalamento concorre para o desenvolvimento de machos e fêmeas, e que esta associação macho-fêmea concorre ainda mais para a maturação da fêmea.

Observações de MALDONADO & HERRERA (1949), PARAENSE & SANTOS (1949) e PARAENSE (1949) sobre o precário desenvolvimento das estruturas somáticas e germinativas das fêmeas de *S. mansoni*, em infecções unissexuais, confirmaram os dados obtidos por SAGAWA e cols. e SEVERINGHAUS para *S. japonicum*, já referidos.

Sobre o desenvolvimento de *S. mansoni*, SHAW (1977) assinalou, após estudos *in vitro*, que as fêmeas só se desenvolvem plenamente após contato íntimo no canal ginecóforo dos machos, sugerindo de acordo com SEVERINGHAUS e SAGAWA e cols., uma estimulação hormonal por parte dos machos.

Casos de hermafroditismo secundário do macho, em infecções unissexuais, foram descritos por VOGEL (1947), SHORT (1948), PARAENSE (1949) e RUIZ & COELHO (1952).

Em infecções unissexuais por machos, estes se apresentam plenamente desenvolvidos, observando-se comumente um número normal de testículos e em alguns casos, testículos supranumerários (PARAENSE, 1949).

STANDEN (1953), estudando o hábito migratório dos esquistossomos, verificou que o impulso migratório do verme macho de *S. mansoni* é grandemente estimulado pela presença da fêmea. O mesmo autor observou também que esquistossomos fêmeas, em infecções unissexuais, desenvolviam-se rapidamente, alcançando a maturidade quando colocados posteriormente em contato com machos, através de uma segunda infecção. Concluiu ainda em seus estudos sobre a influência do sexo na migração dos vermes do fígado para os vasos mesentéricos, que a época de início de migração é determinada pelo grau de maturidade das fêmeas.

Aspectos anatomopatológicos das infecções unissexuais foram abordados por MAYER & PIFANO (1942), JAFFÉ e cols. (1945), MELENEY e cols. (1952) e COUTINHO (1954). Estes autores chamaram a atenção para as infecções produzidas por vermes machos, sendo observada a ocorrência de zonas de necrose hepática e reações perivasculares com afluxo de mononucleares, em torno do verme adulto.

MELENEY e cols. e COUTINHO verificaram que as lesões pulmonares, nas infecções unissexuais, eram semelhantes as verificadas nas infecções bissexuais, antes da oviposição. Estas lesões adquiriam, no entanto, caráter mais extenso e de maior cronicidade.

Nas infecções bissexuais por *S. mansoni*, o fator responsável por grandes alterações histopatológicas é condicionado à presença de ovos do trematódeo no fígado, intestino, pulmões, baço e pâncreas.

As lesões são caracterizadas por reações granulomatosas periovulares, consequentes, segundo WARREN e cols. (1967), a fenômeno de hipersensibilidade de tipo celular. Estes autores, injetando ovos de *S. mansoni* pela veia caudal de camundongos previamente sensibilizados pela introdução de ovos do trematódeo na cavidade peritoneal, observaram desenvolvimento rápido e mais extenso da reação granulomatosa em torno dos ovos retidos nos pulmões. A reação mostrou-se altamente específica e os animais não infectados podiam ser sensibilizados pela transferência de células linfóides de outro animal infectado.

No entanto, a participação da hipersensibilidades do tipo celular na formação dos granulomas periovulares não parece ser exclusiva, tendo em vista reações do tipo humoral, demonstradas por imunofluorescência.

O fenômeno de Hoeppli, que consiste na deposição de imunoglobulinas em torno do ovo, apresentando-se como uma franja homogênea ou radiada de material hialino nos tecidos do hospedeiro, é um exemplo da participação da reação de tipo humoral. Já em 1941, KOPPISCH sugere

ria que este material hialino era resultante da interação de substâncias exsudadas do ovo com os fluidos do hospedeiro. Mais tarde, ANDRADE e cols. (1961) e SOGANDARES-BERNAL & BRANDT (1976), através de imunofluorescência, confirmaram as observações de KOPPISCH.

Além disso, glomerulonefrites têm sido observadas tanto em pacientes humanos com em animais experimentalmente infectados, resultantes da deposição de complexos imunes nos glomérulos renais. Sobre este aspecto, SHIMIZU (1977) refere a verificação de depósitos antigênicos de natureza polissacarídica nos glomérulos renais de camundongos infectados por machos de *S. mansoni*.

No decorrer de infecção por *S. mansoni*, o hospedeiro é exposto a um grande número de antígenos derivados não somente do mosaico antígeno que caracteriza este trematódeo, mas também de excreções e secreções advindas do próprio metabolismo do verme, do ovo e do miracídio.

A importância do miracídio e de suas secreções como elementos sensibilizantes foi bem evidenciada em estudos que demonstraram um aumento das proteínas séricas, após a migração dos vermes para os vasos mesentéricos e a deposição de ovos no fígado.

EVANS & STIREWALT (1957), estudando o perfil eletroforético de soros de camundongos experimentalmente infectados, observaram aumento nas regiões de beta e gamaglobulinas e diminuição de albumina.

Resultados semelhantes foram verificados por DE WITT & WARREN (1959) que observaram pouca ou nenhuma alteração na região de alfa-globulinas e de albumina.

Estudos realizados por SMITHERS & WALKER (1961), com macacos rhesus infectados por *S. mansoni*, revelaram mudanças de concentração das proteínas séricas nas 6a. e 7a. semanas pós-infecção, ocasião em que os primeiros ovos apareceram nas fezes. Esta modificação nos níveis de proteínas séricas era determinada pelo aumento da concentração de gamaglobulina, sendo que nas infecções intensas, observou-se um decréscimo de albumina.

A identificação das diferentes classes de imunoglobulinas que participam da resposta à infecção por *S. mansoni* tem sido feita em camundongos experimentalmente infectados (HILLYER & FRICK, 1967; BASTOS, 1979) em pacientes humanos (HILLYER, 1969, ANTUNES e cols., 1971 e KANAMURA e cols., 1978).

Pela técnica de imunofluorescência, KANAMURA e cols. (1978) assinalaram anticorpos IgA somente em casos agudos de esquistossomo

se, enquanto anticorpos IgG, IgM e IgE foram assinalados em casos agudos e crônicos.

BASTOS (1979) e ATTA (1979) verificaram flutuações dos níveis de imunoglobulinas de camundongos infectados e não infectados por *S. mansoni*; os níveis de imunoglobulinas (IgG₁, IgA e IgM) aumentaram a partir da 6a. semana de infecção. BASTOS concluiu, em seus estudos sobre a evolução das imunoglobulinas, que a elevação dessas proteínas era decorrente da produção de anticorpos específicos para antígenos de *S. mansoni*.

Sobre a atividade protetora dos anticorpos, SSHER e cols. (1977) verificaram que resistência parcial à infecção por *S. mansoni* podia ser adquirida através de um tratamento prévio com soro de camundongos infectados.

Considerando que as infecções unissexuais na natureza podem ocorrer com grande frequência, o que foi demonstrado por PARAENSE & SANTOS (1949) e PARAENSE (1949), utilizando moluscos colhidos no campo e que a associação entre vermes machos e fêmeos é fator importante na migração do *S. mansoni* no hospedeiro definitivo, resolveu-se o desenvolvimento de presente pesquisa, visando verificar a influência do deslocamento de vermes de ambos os sexos na distribuição de ovos de *S. mansoni*.

Foi também objeto de estudo nesta pesquisa, a variação dos níveis da imunoglobulina A em infecções unissexuais por machos e por fêmeas, comparadas com infecções bissexuais por *S. mansoni*.

II. Material e métodos

II.1. Infecção de moluscos com miracídios de *S. mansoni*.

O hospedeiro intermediário escolhido para obtenção de cercárias foi *Biomphalaria glabrata* mantida no laboratório e proveniente de criadouros de Belo Horizonte, MG.

Para obtenção de infecções unissexuais, exemplares de *B. glabrata*, medindo aproximadamente 10 mm de diâmetro máximo, foram expostos a um único miracídio de *S. mansoni* proveniente de fezes ou de fígado de camundongos infectados com a linhagem mineira (BH) do trematódeo (STANDEN, 1951).

As infecções bissexuais foram obtidas pela exposição de moluscos, da mesma espécie e origem, a 10 miracídios.

Os planorbídeos infectados, segundo técnica de STANDEN (1953), foram mantidos em aquários e alimentados com alface.

II.2. Infecção de camundongos com cercárias de *S. mansoni*.

Os animais utilizados como hospedeiros definitivos foram camundongos *Mus musculus* albinos, com 30 dias de idade, provenientes do biotério do Departamento de Parasitologia da UNICAMP. Esses roedores foram desmamados aos 20 dias de idade e, por ocasião do início do ex

perimento, pesavam entre 14 a 16 g.

Quatro grupos foram constituídos, de maneira a conter roedores de ambos os sexos:

- 1 - Camundongos infectados unissexualmente por fêmeas de *S. mansoni*;
- 2 - Camundongos infectados unissexualmente por machos de *S. mansoni*;
- 3 - Camundongos infectados bissexualmente por *S. mansoni*;
- 4 - Camundongos não expostos à infecção por *S. mansoni*.

Para obtenção de animais infectados unissexualmente, foram utilizadas cercárias oriundas de moluscos expostos a um único miracídio. As infecções bissexuais foram obtidas utilizando cercárias oriundas de moluscos expostos a 10 miracídios.

As cercárias foram obtidas após exposição dos moluscos à luz e à temperatura de 28° C por duas horas, como recomenda PELLEGRINO & MACEDO (1955).

Todos os roedores foram infectados pela exposição da cauda a uma suspensão aquosa contendo 100 cercárias, de acordo com a técnica de MAGALHÃES (1969).

Subgrupos de 10 camundongos foram sacrificados semanalmente, da 1a. a 8a. semana após a exposição às cercárias.

Para se verificar o tipo de infecção unissexual nos camundongos sacrificados nas primeiras semanas, quando não era possível a obtenção de vermes já desenvolvidos, observou-se o desenvolvimento das cercárias provenientes do mesmo molusco, em outros camundongos sacrificados na 8a. semana.

Por ocasião da necrópsia foram registrados os seguintes dados: número de vermes e sua localização, peso corporal, peso do fígado e do baço, número de ovos eliminados nas fezes, número de granulomas hepáticos, esplênicos, pulmonares e intestinais.

II.3. Obtenção e localização de *S. mansoni*.

O sacrifício dos roedores foi por deslocamento cervical, seguindo-se a perfusão do sistema porta-hepático, segundo técnica de YOLLES e cols. (1947).

Os vermes obtidos após perfusão foram separados, segundo sua

localização no fígado, veia porta e vasos mesentéricos.

II.4. Determinação do peso corporal, peso do fígado e peso do baço.

Antes da infecção e por ocasião do sacrifício dos camundongos, foi determinado o peso corporal, utilizando-se balança semi-analítica.

A pesagem do fígado e do baço foi realizada em balança analítica.

II.5. Verificação de ovos de *S. mansoni* nas fezes dos camundongos.

A presença e determinação do número de ovos nas fezes dos camundongos foi realizada pelo método de Kato (KOMYIA & KOBAYASHI, 1966) por ocasião do sacrifício dos animais. As fezes para exame foram coletadas no reto dos roedores.

II.6. Obtenção e contagem de granulomas hepáticos.

Após perfusão dos camundongos, o fígado foi triturado em liquidificador para a determinação do número de granulomas totais segundo a técnica de PELLEGRINO & BRENER (1956).

Além disso um pequeno fragmento do órgão foi fixado em Bouin para a determinação do número de reações granulomatosas por área de corte histológico de 7 μ de espessura.

Os granulomas foram examinados em microscópio óptico comum e a área do corte foi obtida pela projeção do material em Visopan da Reichert e calculada com planímetro.

II.7. Obtenção e contagem de granulomas esplênicos e pulmonares.

Posteriormente a perfusão e pesagem dos órgãos, o baço e o

lobo esquerdo pulmonar, foram retirados dos camundongos e fixados em Bouin.

Foram realizados cortes histológicos longitudinais de 7 μ de espessura e quando da observação de reações granulomatosas em microscópio óptico comum, a área do corte histológico foi calculada, utilizando projeção em Visopan da Reichert e planímetro.

II.8. Obtenção e contagem de granulomas intestinais.

O intestino dos camundongos, após a perfusão dos vasos mesentéricos, foi dividido em 9 segmentos: duodeno, jejuno, íleo, ceco, colo ascendente, colo transversal, colo descendente, alça sigmóide e reto.

Porções desses vários segmentos foram fixados em Bouin e incluídos em parafina e feitos cortes transversais de 7 μ de espessura.

II.9. Formação do grupo controle.

Camundongos albinos, com 30 dias de idade, não expostos à infecção por *S. mansoní*, constituíram o grupo controle.

Estes animais foram pesados e perfundidos como os animais infectados, sendo também sacrificados semanalmente.

Destes grupos de camundongos foram anotados peso corporal, peso do fígado e do baço.

II.10. Obtenção de soros de camundongos infectados e do grupo controle.

Logo após o sacrifício dos camundongos infectados e não infectados, procedeu-se a sangria seccionando-se as jugulares, para obtenção de soro.

Os soros armazenados, separados em pequenas alíquotas e colocados em congelador, foram agrupados de acordo com o tipo e período

de infecção a que foi submetido o camundongo.

II.11. Obtenção de antissoro normal de camundongo.

Para quantificação das imunoglobulinas séricas dos animais infectados e do grupo controle, imunizou-se um coelho com soro de camundongo não infectado.

A primeira dose foi inoculada após emulsionar 1 ml de adjuvante completo de Freund com 1 ml de soro de camundongo contendo 10 mg de proteínas totais. O volume final foi inoculado intramuscularmente, na região dos ganglios poplíteos e no dorso do coelho.

Após 30 dias foi inoculada, por via intramuscular no dorso do coelho, uma segunda dose, obtida pela emulsão de 1 ml de adjuvante completo de Freund em 1 ml da fração globulínica obtida, após precipitação com sulfato de amônio a 50% de saturação e contendo 10 mg de proteínas totais.

O antissoro foi obtido 20 dias após a última inoculação. Este antissoro, analisado por imunodifusão (OUCHTERLONY, 1958), apresentou título de 1/128 com 500 µg/ml de proteínas séricas de camundongos.

II.12. Imunoeletroforese cruzada; soluções, meios e técnicas.

Para estudar a evolução dos níveis de imunoglobulinas séricas nos animais infectados e nos animais do grupo controle, utilizamos a técnica de imunoeletroforese cruzada de LAURELL, de acordo com orientação de WEEKE, descrita em AXELSEN e cols. (1973).

A eletroforese foi realizada em placas de vidro (9x12cm), utilizando como suporte 16 ml de agarose (Bio-Rad Lab.) 1% e tampão veronalglicina/tris pH 8,5 e força iônica igual a 0,02, de SVENDSEN (AXELSEN e cols., 1973).

As pontes entre o tampão contido nas cubas e a lâmina foram feitas com papel Whatman nº 3 embebidas no próprio tampão das foreses.

A primeira eletroforese foi realizada com 6 volts/cm durante uma hora e a segunda, perpendicular à primeira, foi realizada com

1,5 volt/cm durante 15 horas.

Para a revelação das reações, utilizamos corante e base de Coomassie Brilliant Blue R (Sigma).

II.13. Identificação das classes de imunoglobulinas.

A identificação das classes de imunoglobulinas do soro de camundongos, reconhecidas pelo antissoro produzido no coelho, foi feita interpondo entre a agarose contendo antissoro e a agarose da primeira forese, estreita camada de agarose contendo 40 μ l de antissoro padrão (Bionetics Lab.), conforme a seguinte especificação:

	Catálogo Nº	Lote
anti-IgA	8403-01	AI100
anti-IgM	8403-09	CD087
anti-IgG ₁	8403-03	AI099
anti-IgG _{2a}	8403-04	BI088

A absorção foi verificada quando da diminuição da área de precipitado ou então quando do seu desaparecimento.

II.14. Quantificação das imunoglobulinas séricas dos camundongos infectados e do grupo controle.

Para a quantificação das imunoglobulinas, a primeira eletroforese foi realizada empregando numa mesma lamina os soros dos animais infectados e o correspondente soro do grupo controle. Convém salientar que nesta primeira forese foi considerado o tipo de infecção e o período pós-infecção em que os animais foram sacrificados.

A segunda corrida, perpendicular a primeira, foi feita utilizando o antissoro normal de camundongo na diluição de 1/30 em agarose 1%.

A quantificação das imunoglobulinas foi feita através da medida da área envolvida pelo precipitado, após coloração da lâmina. Esta área foi determinada com o auxílio de planímetro.

Além disso, as proteínas séricas totais foram determinadas pelo reativo de biureto, segundo WEICHSELBAUM (1946).

II.15. Determinação da atividade de anticorpo.

Para verificarmos a atividade das imunoglobulinas como anticorpo, o soro dos animais infectados e sacrificados na 8a. semana foram absorvidos com esquistossomos liofilizados.

A absorção foi realizada adicionando-se a 5 mg de vermes liofilizados, 0,1 ml de soro de animais infectados. Esta mistura permaneceu por 30 minutos a temperatura de 37°C e em seguida a 4°C por 8 horas. O sobrenadante foi centrifugado e analisado através de imunoeletroforese cruzada.

Os soros dos roedores portadores de infecção unissexual por fêmeas foram absorvidos com vermes fêmeos. Os soros dos roedores portadores de infecção unissexual por machos e bissexual foram absorvidos, respectivamente, com vermes machos e com esquistossomos machos e fêmeos.

III. Resultados

No desenvolvimento deste trabalho, tivemos que infectar moluscos com um único miracídio para obtenção de cercárias que forneceram infecções unissexuais.

Entretanto, ao expor os planorbídeos aos miracídios da linhagem mineira (BH) de *S. mansoni*, verificamos ser baixo a taxa de infecção, pela razão de tentar-se a infecção com um único miracídio. Consequentemente, houve necessidade de se submeter à infecção experimental grande número de moluscos, para que tivéssemos à nossa disposição exemplares infectados suficientes para o desenvolvimento da pesquisa.

Os camundongos infectados por cercárias oriundas de um único miracídio, apresentaram mais frequentemente, vermes machos.

Nos moluscos, verificamos que a eliminação de cercárias permanecia por períodos mais longos, quando eram cercárias que deram origem a vermes femeos.

Notamos, também, que miracídios oriundos de ovos colhidos nas fezes de camundongos experimentalmente infectados, têm maior capacidade para infectar os moluscos, do que os miracídios obtidos de granulomas hepáticos.

No grupo de camundongos infectados por esquistossomos femeos, observamos mortalidade de 16,7% no subgrupo de animais sacrificados na 6a. semana pós-infecção. Estes animais morreram nas semanas subsequentes após a exposição às cercárias.

Nos camundongos com esquistossomose por vermes machos, a taxa de mortalidade foi nula.

No grupo de camundongos com infecção bissexual, verificamos que, nos subgrupos sacrificados nas 4a., 7a. e 8a. semanas pós-infecção foram respectivamente, as seguintes as taxas de mortalidade: 9,1%; 14,3% e 20,0%.

Morte espontanea de camundongos deste grupo, foi observada a partir da 3a. semana até às duas últimas semanas, quando seriam sacrificados.

No grupo controle, constituído de camundongos não expostos à infecção por *S. mansoni*, não houve mortes.

III.1. Avaliação do peso corporal e do peso das vísceras.

Observando-se a tabela I, verificamos que os camundongos utilizados nesta pesquisa para formação dos grupos controle e de animais infectados tiveram peso corporal bastante uniforme.

Na tabela II, estão os dados referentes ao peso corporal, na ocasião do sacrifício dos camundongos; não constatamos diferença significativa, com relação ao peso corporal nos vários tipos de infecção.

Pelo exame das tabelas I e II, verificamos que, apesar da infecção, os camundongos apresentaram ganho de peso.

Não obstante, houve diferença significativa no peso corporal, em função das semanas pós-infecção, em que os animais foram sacrificados (tabela III). O mesmo verificamos com relação ao peso do fígado e do baço (tabelas IV, V, VI e VII) e com relação à diferença entre o peso inicial e final dos animais do experimento.

Todavia, na 8a. semana, a análise estatística dos dados de peso corporal, peso do fígado e da diferença entre peso final e inicial, revelou diferenças significativas, comparando-se os animais do grupo controle e os infectados bissexualmente.

III.2. Observação sobre o deslocamento do *S. mansoni* no plexo porta.

Um dos objetivos do trabalho foi a verificação do deslocamento dos esquistossomos no plexo porta de camundongos com infecções uni- e bissexuais. Para isso, na ocasião do sacrifício dos animais, fo

ram os vermes agrupados, de acordo com a sua localização, no fígado, na veia porta e nos vasos mesentéricos.

A presença dos vermes nestes locais, foi constatada a partir da 2a. semana após a exposição às cercárias, no grupo de animais com infecção bissexual e unissexual por machos. Nos camundongos com infecção unissexual por fêmeas, os esquistossomos apresentaram-se no plexo porta a partir da 3a. semana.

Os esquistossomos apresentaram-se em vários estádios de desenvolvimento, verificando-se, até na 8a. semana, a presença de esquistossomulos.

Nas infecções unissexuais por fêmeas, estas se mostraram com tamanho inferior ao normal e com o aparelho reprodutor pouco desenvolvido.

III.2.1. Localização dos esquistossomos na infecção unissexual por fêmeas.

Nos camundongos com infecção unissexual por fêmeas, a colheita de esquistossomos foi principalmente, no fígado e veia porta; nos vasos mesentéricos o número de vermes foi pequeno.

Os dados obtidos estão contidos nas tabelas VIII, IX e X, assim como a análise estatística da qual resultou a elaboração do gráfico da fig. 1. Este gráfico assinala o comportamento migratório dos esquistossomos fêmeos nos camundongos com infecção unissexual.

O número de vermes localizados no fígado e nos vasos mesentéricos, nos animais sacrificados nas 3a., 4a. e 5a. semanas, apresentou diferença altamente significativa, como também foi significativa a diferença entre o número de esquistossomos localizados na veia porta e nos vasos mesentéricos.

Nas 6a., 7a. e 8a. semanas, os vermes estavam localizados, principalmente, no fígado e veia porta; nos vasos mesentéricos poucos vermes foram colhidos.

III.2.2. Localização dos esquistossomos nas infecções unissexuais por machos.

Nas tabelas XI, XII e XIII estão presentes os dados referen

tes ao número de vermes e sua localização, nos camundongos infectados por machos.

Nas 4a. e 5a. semanas, diferiu de modo significativo, o número de vermes colhidos no fígado e na veia porta, em relação aos esquistossomos colhidos nos vasos mesentéricos.

Nas três semanas subsequentes, os esquistossomos continuaram predominando no fígado e na veia porta; nos vasos mesentéricos, foi pequeno o número de vermes observados.

O deslocamento dos machos na infecção unissexual é melhor visualizado no gráfico da fig. 2, elaborado a partir dos valores da tabela XII.

III.2.3. Localização dos esquistossomos nas infecções bissexuais.

O comportamento migratório dos esquistossomos nos camundongos com infecção bissexual pode ser analisado pela observação das figs. 3, 4 e 5.

Verificamos que machos e fêmeas têm padrão de deslocamento semelhante e que se traduziram nos coeficientes das equações que interpretam as curvas; estas são sensivelmente iguais.

Na 4a. semana, a localização dos vermes foi predominantemente intra-hepática. Nas duas semanas subsequentes verificamos sua distribuição pelo fígado, veia porta e vasos mesentéricos, não tendo sido observadas diferenças significativas nessa distribuição.

Na 7a. e na 8a. semanas, encontramos, ainda, alguns esquistossomos no fígado; sua predominância foi, todavia, nos vasos mesentéricos e na veia porta, nesta em menor número.

Os dados pertinentes ao número de vermes e sua localização, na infecção bissexual, estão apresentados nas tabelas XIV, XV, XVI e XVII.

3. Observação sobre a distribuição dos ovos de *S. mansoni*.

Outro objetivo de pesquisa foi a distribuição de ovos no organismo do camundongo: no fígado, no baço, no intestino e no pulmão.

Nos camundongos com infecção bissexual, procedemos, também, a pesquisa de ovos nas fezes. Não foi feita esta verificação nas infecções unissexuais, pela razão óbvia dos esquistossomos de um único sexo, isolados, não apresentarem capacidade para produzir ovos.

Nas diferentes vísceras é fácil visualizar, em cortes histológicos, a presença de processo granulomatoso envolvendo os ovos. Estas lesões foram, primeiramente, observadas no fígado, na 5a. semana. O aparecimento de ovos nas fezes foi verificado a partir da 6a. semana.

Não foi efetuada rotineiramente a observação do pâncreas; merece, todavia, assinalar a presença de reações granulomatosas, em torno de ovos, no pâncreas de um camundongos sacrificado na 8a. semana (fig. 16).

A observação de cortes histológicos permitiu, ademais, a verificação de outras alterações consequentes da presença do parasita, nas infecções bissexuais; esta análise foi realizada em cortes histológicos das vísceras de camundongos sacrificados da 4a. a 8a. semana. Nas infecções unissexuais e no grupo controle, as observações limitaram-se a 8a. semana.

III.3.1. Granulomas do fígado.

O número de granulomas hepáticos aumentou até a 8a. semana, como demonstra a tabela XVIII.

No parênquima hepático de camundongos sacrificados na 8a. semana, além de infiltrados linfohistiocitários, com presença de neutrófilos, verificaram-se pequenas áreas de necrose e de degeneração gordurosa (fig. 6).

Em algumas reações granulomatosas foi verificado a presença de massa necrótica eosinofílica (fig. 7).

A hiperplasia do SRE foi observação constante nos cortes de fígado, em camundongos sacrificados da 4a. a 8a. semana (fig. 8).

Até a 4a. semana, não foram verificadas reações granulomatosas; não obstante, notamos infiltrados multifocais constituídos por eosinófilos, linfócitos e histiócitos (fig. 9).

Cortes de fígado de camundongos com infecção unissexual, sacrificados após oito semanas, revelaram infiltrados linfohistiocitá

rios e, eventualmente, a ocorrência de áreas de necrose coagulativa (figs. 10 e 11).

III.3.2. Granulomas do baço e do pulmão.

Granulomas do baço foram constatados na 8a. semana pós-infecção (tabela XVIII). Neste órgão foi verificada a ocorrência de hiperplasia da polpa branca e de alguns processos de reação granulomatosa, com a presença de massa necrótica central (fig. 12).

O pulmão apresentou granulomas, desde a 6a. até a 8a. semana. Também foi positiva a presença de alguns vermes adultos, nos brônquios e regiões subpleurais (figs. 13 e 14). Hemorragias e neoformações vasculares foram vistas em áreas de atelectasia pulmonar (fig. 15).

III.3.3. Granulomas do intestino.

Reações granulomatosas no intestino foram encontradas, a partir da 6a. semana pós-infecção (tabela XIX).

Somente na 8a. semana, foi verificada diferenciação na localização dos granulomas nos vários segmentos do intestino. Nesta semana, o colo ascendente abrigou maior número de lesões, seguindo-se o ceco e colo descendente (tabela XIX).

Estatisticamente (tabela XX), verificamos que os segmentos inicial e final do intestino foram os que apresentaram menor número de lesões granulomatosas.

Na luz intestinal, observamos a presença de parasitas (nematóides, cestódeos e protozoários).

III.3.4. Presença de ovos nas fezes.

A ocorrência de ovos nas fezes só foi verificada nas infecções bissexuais e a partir da 6a. semana.

Coincidindo com a maior frequência de granulomas nas vísceras

ras, os ovos de *S. mansoní* apareceram em maior número na 8a. semana.

III.4. Verificação dos níveis de imunoglobulinas no soro dos animais infectados.

O soro normal de camundongo (SN) quando analisado por imoeletroforese cruzada, apresentou vários sistemas precipitantes sendo um único bem caracterizado, como mostram as figs. 17 e 18. Os sistemas precipitantes foram definidos pela absorção com os antissoros padrões.

Como pode ser visto nas figs. 17 e 18 somente o sistema precipitante correspondente a IgA sofreu alteração em sua área decorrente da absorção com anti-imunoglobulina padrão.

Quando soro normal foi absorvido com a-IgM, a-IgG₁ e a-IgG_{2a} padrões, pouca ou nenhuma alteração definida na área compreendida pelos precipitados pode ser observada.

III.4.1. Quantificação de proteínas.

Em vista dos resultados verificados com a absorção de imunoglobulinas padrões, utilizamos o antissoro normal de camundongo, na diluição de 1/30 para a quantificação de IgA nos soros dos camundongos infectados e não infectados por *S. mansoní*.

Nas figs. 19, 20, 21 e 22 constam os padrões obtidos das imoeletroforeses cruzadas realizadas com os soros dos camundongos do grupo controle (C), infectados por machos (♂), infectados por fêmeas (♀) e com infecção bissexual (♂♀).

Para a verificação da área de precipitação de IgA utilizamos soro de camundongos sacrificados nas 2a., 4a., 6a. e 8a. semanas.

A verificação dos níveis de imunoglobulinas foi realizada numa única lâmina de eletroforese, tendo em vista a identidade dos resultados obtidos na duplicata efetuada com o soro dos camundongos sacrificados na 6a. semana.

Na tabela XXI apresentamos os resultados obtidos da quantificação de IgA baseada na relação entre a área de precipitação obtida

pela eletroforese dos soros dos animais infectados (I) e a área de precipitação obtida com o soro dos animais do grupo controle (C).

Podemos observar por esta tabela, que na 6a. semana de infecção houve um aumento de IgA em todos os soros dos animais infectados. Na 8a. semana o teor de IgA persistiu no soro dos camundongos com infecção por machos. Nos animais com infecção por fêmeas e bissexual, pequena diminuição da área de precipitação de IgA pode ser observada.

Nas figs. 23, 24 e 25 estão apresentadas as imunoeletroforeses para verificação de IgA, bem como sua atividade como anticorpo nos soros dos camundongos infectados. Alterações nos níveis de IgA no soro dos camundongos foram observadas quando da absorção com vermes e com a-IgA padrão.

Tabela I - Peso corporal médio em gramas pr ocasião da infecção; camundongos separados em 8 subgrupos de acordo com as datas de sacrifício.

Datas de sacrifício (semanas)	Tipos de infecção			
	♀	♂	♀	C
1	14,18(10)	15,62(10)	15,73(10)	15,86(10)
2	15,26(10)	15,01(10)	15,44(10)	16,26(10)
3	15,41(10)	15,06(10)	15,47(10)	15,95(10)
4	15,61(10)	15,67(10)	16,35(11)	15,85(10)
5	16,72(10)	15,60(10)	15,81(10)	16,12(10)
6	15,26(12)	16,63(10)	15,59(10)	16,31(10)
7	15,67(10)	15,87(10)	15,45(14)	15,33(10)
8	15,45(10)	15,30(9)	15,77(20)	15,14(10)
Média	15,55	15,60	15,70	15,85
	$\pm 0,5$	$\pm 0,5$	$\pm 0,3$	$\pm 0,4$

() - número de camundongos que constitui o subgrupo

Tabela II - Peso corporal médio dos camundongos, em gramas, na ocasião do cacrifício.

Semanas após infecção	Tipos de infecção			
	♀	♂	♀♂	C
1	18,53(10)	21,35(10)	21,16(10)	21,59(10)
2	24,41(10)	22,97(10)	25,30(10)	22,97(10)
3	23,70(10)	26,70(10)	25,64(10)	21,11(10)
4	25,81(9)	24,03(10)	26,90(10)	29,33(10)
5	30,91(10)	30,98(10)	25,83(10)	30,17(10)
6	29,00(10)	27,83(10)	27,29(10)	28,98(10)
7	30,05(10)	29,61(10)	28,26(12)	31,64(10)
8	31,58(10)	28,13(9)	26,03(16)	29,30(10)

() - número de camundongos sacrificados por subgrupo.

Tabela III - Resultado da análise estatística dos pesos corporais médios dos roedores, na ocasião do sacrifício.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F
Infecção	3	5,58865	1,8629	0,492 - NS
Semanas	7	297,22015	42,4600	11,212 - **
Resíduo	21	79,52565	3,7869	-
Total	31	382,33442	-	-

Tabela IV - Peso médio dos fígados, em gramas, na ocasião do sacrifício dos camundongos.

Semanas após infecção	♀	♂	♀	C
1	1,0831	1,5636	1,4324	1,5687
2	1,6769	1,5279	1,7608	1,6627
3	1,6208	1,6469	1,7305	1,4115
4	1,8085	1,6102	1,7800	1,9708
5	1,8722	2,0370	1,8350	2,0426
6	2,0219	1,9670	2,0803	1,9162
7	2,2724	1,9742	2,3218	2,2495
8	1,9996	1,8734	2,4866	1,1302

Tabela V - Resultado da análise estatística dos pesos médios dos fígados, por ocasião do sacrifício dos camundongos.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Infecção	3	0,15876	0,05292	0,915 - NS
Semanas	7	1,75285	0,25041	4,332 - *
Resíduo	21	1,21390	0,05780	-
Total	31	3,12551	-	-

Tabela VI - Peso médio dos baços, em gramas, na ocasião do sacrifício dos camundongos.

Semanas após infecção	Tipos de Infecção			
	♀	♂	♀	C
1	0,1254	0,1074	0,1291	0,1550
2	0,1540	0,1483	0,1726	0,1945
3	0,1606	0,1895	0,1997	0,1196
4	0,2618	0,2036	0,2009	0,1387
5	0,1894	0,2387	0,2558	0,2515
6	0,2673	0,3278	0,3190	0,2779
7	0,2687	0,3288	0,3110	0,2979
8	0,1955	0,2851	0,4044	0,3645

Tabela VII - Resultado da análise estatística dos pesos médios dos baços, por ocasião do sacrifício dos camundongos.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Infecção	3	0,008608	0,002869	1,574 - NS
Semanas	7	0,141112	0,020159	11,058 - **
Resíduo	21	0,038283	0,001823	-
Total	31	0,188003	-	-

Tabela VIII - Média numérica e coeficiente de variação; vermes fêmeos colhidos no fígado, veia porta e vasos mesentéricos de camundongos infectados unissexualmente.

Semanas após infecção	Fígado		Veia porta		Vasos mesentéricos		Total	
	Média	CV	Média	CV	Média	CV	Média	CV
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	18,60±13,13	70,6	8,10±10,63	131,2	0,20±0,63	131,2	26,90±19,51	72,5
4	13,89± 9,94	71,6	6,44± 4,85	75,3	-	-	20,33±10,28	50,6
5	12,50±11,19	89,5	9,90± 4,22	42,7	0,80±1,48	185,0	23,20±12,60	54,3
6	10,20± 7,16	70,2	18,60±12,50	67,3	4,40±6,22	141,4	33,20±14,50	43,7
7	24,30±12,85	52,9	9,50± 5,62	59,2	5,00±4,16	83,2	38,80±15,65	40,3
8	18,30±11,20	61,2	10,80± 9,99	92,5	6,70±5,79	86,5	35,80±15,63	43,7

Tabela IX - Distribuição percentual de vermes fêmeos colhidos no fígado, veia porta e vasos mesentéricos de camundongos infectados unissexualmente. *

Semanas após infecção	Fígado %	Veia Porta %	Vasos Mesentéricos %
4	68,3	31,7	0,0
5	53,9	42,7	3,4
6	30,7	56,0	13,3
7	62,6	24,5	12,9
8	51,1	30,2	18,7

* - Valores utilizados na elaboração do gráfico da fig. 1 e no cálculo das equações.

Tabela X - Resultado da análise estatística da distribuição dos esquistossomos fêmeos em camundongos infectados unissexualmente.

Semanas após infecção	F-VM	VP-VM	F-VP	χ^2_r	n	k
4	***	*	NS	14,389***	9	3
5	***	**	NS	15,450***	10	3
6	NS	*	NS	8,15 *	10	3
7	***	NS	**	15,80 *	10	3
8	*	NS	NS	8,15 *	10	3

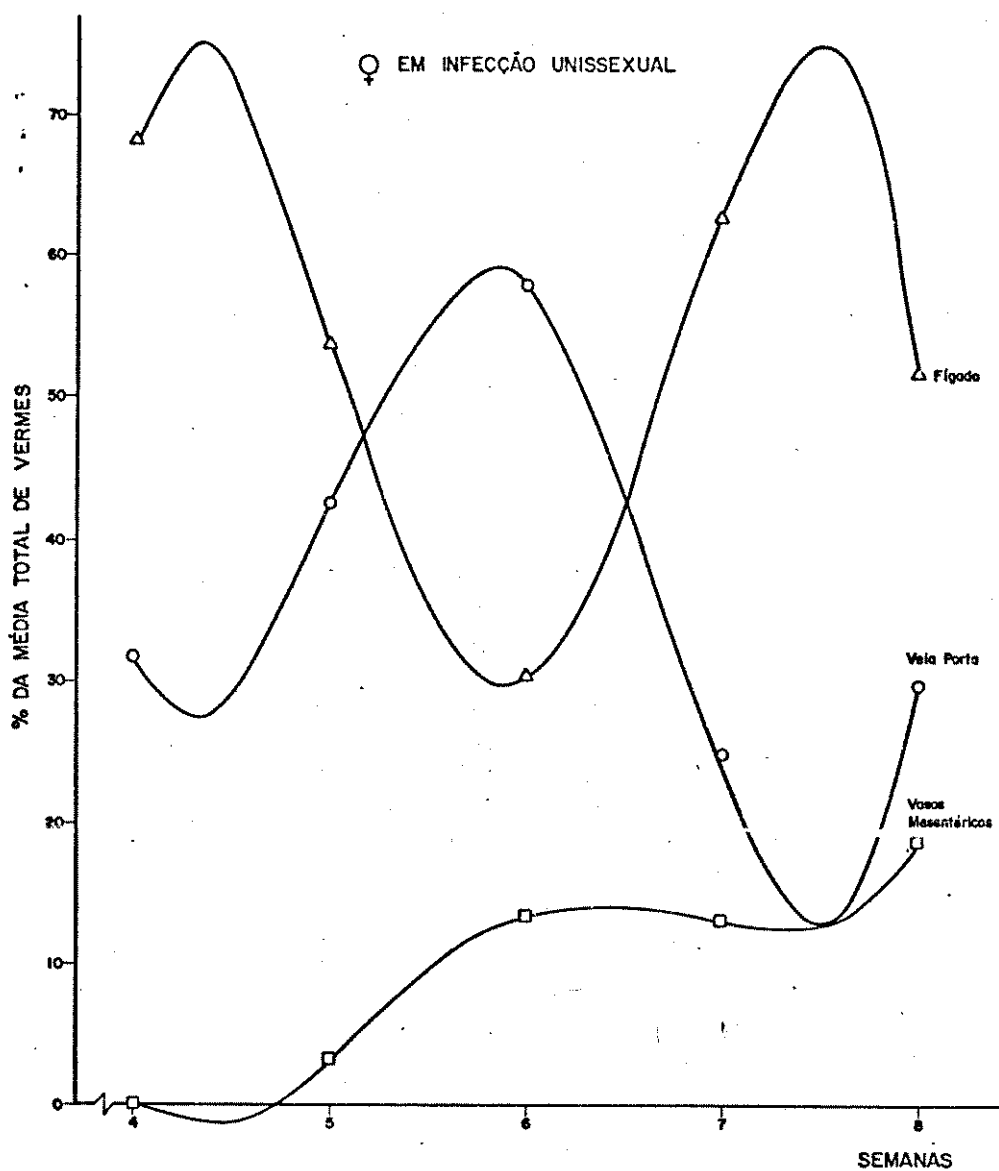
F - Fígado; VP - veia porta; VM - vasos mesentéricos

NS - não significativo

*** - significativo a nível de 0,1%

** - significativo a nível de 1%

* - significativo a nível de 5%



$$\text{FÍGADO } y = 30,7 + 7,2333(x-6) + 34,3167(x-6)^2 - 2,8833(x-6)^3 - 6,7667(x-6)^4$$

$$\text{VEIA PORTA } y = 56,0000 - 11,7375(x-6) - 27,7792(x-6)^2 + 2,8375(x-6)^3 + 5,3792(x-6)^4$$

$$\text{VASOS MESENTÉRICOS } y = 13,3000 + 4,7750(x-6) - 6,5375(x-6)^2 - 0,0250(x-6)^3 + 1,3875(x-6)^4$$

Fig. 1 - Distribuição de esquistossomos no fígado, veia porta e vasos mesentéricos nas infecções unissexuais por fêmeas.

Tabela XI - Média numérica e coeficiente de variação; vermes machos colhidos no fígado, veia porta e vasos mesentéricos de camundongos com infecção unissexual.

Semanas após infecção	Fígado		Veia porta		Vasos mesentéricos		Total	
	Média	CV	Média	CV	Média	CV	Média	CV
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	29,90±19,70	65,8	4,20± 5,20	123,8	-	-	34,10±23,30	68,3
3	32,60±17,66	54,1	14,20±14,56	102,5	0,40±0,70	175,0	47,20±17,50	37,1
4	18,40±12,24	66,5	15,30±13,38	87,5	0,90±1,20	133,0	34,60±18,38	53,1
5	15,80± 8,47	53,6	13,90± 6,79	48,8	6,80±3,99	58,7	36,50±13,62	37,3
6	9,40± 4,56	48,5	16,20± 4,69	28,9	4,50±2,88	63,9	30,10± 6,01	20,0
7	9,20± 5,85	63,5	18,60± 5,50	29,6	3,60±0,70	19,4	31,40± 4,81	15,3
8	12,00± 6,34	52,9	17,55±12,56	71,6	5,67±5,50	97,0	35,22±18,81	53,4

Tabela XII - Distribuição percentual de vermes machos colhidos no fígado, veia porta e vasos mesentéricos de camundongos infectados unissexualmente. *

Semanas após infecção	Fígado %	Veia Porta %	Vasos Mesentéricos %
4	53,2	44,2	2,6
5	43,3	38,1	18,6
6	31,2	53,8	15,0
7	29,3	59,2	11,4
8	34,1	49,8	16,1

* - Valores utilizados na elaboração do gráfico da fig. 2 e no cálculo das equações.

Tabela XIII - Resultado da análise estatística da distribuição dos esquistossomos machos em camundongos infectados bissexualmente.

Semanas após infecção	F-VM	VP-VM	F-VP	χ_r^2	n	k
4	***	**	NS	15,05***	10	3
5	**	*	NS	9,80**	10	3
6	NS	***	NS	13,65***	10	3
7	NS	**	NS	10,04**	10	3
8	NS	*	NS	8,16*	9	3

F - fígado ; VP-veia porta; VM-vasos mesentéricos

NS - não significativo

* - significativo a 5%

** - significativo a 1%

*** - significativo a 0,1%

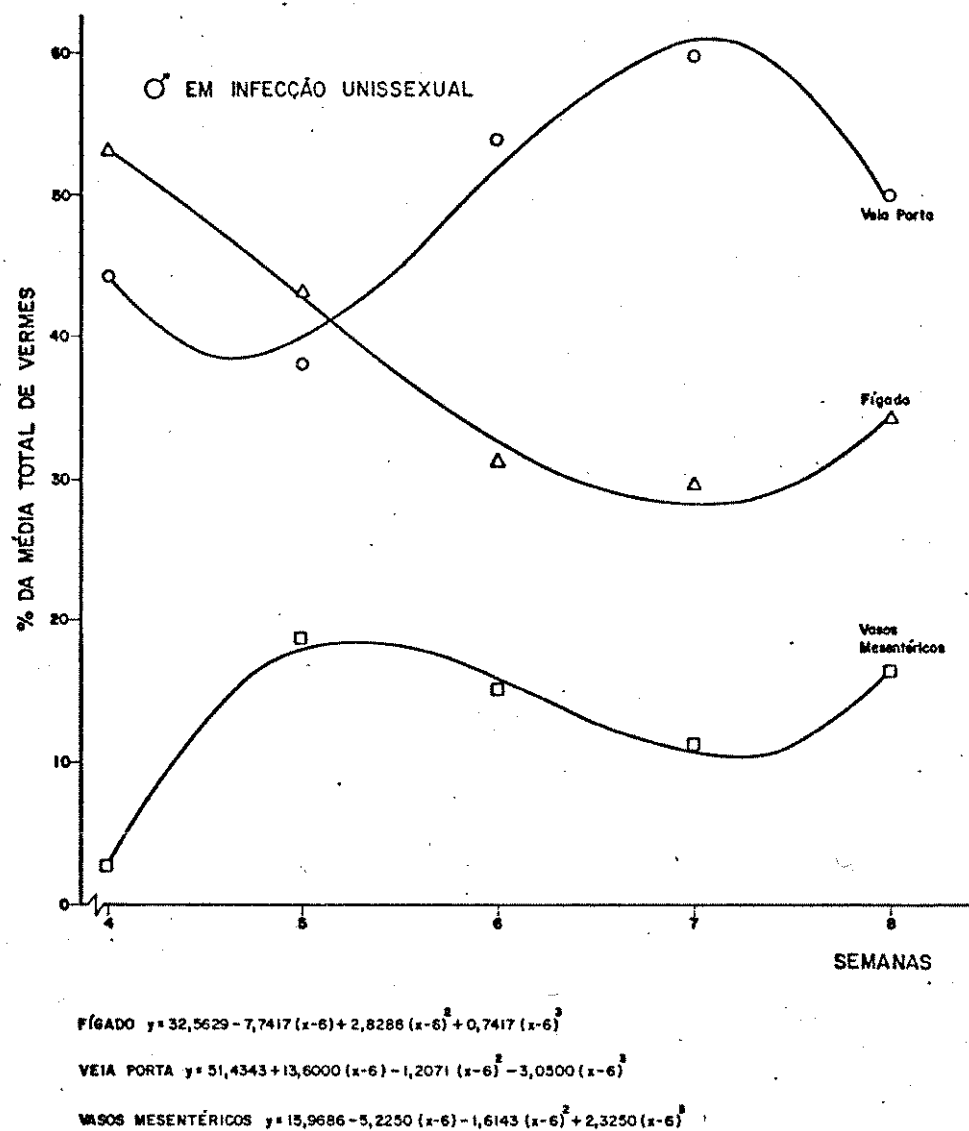


Fig. 2 - Distribuição de esquistossomos no fígado, veia porta e vasos mesentéricos nas infecções unissexuais por machos.

Tabela XIV - Média numérica e coeficiente de variação; vermes fêmeos colhidos no fígado, veia porta e vasos mesentéricos de camundongos com infecção bissexual.

Semanas após infecção	Fígado		Veia porta		Vasos mesentéricos		Total	
	Média	CV	Média	CV	Média	CV	Média	CV
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	*	-	*	-	*	-	-	-
3	*	-	*	-	*	-	-	-
4	4,30±5,42	126,0	1,20±1,62	134,9	0,20±0,42	210,0	5,70±6,91	121,2
5	6,60±7,44	112,7	7,50±6,95	92,6	5,10±5,74	112,6	19,20±11,04	57,5
6	3,40±4,03	112,0	4,60±3,17	68,9	8,00±4,47	55,9	16,00±4,27	26,7
7	1,67±2,02	122,4	6,50±4,23	65,4	9,33±5,33	57,1	17,17±8,05	46,9
8	2,44±2,22	91,0	8,56±6,66	77,8	14,88±5,12	34,4	25,87±9,21	35,6

* - vermes colhidos no estágio de esquistossomulos.

Tabela XV - Média numérica e coeficiente de variação; vermes machos colhidos no fígado, veia porta e vasos mesentéricos de camundongos com infecção bissexual.

Semanas após infecção	Fígado		Veia porta		Vasos mesentéricos		Total	
	Média	CV	Média	CV	Média	CV	Média	CV
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	*	-	*	-	*	-	-	-
3	*	-	*	-	*	-	-	-
4	4,00±4,42	110,6	1,00±1,49	149,0	0,30±0,67	223,3	5,30± 5,88	111,0
5	3,10±3,28	105,8	5,50±5,15	93,6	4,60±4,95	107,6	13,20±11,44	86,7
6	4,50±4,03	89,7	6,50±4,67	71,9	8,40±5,20	62,0	19,40±11,34	58,5
7	1,00±1,86	186,0	4,08±1,88	46,1	8,83±4,99	56,5	13,92± 6,99	50,2
8	1,38±1,09	79,0	5,50±3,41	62,0	3,25±4,74	35,8	20,13± 6,04	30,0

* - vermes colhidos no estágio de esquistossomulos.

Tabela XVI - Distribuição de vermes fêmeos e machos colhidos no fígado, veia porta e vasos mesentéricos de camundongos com infecção bissexual. *

Semanas após infecção	♀						♂						Total	
	F		VP		VM		F		VP		VM		F	
	%		%		%		%		%		%		%	
4	75,43		21,05		3,51		75,47		18,87		5,66		75,45	
5	34,38		39,06		26,56		23,48		41,67		34,85		29,94	
6	21,25		28,75		50,00		23,20		33,50		43,30		22,31	
7	9,52		37,14		53,33		7,19		29,34		63,47		8,49	
8	9,42		33,09		57,49		6,81		27,24		65,63		8,29	
													20,00	
													40,12	
													31,36	
													33,69	
													30,57	
													4,54	
													29,94	
													46,33	
													57,82	
													61,14	

* - Valores utilizados na elaboração dos gráficos das figs. 3, 4 e 5 e no cálculo das equações.

- F - fígado
- VP - veia porta
- VM - vasos mesentéricos

Tabela XVII - Resultado da análise estatística da distribuição dos esquistossomos em comundongos infectados bissexualmente.

Semanas após infecção	F-VM	VP-VM	F-VP	χ^2_r	n	k
4	***	NS	*	20,00***	10	3
5	NS	NS	NS	0,65 NS	10	3
6	NS	NS	NS	4,20 NS	10	3
7	***	***	*	18,50***	12	3
8	***	NS	**	27,12***	16	3

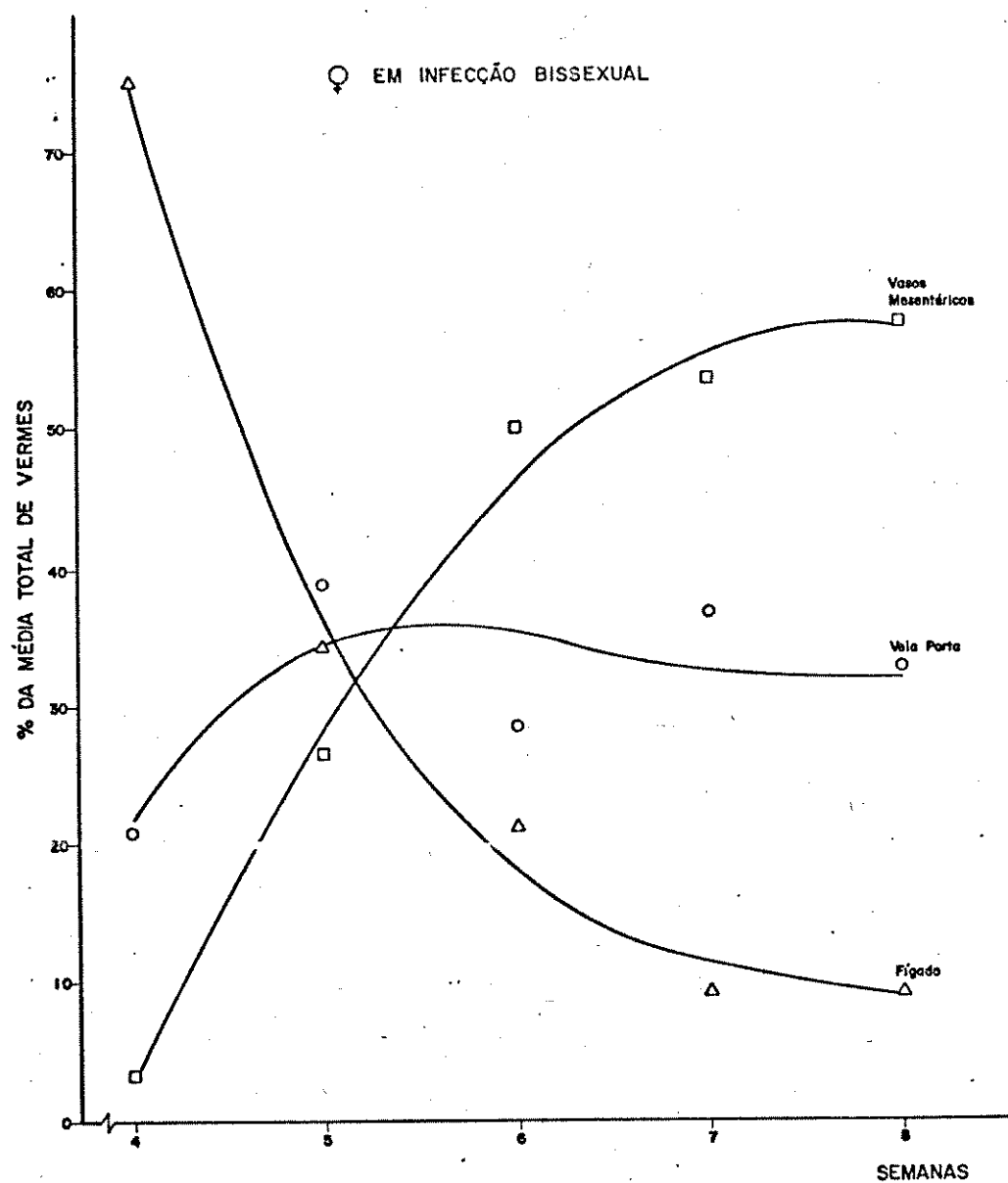
F - Fígado; VP - Veia porta; VM - vasos mesentéricos

NS - não significativo

*** - significativo a nível de 0,1%

** - significativo a nível de 1%

* - significativo a nível de 5%

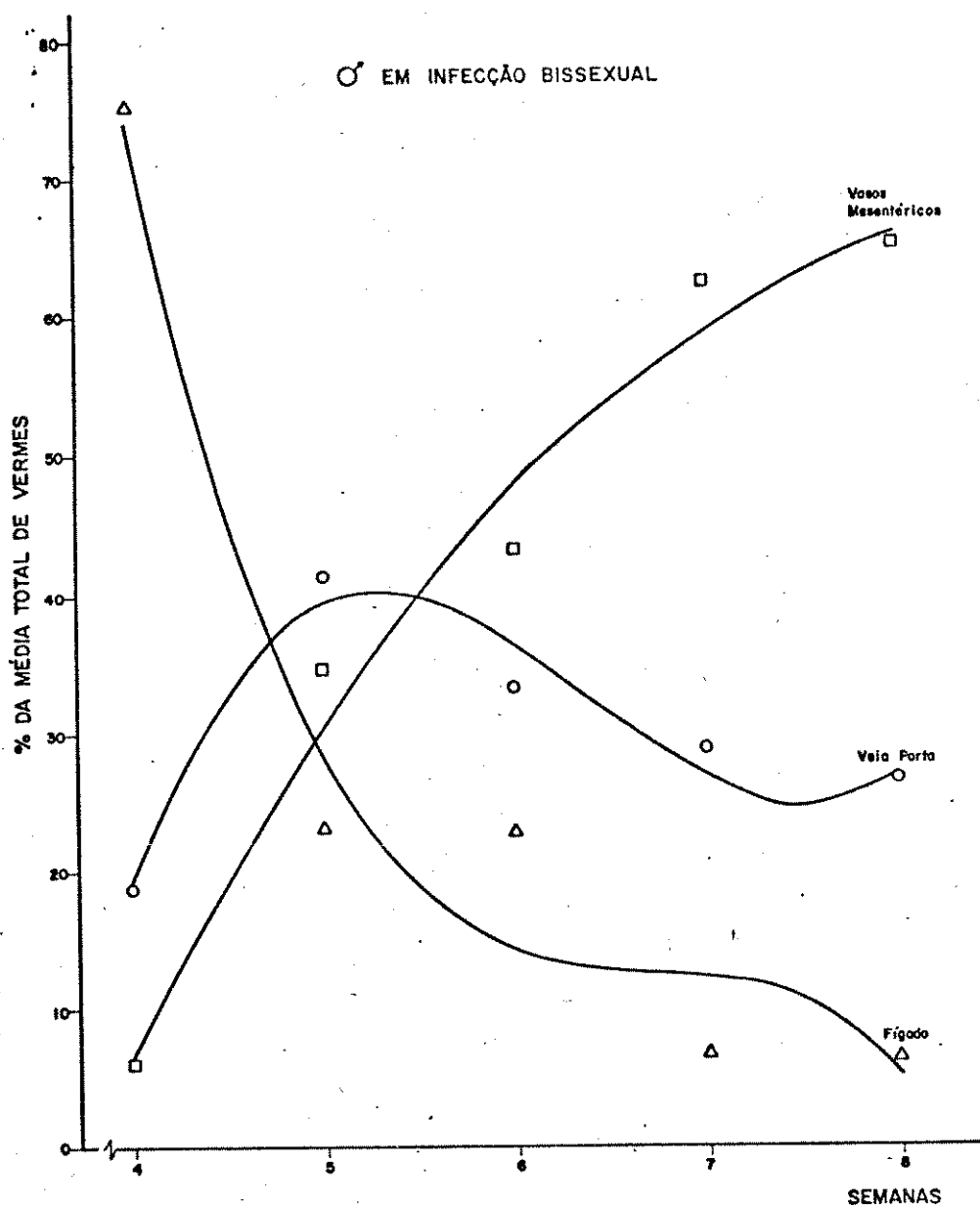


$$\text{FÍGADO } y = 18,1000 - 11,0725(x-6) + 5,9500(x-6)^2 - 1,3575(x-6)^3$$

$$\text{VEIA PORTA } y = 35,4494 - 2,2833(x-6) - 1,8157(x-6)^2 + 1,3233(x-6)^3$$

$$\text{VASOS MESENTÉRICOS } y = 46,4500 + 13,3483(x-6) - 4,1350(x-6)^2 + 0,0367(x-6)^3$$

Fig. 3 - Distribuição de esquistossomos femeos no fígado, veia porta e vasos mesentéricos nas infecções bissexuais.

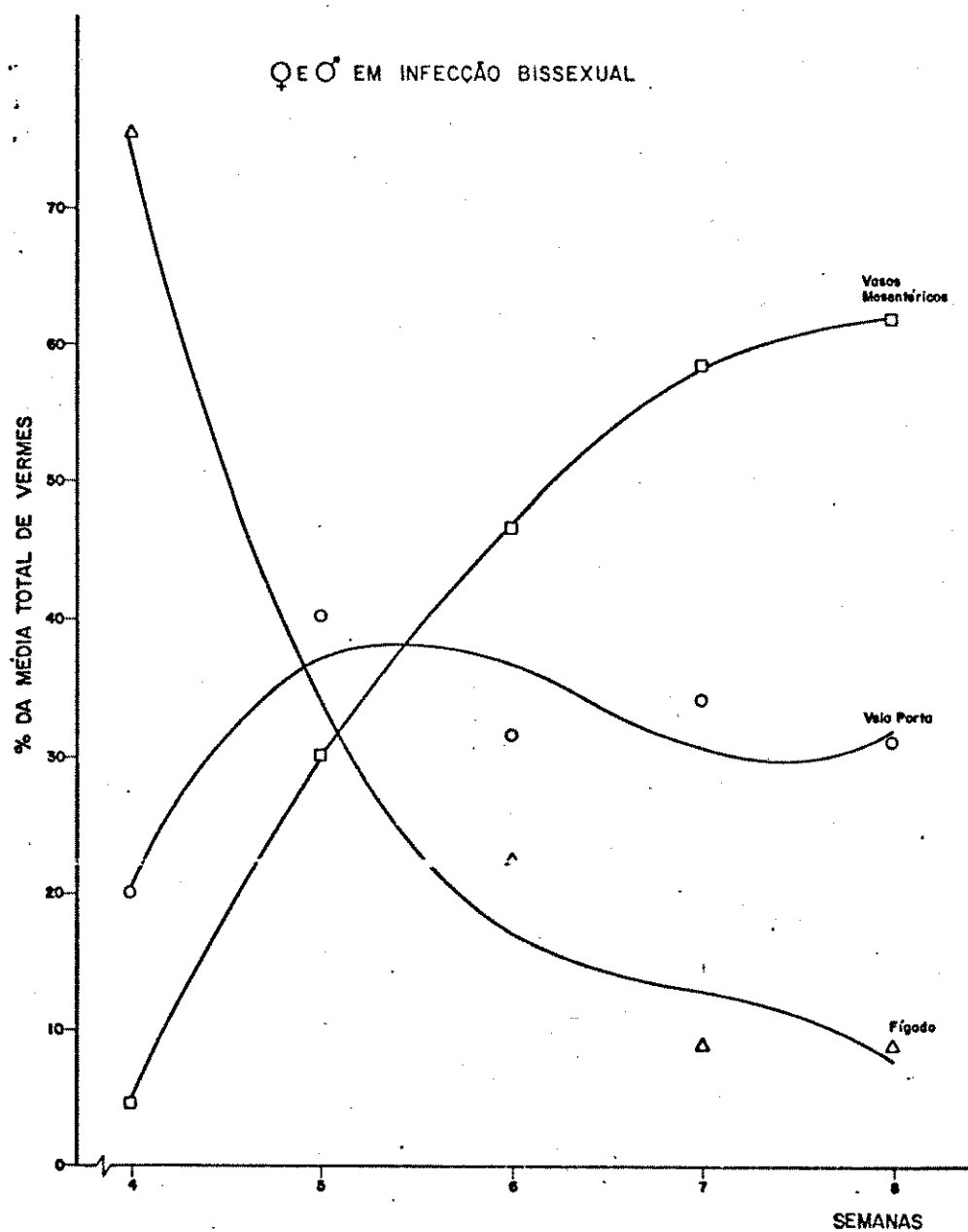


$$\text{FÍGADO } y = 14,7371 - 5,1293(x-6) + 6,2464(x-6)^2 - 3,0067(x-6)^3$$

$$\text{VEIA PORTA } y = 36,6664 - 8,9175(x-6) - 3,2707(x-6)^2 + 2,7525(x-6)^3$$

$$\text{VASOS MESENTÉRICOS } y = 48,4934 + 13,8158(x-6) - 2,9957(x-6)^2 + 0,2942(x-6)^3$$

Fig. 4 - Distribuição de esquistossomos machos no fígado, veia porta e vasos mesentéricos nas infecções bissexuais.



$$\text{FÍGADO } y = 16,8346 - 8,7033(x-6) + 6,0307(x-6)^2 + 2,0217(x-6)^3$$

$$\text{VEIA PORTA } y = 36,2037 - 5,1675(x-6) - 2,5279(x-6)^2 + 1,9525(x-6)^3$$

$$\text{VASOS MESENTÉRICOS } y = 46,9711 + 13,8700(x-6) - 3,5043(x-6)^2 + 0,0700(x-6)^3$$

Fig. 5 - Distribuição de esquistossomos machos e femeos no fígado, veia porta e vasos mesentéricos nas infecções bissexuais.

Tabela XVIII - Média numérica de granulomas no fígado, baço e pulmão e número de ovos de *S. mansoni* nas fezes dos camundongos na ocasião do sacrifício.

Semanas após infecção	GH totais	GH/mm ²	GE/mm ²	GP/mm ²	ovos/g fezes
1(10)	0	0	0	0	0
2(10)	0	0	0	0	0
3(10)	0	0	0	0	0
4(10)	0	0	0	0	0
5(10)	28,74	0,02	0	0	0
6(10)	236,29	0,46	0	0,01	215,39
7(12)	1858,23	1,14	0	0,06	1399,03
8(16)	4446,83	1,66	0,19	0,06	2217,56

() - número de camundongos sacrificados por subgrupo.

GH totais - granulomas hepáticos totais.

GH/mm² - granulomas hepáticos por área de corte histológico

GE/mm² - granulomas esplênicos por área de corte histológico

GP/mm² - granulomas pulmonares por área de corte histológico

Tabela XIX - Média numérica de reações granulomatosas no intestino dos camundongos na ocasião do sacrifício.

Semanas após infecção	Segmentos do intestino (granulomas/mm ²)*								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1(10)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2(10)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3(10)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4(10)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5(10)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6(10)	0,03	0,22	0,05	0,04	0	0,02	0	0	0,13
7(12)	0,19	0,28	0,99	0,46	0,25	0,72	0,30	0,17	0,35
8(16)	0,22	0,62	0,96	1,06	1,27	1,11	0,80	0,48	0,74

* - 1 - duodeno; 2 - jejuno; 3 - íleo; 4 - ceco; 5 - colo ascendente; 6 - colo transverso;
7 - colo descendente; 8 - alça sigmóide; 9 - reto.
() - número de camundongos sacrificados por subgrupo.

Tabela XX - Resultado da análise estatística (teste de Friedman) das reações granulomatosas nos vários segmentos intestinais de camundongos sacrificados na 8a. semana de infecção.

Segmentos intestinais	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1		NS	*	**	***	**	*	NS	NS
2			NS	NS	**	NS	NS	NS	NS
3				NS	NS	NS	NS	NS	NS
4					NS	NS	NS	*	NS
5						NS	NS	***	*
6							NS	**	NS
7								NS	NS
8									NS

1 - duodeno; 2 - jejuno; 3 - íleo; 4 - ceco; 5 - colo ascendente;
6 - colo transversal; 7 - colo descendente; 8 - alça sigmóide;
9 - reto.

NS - não significativo

*** - significativo a nível de 0,1%

** - significativo a nível de 1%

* - significativo a nível de 5%

Tabela XXI - Relação I/C, calculada utilizando-se as áreas de precipitação de IgA obtidas por imunoeletroforese cruzada.

Semanas após infecção	Tipos de infecção		
	♀	♂	♀♂
2	0,4	0,5	0,4
4	0,4	0,7	0,8
6	1,1	1,2	1,4
8	0,8	1,3	1,0

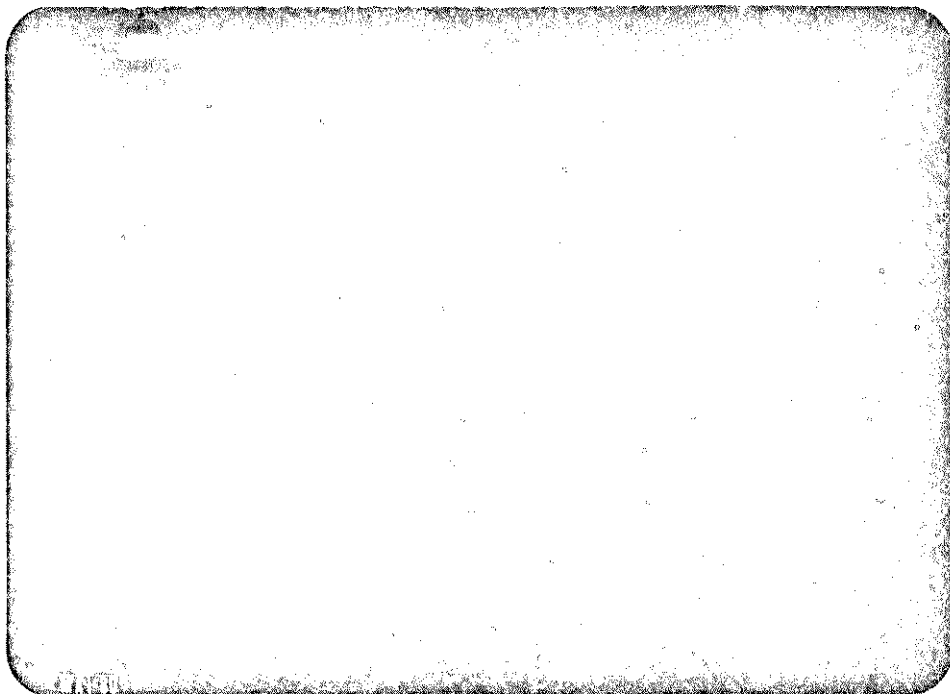


Fig. 6 - Área de degeneração gordurosa em parênquima hepático de camundongo sacrificado 8 semanas após a infecção por *S. mansoni* (HE 300x).

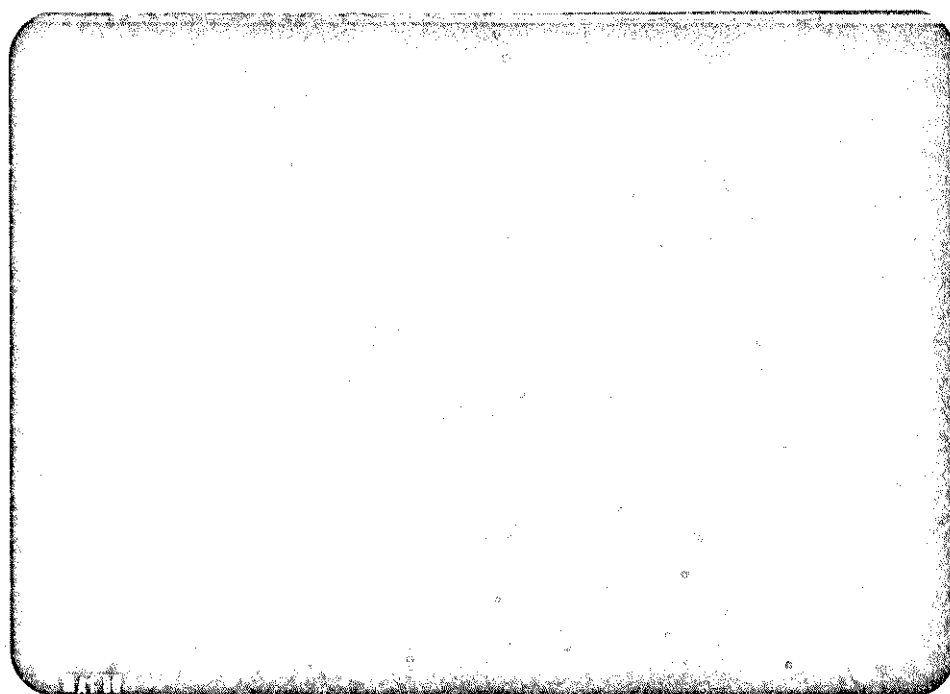


Fig. 7 - Massa necrótica eosinofílica em reação granulomatosa no fígado de camundongo sacrificado 8 semanas após a infecção por *S. mansoni* (HE 660x).

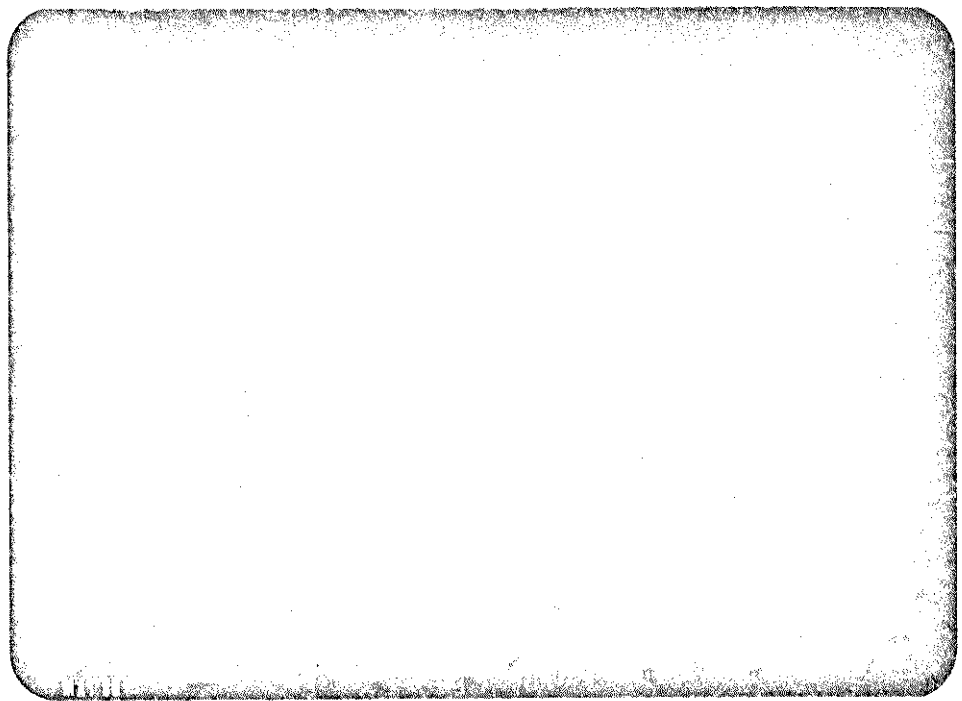


Fig. 8 - Hiperplasia do SRE no parênquima hepático de camundongo infectado bissexualmente por *S. mansoni* (HE 300x).

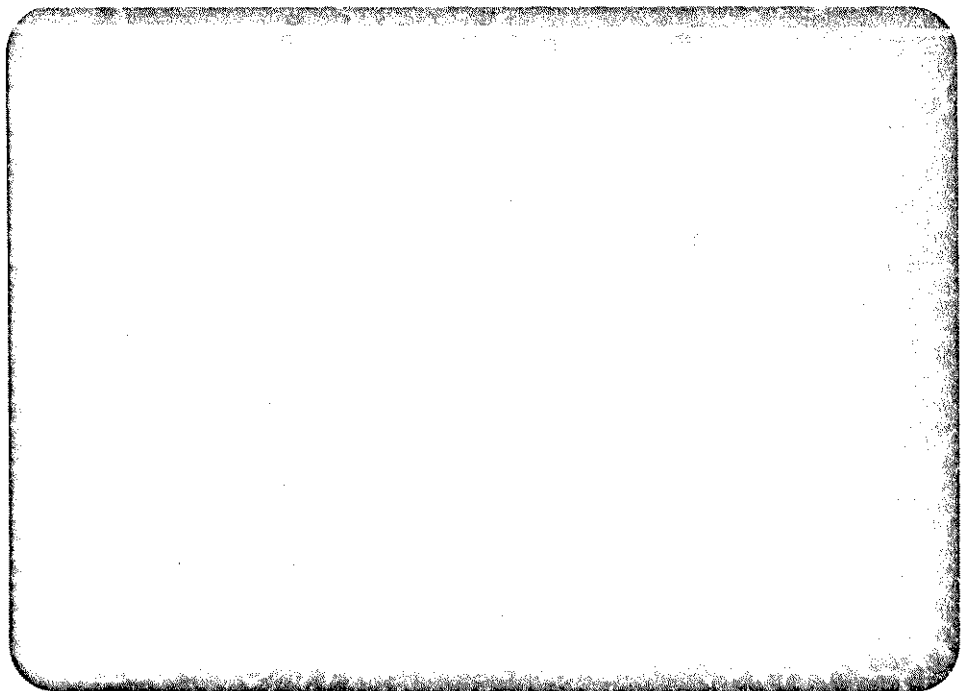


Fig. 9 - Infiltrado eosinofílico com presença de alguns linfócitos e histiócitos, em fígado de camundongo infecto bissexualmente por *S. mansoni* e sacrificado após 4 semanas (HE 1250x).

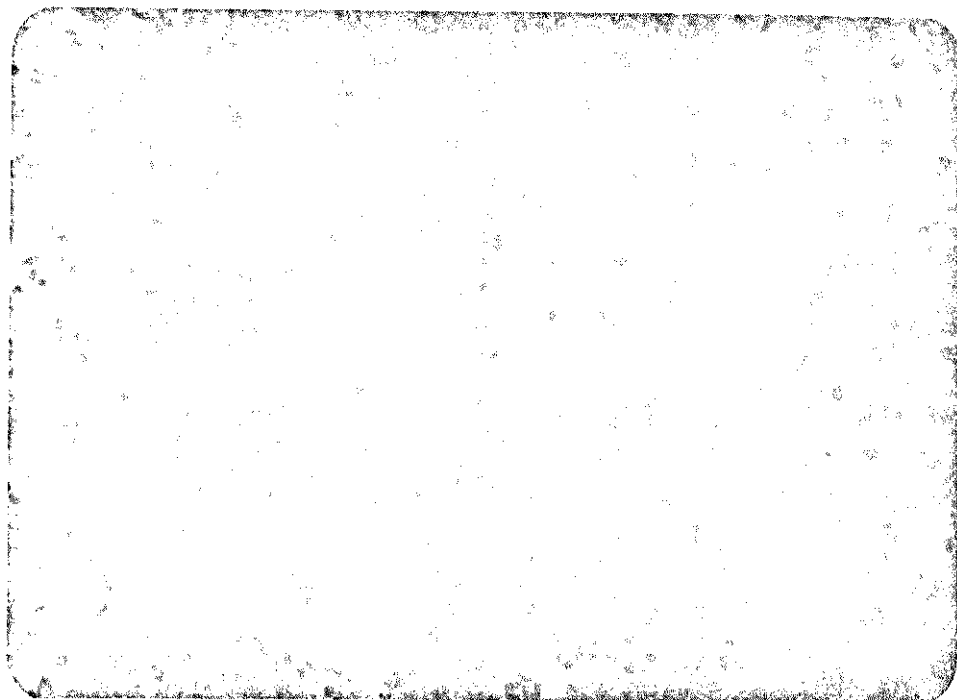


Fig. 10 - Infiltrado linfohistiocitário no parênquima hepático de ca
mundongo com infecção por machos (HE 1250x).

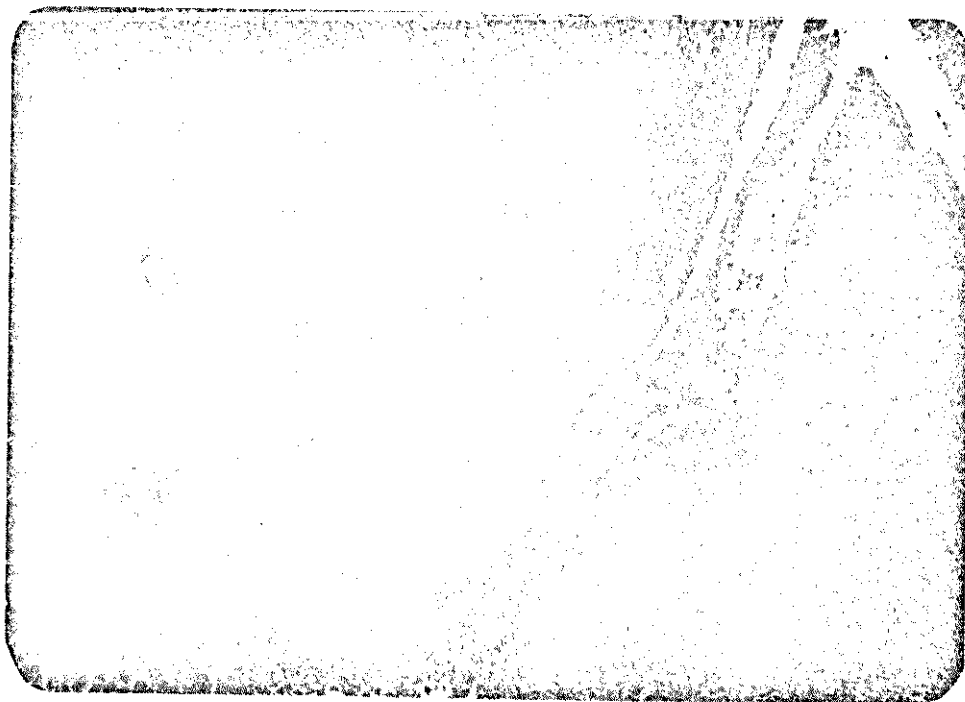


Fig. 11 - Área de necrose coagulativa no parênquima hepático de camund
dongo com infecção unissexual por machos (Tricromico de Mass
son 125x).

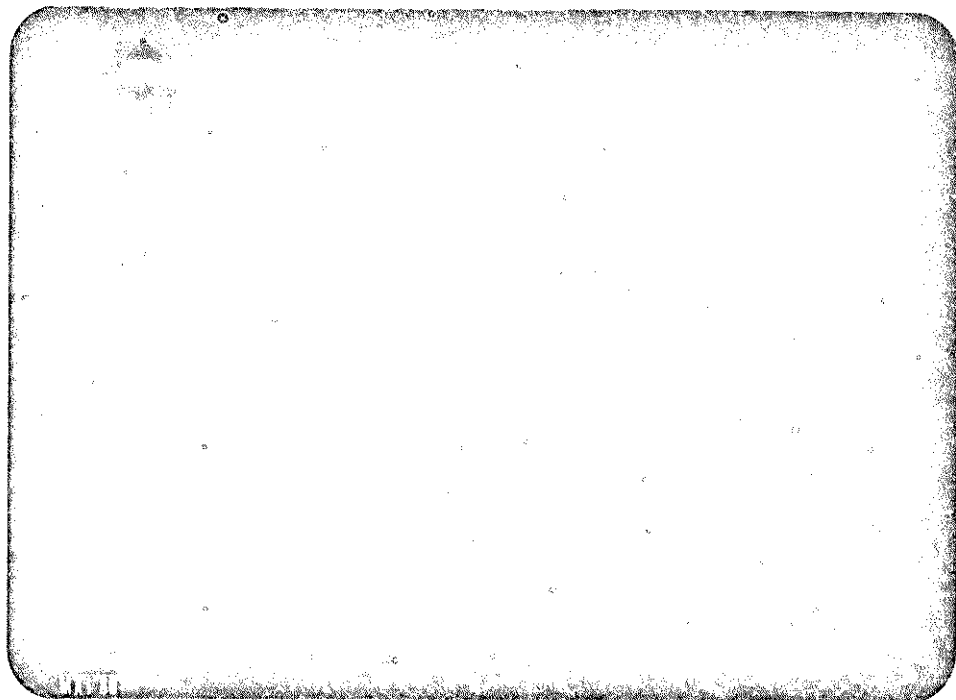


Fig. 12 - Área de necrose no baço de camundongo com infecção bissexual por *S. mansoni* (HE 300x).

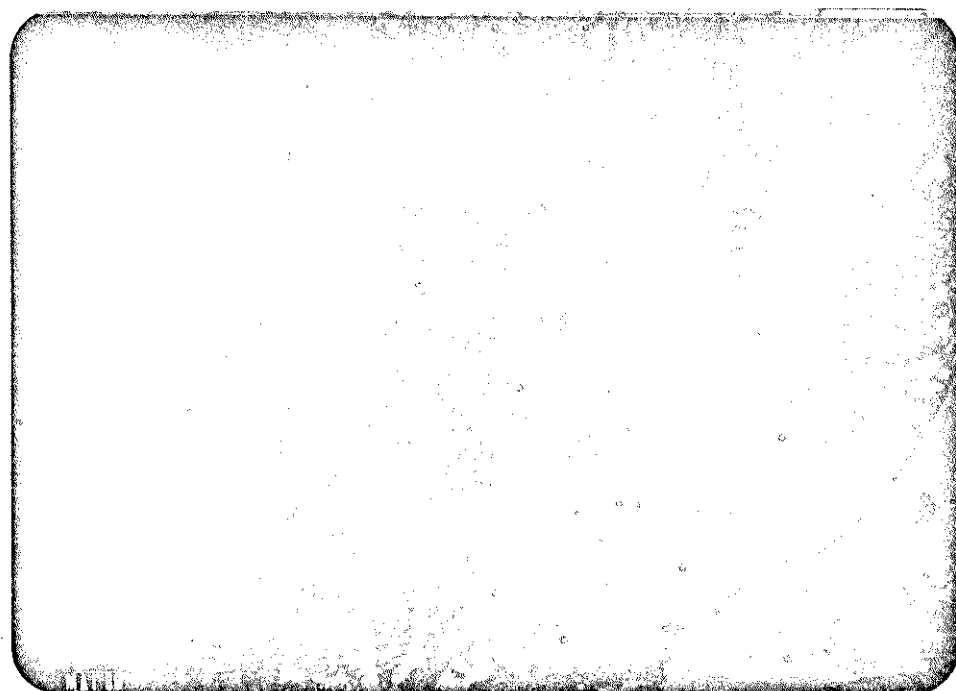


Fig. 13 - Exemplar de *S. mansoni* em bronquio respiratório de camundongo com 8 semanas de infecção (HE 125x).

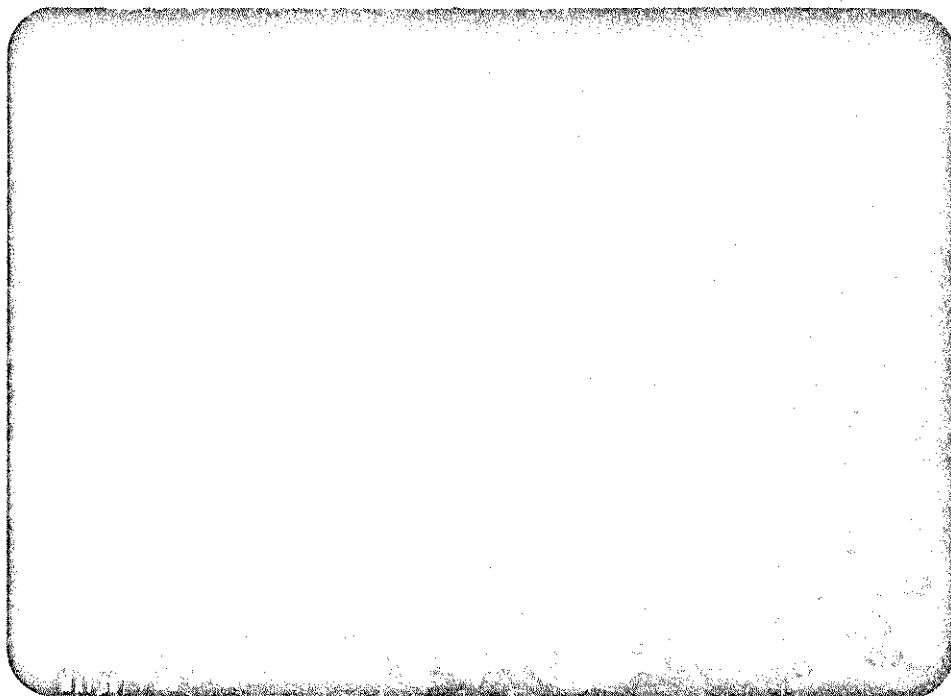


Fig. 14 - Exemplar de *S. mansoni* em região subpelural do parênquima pulmonar em camundongo com 8 semanas de infecção (HE 300x).

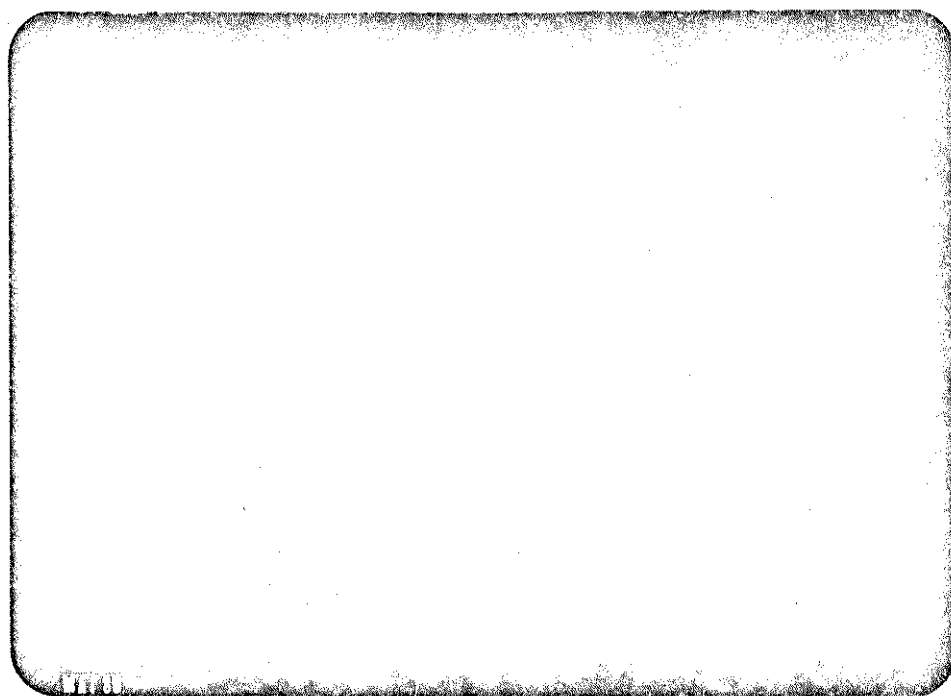


Fig. 15 - Zona de atelectasia pulmonar em camundongo infectado bissexualmente por *S. mansoni* (HE 660x).

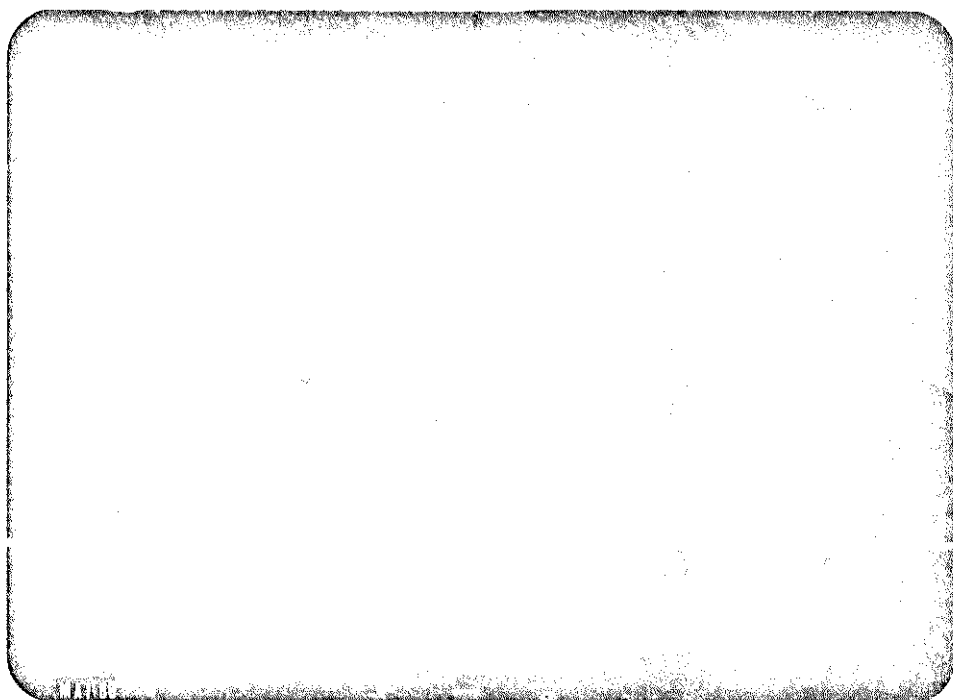


Fig. 16 - Reação granulomatosa no pâncreas de camundongo com 8 semanas de infecção por *S. mansoni* (HE 125x).

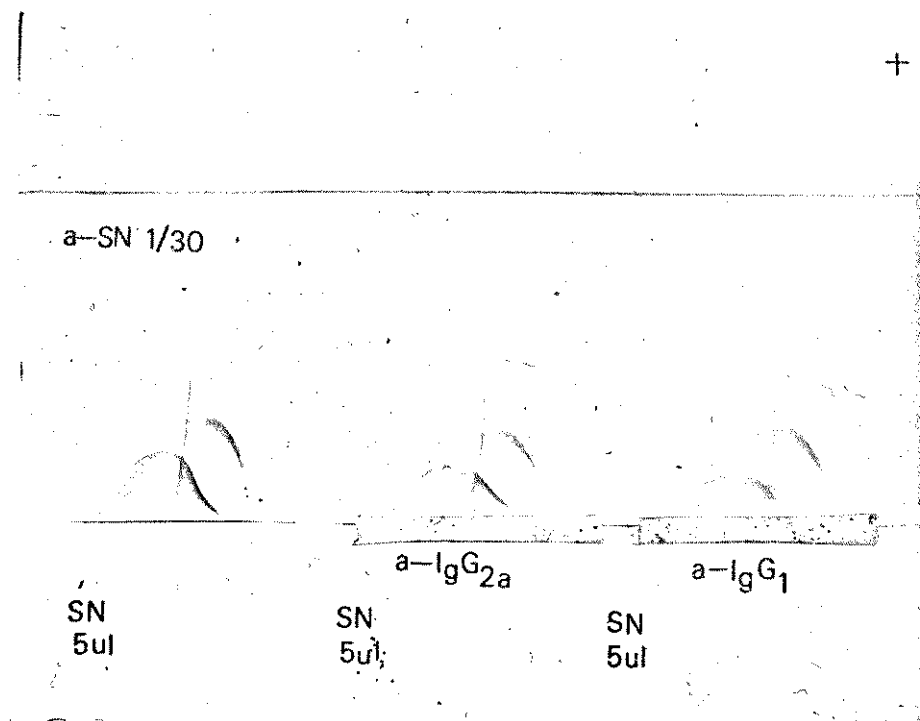


Fig. 17 - Identificação de IgG_{2a} e IgG₁.

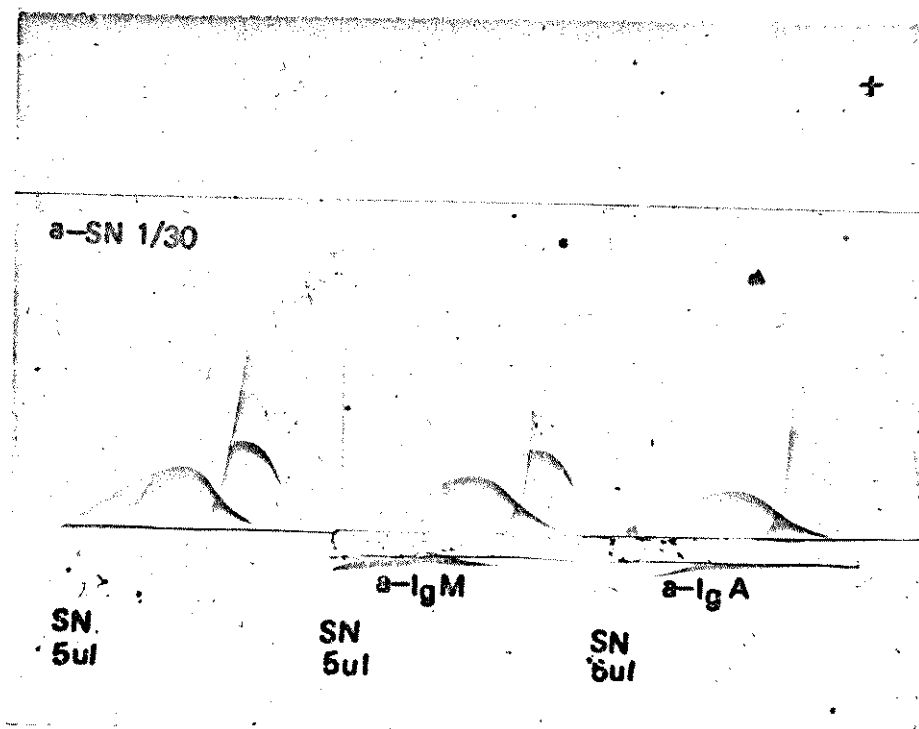


Fig. 18 - Identificação de IgM e IgA.

2ª semana

+

a-SN 1/30

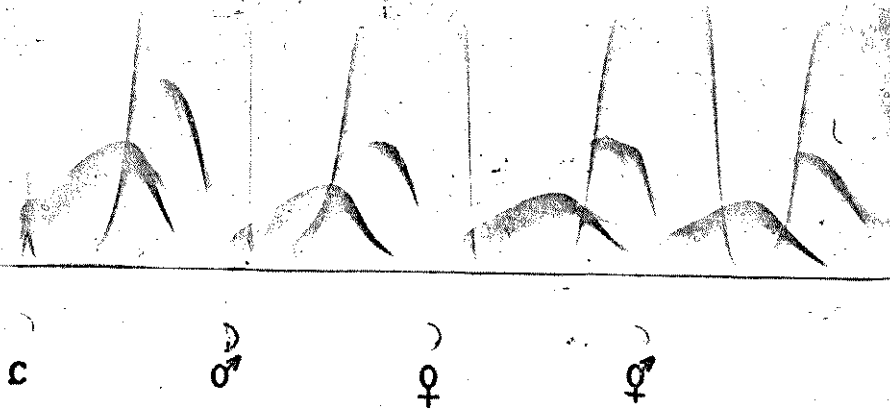


Fig. 19 - Imunoeletroforese cruzada com os soros dos camundongos infectados e do grupo controle, sacrificados na 2a. semana.

4ª semana

a-SN 1/30

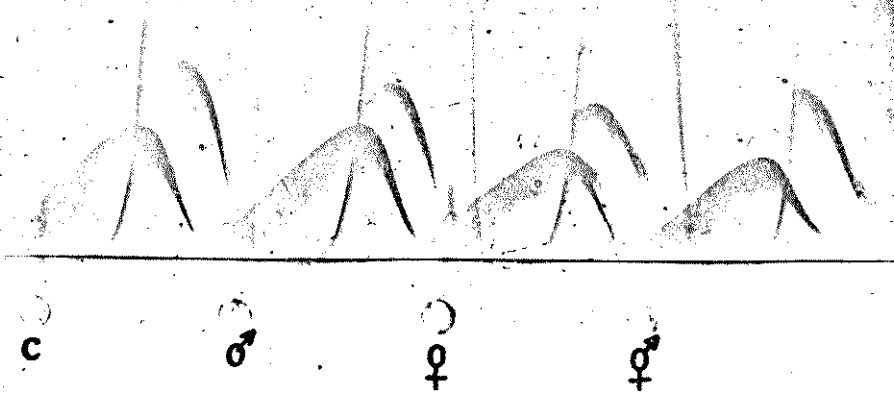


Fig. 20 - Imunoeletroforese cruzada com os soros dos camundongos infectados e do grupo controle, sacrificados na 4a. semana.

6ª semana

+

a-SN 1/30

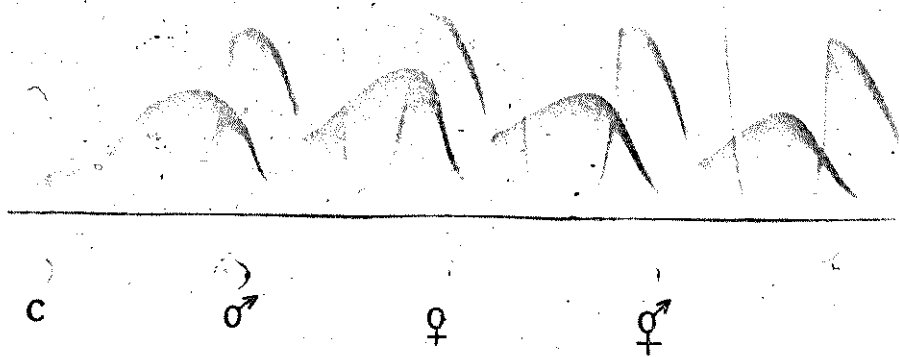


Fig. 21 - Imunoeletroforese cruzada com os soros dos camundongos infectados e do grupo controle, sacrificados na 6a. semana.

8ª semana

+

a-SN 1/30

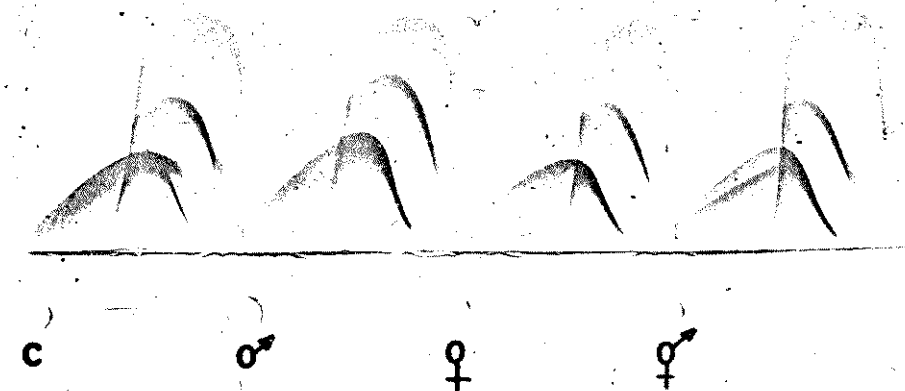


Fig. 22 - Imunoeletroforese cruzada com os soros dos camundongos infectados e do grupo controle, sacrificados na 8a. semana.

a-SN 1/30

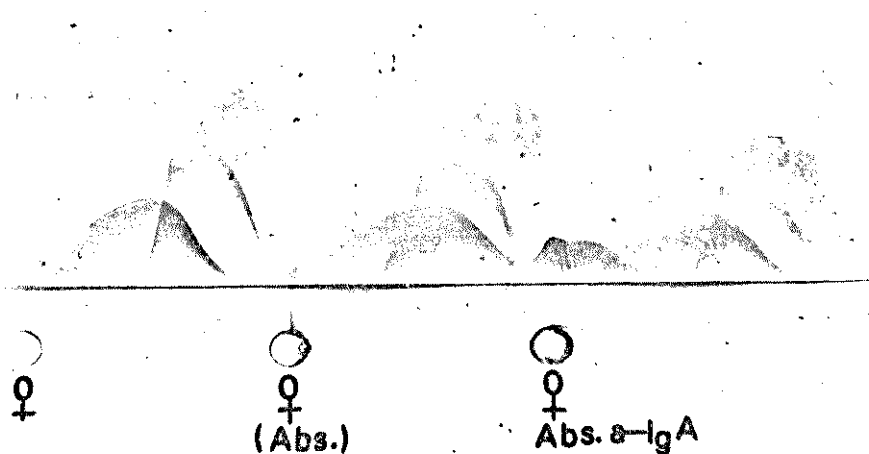


Fig. 23 - Imunoeletroforese cruzada com os soros de camundongos infectados por fêmeas, absorvido com vermes e a-IgA.

a-SN 1/30

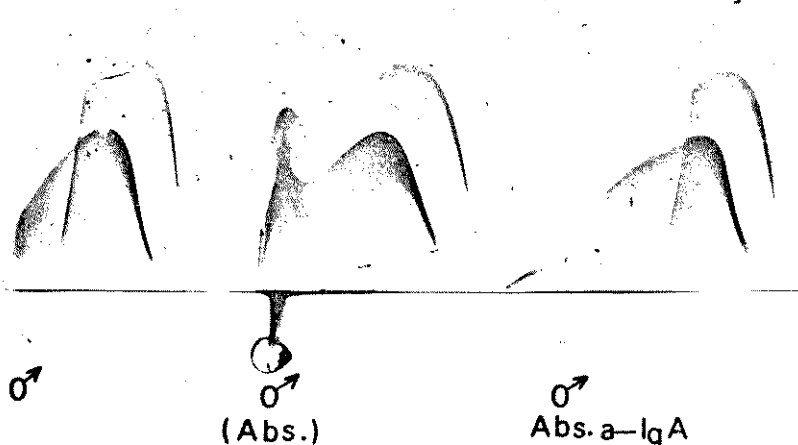


Fig. 24 - Imunoeletroforese cruzada com os soros de camundongos infectados por machos, absorvidos com vermes e a-IgA.

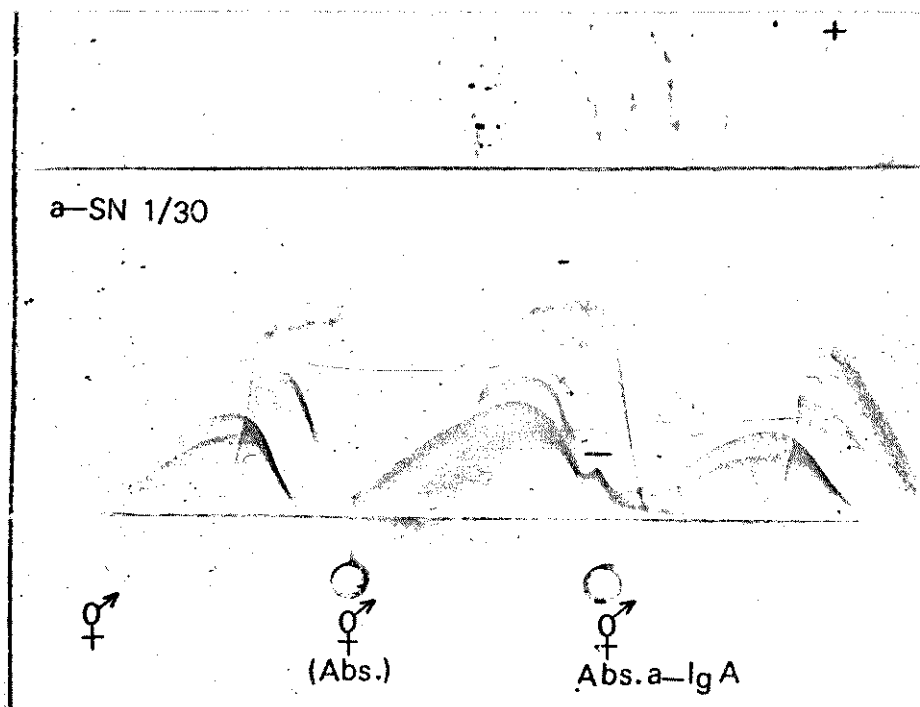


Fig. 25 - Imunoeletroforese cruzada com os soros de camundongos com infecção bissexual, absorvidos com vermes e a-IgA.

IV. Discussão

IV.1. Escolha da linhagem e dos hospedeiros intermediário e definitivo.

O Departamento de Parasitologia da UNICAMP mantém duas linhagens de *S. mansoni*: a linhagem mineira (BH) e a linhagem paulista (SJ).

Na natureza, a linhagem mineira de *S. mansoni* mantém-se em moluscos da espécie *B. glabrata*. A linhagem paulista tem como hospedeiro intermediário *B. tenagophila*.

Estas duas linhagens, caracterizadas pela primeira vez por PARAENSE & CORREA (1963), apresentam aspectos diferentes com relação às taxas de infecção planorbídica. SANTANA e cols. (1978) obtiveram taxa de infecção de 6,6% para a linhagem SJ, quando expuseram *B. tenagophila* a 10 miracídios e taxa de 40% para a linhagem mineira (BH), quando submeteram *B. glabrata* ao mesmo número de miracídios.

Devido à necessidade de expor os moluscos a um único miracídio para a obtenção de infecções unissexuais e tendo em vista as taxas de infecção planorbídica apresentadas pelas duas linhagens, optamos pela utilização da linhagem mineira (BH) para o desenvolvimento da pesquisa. Consequentemente, *B. glabrata* foi o molusco vetor utilizado como hospedeiro intermediário.

Segundo BRENER (1959), um vertebrado de experimentação ideal para a esquistossomose mansônica deve apresentar as seguintes características:

- proporcionar bom desenvolvimento de *S. mansoni*, quanto ao número de vermes, quanto a sua estrutura somática;
- eliminar ovos viáveis através das fezes;
- a distribuição dos vermes e o quadro patológico deverão ser semelhantes aos encontrados no homem;
- finalmente, o manuseio e manutenção do vertebrado devem ser fáceis e pouco onerosos.

Após estudarem a suscetibilidade de vários mamíferos, utilizados rotineiramente em trabalhos sobre esquistossomose mansônica, MOORE e cols. (1949), STIREWALT e cols. (1951) e BRENER (1959) assinalaram que os camundongos são os animais experimentais mais apropriados. Nestes pequenos roedores, utilizados como hospedeiros definitivos, verifica-se o desenvolvimento de vermes sexualmente adultos, e a eliminação, através das fezes, de ovos viáveis do trematódeo.

Além disso, os camundongos esquistossomóticos apresentam quadro patológico semelhante ao observado no homem (STIREWALT e cols., 1951 e BRENER, 1956).

Todos estes fatos foram considerados na escolha do camundongo como hospedeiro definitivo de *S. mansoni*, para o desenvolvimento dos objetivos propostos neste trabalho.

IV.2. Comportamento dos moluscos, em relação às infecções por vários miracídios e por um único miracídio.

A ocorrência de infecções unissexuais deve ser considerada, desde que *S. mansoni* apresenta dimorfismo sexual. Este fato parece ser frequente em regiões onde as pequenas taxas de infecção planorbídica tornam possível infecções por *S. mansoni* de um único sexo.

Sobre a frequência de infecções unissexuais e bissexuais, PARAENSE & SANTOS (1949) assinalaram que a ocorrência de infecções bissexuais, em criadouro natural de moluscos, deve ser diretamente proporcional ao índice de infecção planorbídica desse foco.

PARAENSE & SANTOS (1949) obtiveram índice de 13% de infecções bissexuais em *B. glabrata* capturados em Belo Horizonte. Moluscos da mesma espécie, quando colhidos em Manguinhos (RJ) (PARAENSE, 1949), apresentaram somente infecções unissexuais. Em Porto Rico, MALDONADO &

HERRERA (1949) verificaram que *B. glabrata*, colhidos na natureza, apresentavam 55% de infecções bissexuais; entretanto, PIFANO (1956), na Venezuela, para a mesma espécie de molusco, encontrou 50,2% de infecções por machos, 17,56% de infecções produzidas por fêmeas e 26,48% de infecções bissexuais.

Experimentalmente, STIREWALT (1951), infectando *B. glabrata* com 2 a 20 miracídios, obteve índices de infecção bissexual que variaram de 28% a 76%. O autor verificou, ainda, que as infecções unissexuais predominavam em moluscos infectados com até 5 miracídios e que as infecções bissexuais ocorriam em maior número, quando os planorbídeos eram expostos a 10 e 20 miracídios.

Evidentemente, cercárias desenvolvidas de um único miracídio dão origem, no hospedeiro definitivo, a vermes de um só sexo. Sendo assim, a obtenção de infecções bissexuais, a partir de cercárias eliminadas por um só molusco, está na dependência da penetração de dois ou mais miracídios.

No desenvolvimento desta pesquisa, utilizamos moluscos expostos a um único miracídio para a obtenção de infecções unissexuais, enquanto infecções bissexuais foram obtidas pela utilização de cercárias oriundas de planorbídeos expostos a 10 miracídios.

Em conformidade com os resultados obtidos por STIREWALT (1951) e PIFANO (1956), observamos maior frequência de moluscos que apresentaram infecções por machos.

Entretanto, ROWNTREE & JAMES (1977), estudando as infecções unissexuais por *S. mansoni*, verificaram que maior número de moluscos originam infecções por fêmeas e que moluscos que provocam infecções por machos morrem mais precocemente. Nossas observações, sobre a mortalidade dos planorbídeos, foram semelhantes às aquelas relatadas por ROWNTREE & JAMES.

IV.3. Comportamento dos roedores, com relação a infecções bissexuais e unissexuais.

No binômio hospedeiro-parasita, sabemos que a sobrevivência do hospedeiro está em relação inversa com o grau de nocividade apresentado pelo parasita. Se considerarmos, como MAGALHÃES & CARVALHO (1976), que na esquistossomose o maior ou menor grau de nocividade é consequên

cia do maior ou menor número de granulomas, devemos inferir que as infecções unissexuais, por não apresentarem reações granulomatosas, são menos nocivas que as infecções bissexuais. Como consequência, um índice maior de sobrevivência deve ser verificado nas infecções unissexuais.

Esta hipótese foi confirmada no desenvolvimento desta pesquisa, verificando-se a ocorrência de maior letalidade nas infecções bissexuais.

No grupo de camundongos com infecção unissexual, só ocorreu mortalidade nas infecções por fêmeas, embora com taxa inferior aquela verificada nas infecções bissexuais.

Quando submetidos a infecção bissexual, os roedores apresentaram alterações dos pesos corporal e do fígado somente na 8a. semana, período em que a oviposição é mais intensa. Nos camundongos com infecção unissexual modificações significativas nestes parâmetros não foram verificadas.

Como relatado anteriormente (ZANOTTI e cols., 1979a), o peso do baço de camundongos infectados por machos é maior do que nas infecções por fêmeas, o que se verifica nos dados da 8a. semana de infecção. Entretanto, o peso do baço dos camundongos com infecção bissexual é menor do que o peso do baço dos camundongos com infecção unissexual.

Contrastando em parte com os nossos resultados, BASTOS (1979) e ATTA (1979) evidenciaram hepatoesplenomegalia e diminuição no ganho de peso corporal, com o advento da oviposição que ocorreu na 6a. semana. Segundo KLOETZEL (1969), este fenômeno é independente da quantidade de ovos e granulomas depositados no fígado e sim consequência da ativação do sistema linfo-reticular por antígenos circulantes.

IV.4. Comportamento dos vermes nas infecções bissexuais e unissexuais.

Como é salientado por vários autores, a associação macho-fê^{mea} é extremamente importante para o pleno desenvolvimento somático e sexual dos esquistossomos (SAGAWA e cols., 1928; SEVERINGHAUS, 1928; MALDONADO & HERRERA, 1949; PARAENSE & SANTOS, 1949; PARAENSE, 1949; STANDEN, 1953 e ZANOTTI e cols., 1979b).

As fêmeas, nas infecções unissexuais, apresentam tamanho reduzido com ausência de ovos (ZANOTTI e cols., 1979b), enquanto os machos geralmente apresentam número normal de testículos.

PARAENSE & SANTOS (1949) e PARAENSE (1949) assinalaram a presença de "formações ovulares abortivas" em fêmeas de infecções unissexuais. MOORE e cols. (1954) referem o encontro de fêmeas com cascas de ovos contendo material amorfo, após injeção de propionato de testosterona em camundongos infectados por fêmeas.

Os primeiros exemplares de esquistossomulos no plexo porta, foram por nós observados na 2a. semana, em camundongos infectados unissexualmente por machos e no grupo infectado bissexualmente.

No grupo de animais infectados por fêmeas, os esquistossomulos apareceram no plexo porta somente a partir de 3a. semana.

Diferindo de nossos resultados, BARBOSA e cols. (1978), constataram a presença do trematódeo no plexo porta de camundongos infectados bissexualmente, a partir do 7º dia após a exposição às cercárias.

A colheita de esquistossomulos durante a perfusão apresenta dificuldades de ordem técnica, consequentes em parte a forte aderência dos vermes à parede dos vasos. Além disso, os exemplares de *S. mansoni*, nas primeiras semana após a infecção, estão tão pequenos que é difícil sua visualização na ocasião da necrópsia. Estes fatos, salientados por BARBOSA e cols. (1978), podem explicar nossos resultados.

A presença dos esquistossomos em vários estádios de desenvolvimento foi uma constante em todos os roedores infectados. Este assincronismo no desenvolvimento foi também observado por outros autores (FAUST e cols., 1934; BRENER, 1956; BARBOSA e cols. 1978; BASTOS, 1979 e ATTA, 1979).

Observando-se as figs. 1 e 2, sobre o comportamento migratório dos vermes fêmeos e machos nas infecções unissexuais, verificamos que, embora os esquistossomos predominem no fígado e veia porta, os padrões de deslocamento são diferentes.

Nas infecções por machos, o deslocamento entre fígado, veia porta e vasos mesentéricos é menos intenso, enquanto nas infecções por esquistossomos fêmeos, além do deslocamento ser mais acentuado, evidenciamos um comportamento nitidamente cíclico.

STANDEN (1963) não verificou a presença de fêmeas nos vasos mesentéricos de camundongos com infecção unissexual. Este fato pode ser explicado pelo pequeno tamanho das fêmeas nas infecções unissexuais, passando despercebidas durante a perfusão.

Nas infecções bissexuais (figs. 3, 4 e 5), verificamos que machos e fêmeas apresentam padrão de deslocamento semelhante.

Como foi observado por STANDEN (1953), através de gráfico

elaborado por BRENER (1959), machos e fêmeas deslocam-se para os vasos mesentéricos a partir da 6a. semana, coincidindo com o aparecimento dos primeiros ovos nas fezes e no intestino.

Verificamos, ainda, em camundongo com infecção bissexual, e sacrificado na 8a. semana pós-infecção a presença de vermes nos pulmões. BARBOSA e cols. (1978) relatam a ocorrência de esquistossomos nos pulmões nesse mesmo período de infecção. Nossa observação, entre tanto, refere-se a presença de vermes adultos nos bronquios, ou de localização subpleural.

O comportamento migratório dos esquistossomos, nas infecções uni- e bissexuais, evidencia a influência do sexo no deslocamento de vermes no plexo porta.

A proporção entre esquistossomos machos e fêmeos foi semelhante, tanto para as infecções bissexuais como para as infecções unissexuais.

Diferindo de nossos resultados, MAGALHÃES & CARVALHO (1969) e ROWNTREE & JAMES (1977) observaram maior número de esquistossomos machos em relação aos esquistossomos fêmeos. Sobre este aspecto, nossos resultados foram semelhantes aos observados por PARAENSE & SANTOS (1949) e PARAENSE (1949).

IV.5. Distribuição de ovos de *S. mansoni* no organismo do hospedeiro definitivo.

A ocorrência de ovos de *S. mansoni*, foi por nós verificada, pela primeira vez, na 5a. semana após a exposição às cercárias (tabela XVIII), coincidindo com a época em que existia predominância de vermes já em adiantado estado de maturidade; estes ovos apareceram no fígado, no interior de reações granulomatosas.

Nas fezes e no intestino, os ovos do trematódeo foram observados a partir da 6a. semana pós-infecção, concomitantemente com a migração dos vermes do fígado para os vasos mesentéricos (tabela XIX e fig. 5).

Segundo BRENER (1959), a distribuição dos ovos vai depender da localização dos vermes no plexo porta e de certas condições do equilíbrio parasita-hospedeiro. Este mesmo autor (1956), em estudo detalhado da distribuição de ovos e granulomas nos camundongos, fez observa

ções que coincidem com os nossos resultados. O pesquisador verificou, por exemplo, que os primeiros ovos apareciam no fígado em torno do 34º dia e seu número aumentava gradativamente, a partir dessa data, com conseqüente diminuição de "ovos livres". Verificou, também, que a partir do 50º dia, o número de granulomas se mantém alto, reduzindo-se intensamente o número de "ovos livres", expressando, possivelmente, a migração dos vermes para o mesentério.

Nossos resultados sobre a migração dos vermes e distribuição de ovos evidenciaram a hipótese sugerida por BRENER. Entre as 6a. e 7a. semanas, o deslocamento dos vermes se fez em direção aos vasos mesentéricos, de modo que na 7a. semana observamos predominância de esquistossomos nesses vasos. Paralelamente, o número de ovos no fígado e nas fezes aumentou grandemente.

Diferindo de nossos resultados contidos na tabela XIX, sobre o aparecimento e distribuição de granulomas no intestino, BRENER (1956) observou ovos decorridos 36 dias, embora os granulomas só fossem encontrados decorridos 52 dias, localizados principalmente no intestino delgado.

Observamos pela tabela XIX, que oito semanas após a exposição às cercárias, os granulomas intestinais, apresentaram-se em maior densidade no ceco, colo ascendente, colo transversal e colo descendente. A densidade de granulomas no colo ascendente, determinada por área de corte histológico, foi similar à densidade observada em cortes de fígado na mesma ocasião.

Discordando ainda de nossos resultados, MAGALHÃES e cols. (1979), estudando a distribuição das lesões esquistossomóticas extra-hepáticas, em camundongos infectados pelas linhagens BH e SJ de *S. mansoni*, verificaram que os segmentos que apresentaram maior número de granulomas eram o íleo, jejuno e ceco.

No homem, parece ser a região reto-sigmóide o local do intestino em que se desenvolve maior número de processos granulomatosos (BOGLIOLO, 1970). Coincidindo com o maior número de granulomas nessa região, os vermes, geralmente acasalados, localizam-se principalmente nas veias mesentéricas que emergem do reto.

A influência do sexo no comportamento migratório dos vermes no plexo porta, estudada através das infecções uni- e bissexuais, evidencia que o seu deslocamento visa o acasalamento, que ocorre principalmente no interior dos vasos mesentéricos. Este fenômeno coincide com o início da oviposição.

Reações granulomatosas foram verificadas no pulmão, baço e pâncreas. No primeiro órgão, as lesões granulomatosas apareceram na 6a. semana, observando-se, no parênquima pulmonar atelectasia e neofor_{ma}ção vascular.

No baço, os granulomas foram presenciados somente na 8a. semana, semelhantemente ao observado por ATTA (1979). O quadro, constituído por hiperplasia da polpa branca, necrose e congestão, demonstrado por outros autores (MAGALHÃES e cols., 1979; ATTA, 1979), em camundongos, foi também por nós verificado.

ATTA sugeriu que este aspecto do baço está associado ao estímulo antigênico provocado por ovos de *S. mansoni* e ao bloqueio do fluxo sanguíneo portal no fígado.

Embora não pesquisados rotineiramente, foram verificados granulomas no pâncreas de camundongo sacrificado na 8a. semana. Segundo BOGLIOLO (1959), a localização de ovos no pâncreas em casos humanos é relativamente frequente.

Sobre a necrose e a deposição de material hialino nos granulomas, BOGLIOLO (1979) opina ser decorrência de reações tóxicas entre elementos do hospedeiro definitivo e secreções liberadas pelo ovo de *S. mansoni*. Em 1941, KOPPISCH já havia aventado esta hipótese, mais tarde confirmada por ANDRADE e cols. (1961) e SOGANDARES-BERNAL & BRANDT (1976), através de métodos imunocitoquímicos.

Verificamos, ainda, nos camundongos com infecção bissexual, pequenas áreas de degeneração gordurosa no parênquima hepático. Notando que esta verificação coincide com a presença de áreas de necrose de hepatócitos, parece que tal fenomeno seja decorrente de anoxia, provocada por trombos parasitários, como refere COUTINHO (1954).

Em camundongos com infecção unissexual não observamos a presença de ovos nas fezes, bem como reações granulomatosas.

PARAENSE (1949), examinando o fígado de cobaias infectadas por fêmeas de *S. mansoni*, verificou escassa reação epitelióide, em torno de formações ovulares destituídas de estrutura embrionária. Essas formações não foram observadas no parênquima hepático dos camundongos infectados por fêmeas.

O fígado, nas infecções unissexuais, apresentou, como em estudos anteriores (ZANOTTI e cols., 1979), infiltrados linfocitocitários e áreas de necrose coagulativa. A origem desta necrose tem sido bastante discutida. Para os pesquisadores venezuelanos JAFFÉ e cols. (1945) e MAYER & PIFANO (1942), trata-se de fenomeno alérgico provoca

do por produtos libertados pelos vermes vivos. MELENEY e cols. (1952) e COUTINHO (1954) consideram sua ocorrência associada e infartos ocasionados pela obstrução dos vasos menos calibrosos e temporariamente ocupados pelos parasitas.

Sabe-se que cerca de 80% do sangue que irriga o fígado provêm do plexo porta, sendo que os 20% restantes hevem-se aos vasos do pedículo vesical.

Acreditamos ser provável que estas áreas de necrose sejam produzidas por motivos de ordem mecânica, como de ordem tóxica.

Nas infecções unissexuais por fêmeas, as áreas de necrose são menos frequentes e menos extensas, como um possível reflexo do menor tamanho do verme, que se comportaria como um trombo de menor massa, com relação aos vermes machos.

IV.6. Avaliação do nível de IgA em camundongos infectados.

IgA é a classe de imunoglobulina predominante nas secreções dos organismos. Desse modo, esta proteína está envolvida em certas doenças que acometem as membranas mucosas, tais como as doenças gastrointestinais.

Entretanto, IgA existe normalmente no soro nas formas monoméricas e poliméricas.

Anticorpos IgA, assim como IgG e IgM foram verificados no soro de animais e pacientes humanos portadores de *S. mansoni*. Além disso, a presença de IgA foi verificada em outras doenças parasitárias como toxoplasmose, trichinose e hidatidose (HULDT e cols. 1975; MATOS SIAN e cols., 1972).

Em nosso trabalho verificamos aumento de IgA sérica a partir da 6a. semana, em todos os roedores infectados (tabela XXI). Este aumento persistiu nos animais com infecção por machos sacrificados na 8a. semana; nos roedores com infecção bissexual e unissecual por fêmeas, leve diminuição no teor de IgA pode ser observado. Os níveis de outras classes de imunoglobulinas (IgG₁, IgM e IgG_{2a}) não foram estudados por não ter sido possível sua caracterização, mesmo utilizando diluições do antissoro inferiores a 1/30.

Foi dosado o teor protéico dos soros de camundongos infectados e do grupo controle, sacrificados nas 2a., 4a., 6a., e 8a. semanas,

obtendo-se em média resultados inferiores aos valores médios referidos por outros autores.

Segundo AMBROISE-THOMAS & ANDREWS (1976), os anticorpos aparecem no 10º dia após a infecção de camundongos por *S. mansoni*. Estes mesmos autores verificaram ainda que anticorpos anti-esquistossomos machos estavam presentes em maiores concentrações que anticorpos anti-esquistossomos fêmeos.

É de consenso geral (EVANS & STIREWALT, 1957; SADUN & WALTON, 1958; SMITHERS & WALKER, 1961; BASTOS, 1979 e ATTA, 1979), que as alterações nas frações de proteínas séricas, principalmente na região de beta e gamaglobulinas, são consequentes ao aparecimento dos primeiros ovos e a migração dos vermes para os vasos mesentéricos, o que geralmente ocorre na 6a. semana.

Através dos resultados obtidos sobre a migração dos vermes e início da oviposição nas infecções uni- e bixsexuais, e tendo em vista as alterações na área de precipitação de IgA, observamos que o aumento desta imunoglobulina a partir de 6a. semana não parece estar associada com a deposição de ovos nos tecidos e a migração dos vermes para os vasos mesentéricos.

Para PAGES e cols. (1972) a hiperglobulinemia não está necessariamente associada somente com a formação de granulomas, mas pode também ser influenciada pela intensidade de infecção e o grau de necrose celular relacionada ao esquistossomulo. Segundo estes autores, as alterações nas proteínas séricas são provavelmente, manifestações de uma resposta não específica elaborada pelo hospedeiro contra a infecção pelos esquistossomos.

Em nossos resultados (figs. 23, 24 e 25) observamos modificações na área de precipitação de IgA, quando os soros dos camundongos infectados foram absorvidos com vermes liofilizados.

BASTOS (1979) verificou através de imunofluorescência indireta e de imunoeletroforese cruzada, que as alterações nos níveis de imunoglobulinas eram consequentes da produção de anticorpos específicos para antígenos de *S. mansoni*.

V. Resumo e conclusões

O presente trabalho teve por objetivo estudar a influência do deslocamento dos esquistossomos no plexo porta sobre a distribuição de ovos. Estudamos ainda o nível de IgA sérico em camundongos com infecções uni- e bissexuais.

Quatro grupos de camundongos albinos foram contituídos:

- 1) Animais infectados por fêmeas de *S. mansoni*;
- 2) Animais infectados por machos de *S. mansoni*;
- 3) Animais infectados bissexualmente por *S. mansoni*.
- 4) Animais não expostos à infecção por *S. mansoni*.

Os camundongos foram infectados com 100 cercárias oriundas de *B. glabrata* expostos a um único miracídio para obtenção de infecções unissexuais e a 10 miracídios da linhagem mineira (BH) de *S. mansoni*, para obtenção de infecções bissexuais.

Subgrupos de camundongos foram sacrificados a intervalos semanais, no período de 8 semanas, verificando-se a localização dos esquistossomos no plexo porta (fígado, veia porta e vasos mesentéricos) e a distribuição de ovos do trematódeo no fígado, intestino, baço, pulmão e fezes.

O nível de IgA foi verificado pela técnica de imunoeletroforese cruzada.

Em nosso trabalho verificamos:

- Foi maior o número de moluscos que apresentou infecção por larvas que deram origem a esquistossomos machos.

- A mortalidade de camundongos com infecção bissexual foi maior do que a observada nos grupos de camundongos com infecções unissexuais.
- O peso do fígado, por ocasião do sacrifício dos camundongos com infecção bissexual, foi significativamente maior do que o peso do fígado dos animais do grupo controle. Nos animais com infecções unissexuais, não tão significativamente foi o aumento do peso do fígado.
- Nos camundongos com infecções uni- e bissexuais, verificamos assincronismo no desenvolvimento dos esquistossomos.
- Nas infecções uni- e bissexual o número de vermes machos e fêmeas foi aproximadamente igual.
- Nas infecções unissexuais, o deslocamento dos esquistossomos se processa principalmente entre o vasos portais intrahepáticos e veia porta, sendo raro o encontro de vermes nos vasos mesentéricos. Observamos que este deslocamento é cíclico, sendo que as deflexões apresentaram maior frequência nas infecções por fêmeas.
- No decorrer do experimento, nos camundongos com infecção bissexual não observamos migração dos esquistossomos com caráter cíclico. Os vermes migraram dos vasos intrahepáticos para os vasos mesentéricos, utilizando a veia porta apenas como ponte de passagem. Como observamos o mesmo comportamento entre machos e fêmeas, deduz-se que esta migração foi feita com os vermes acasalados.
- Houve coincidência, na migração de esquistossomos para os vasos mesentéricos e no aparecimento de ovos na parede intestinal e nas fezes dos camundongos.
- Ceco, colo ascendente e colo transversal foram os segmentos intestinais que apresentaram maior número de granulomas por área, na 8a. semana.
- a alteração do nível de IgA sérico e a migração dos vermes e distribuição de ovos nos camundongos com infecções uni- e bissexual, permite inferir que o aumento desta imunoglobulina na 6a. semana não está associada com o fenômeno do deslocamento e o início do aparecimento dos ovos.

VI. Referencias bibliográficas

- AMBROISE-THOMAS, P. & ANDREWS, P. - Development of fluorescent antibodies directed against larval stages, eggs, and adults of *Schistosoma mansoni* in mice harbouring unisexual or bisexual infections. *Tropenmed. Parasit.*, 27:483, 1976.
- ANDRADE, Z.A.; PARONETTO, F. & POPPER, H. - Immunocytochemical studies in schistosomiasis. *Am. J. Path.*, 39:589, 1961.
- ANTUNES, L.J.; REIS, A.P.; PELLEGRINO, J.; TAVARES, C.A. & KATZ, N. - Immunoglobulins in human schistosomiasis mansoni. *J. Parasit.*, 57:539, 1971.
- ATTA, A.M. - Estudo sobre a evolução da infecção de camundongos por *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. Tese, UNICAMP, 1979.
- AXELSEN, N.H.; KRØLL, J. & WEEKE, B. - A manual of quantitative immunoelectrophoresis. Method and applications. Universitetsforlaget, Oslo, 1973.
- BARBOSA, A.M.; PELLEGRINO, J.; COELHO, P.M.Z. & SAMPAIO, I.B.M. - Quantitative aspects of the migration and evolutive asynchronism of *Schistosoma mansoni* in mice. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 20:121, 1978.
- BASTOS, O.C. - Utilização de soros pluriespecíficos no estudo das imunoglobulinas envolvidas na resposta imune de camundongos ao *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. Tese, UNICAMP, 1979.

- BOGLIOLO, L. - Patologia. *Rev. Bras. Malar. Doenç. Trop.*, 11(2/3):359, 1959.
- BOGLIOLO, L. in CUNHA, A.S. - Esquistossomose mansoní. EDUSP, S.Paulo, 1970.
- BRENER, Z. - Observações sobre a infecção do camundongo pelo *Schistosoma mansoní*. *Rev. Bras. Malar. Doenç. Trop.*, 8:565, 1956.
- BRENER, Z. - Esquistossomose experimental. *Rev. Bras. Malar. Doenç. Trop.*, 11:473, 1959.
- COUTINHO, E.M. - Estudo histológico das lesões hepáticas e pulmonares verificadas antes da oviposição e nas infestações por um só sexo. *Publ. Avul. Inst. Aggeu Magalhães*, 3(8):93, 1954.
- DEWITT, W.B. & WARREN, K.S. - Hepatosplenic schistosomiasis in mice. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 8:440, 1959.
- EVANS, A.S. & STIREWALT, M.A. - Serologic reactions in *Schistosoma mansoní* infection. III. Ionographic fractionation of sera of mice with progressive disease. *Exp. Parasit.*, 6:8, 1957.
- FAUST, E.C.; JONES, C.A. & HOFFMAN, W.A. - Studies on schistomiasis mansoní in Puerto Rico. III. Biological studies. 2. The mammalian phase of the life cycle. *P.R.J. Public Health Trop. Med.*, 10:133, 1934.
- GIOVANNOLA, A, A. - Unisexual infection with *Schistosoma mansoní*. *J. Parasit.*, 22:259, 1936.
- HILLYER, G.V. & FRICK, L.P. - Immunoprecipitins in *Schistosoma mansoní* infections. I. Mouse infections. *Exp. Parasit.*, 20(3): 321, 1967.
- HILLYER, G.V. - Immunoprecipitins in *Schistosoma mansoní* infections. IV. Human infections. *Exp. Parasit.*, 25:376, 1969.
- HULDT, G.; LJUNGSTROM, L. & AUST-KETTIS, A. - Detection by immunofluorescence of antibodies to parasite agents. Use of class specific conjugates. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 254:304, 1975.
- JAFFÉ, R.; MAYER, M. & PIFANO C., F. - Estudios biológicos y anatomopatológicos en animales infectados con um solo sexo de *Schistosoma mansoní*. *Rev. Sanid. Asist. Soc.*, 10(1):95, 1945.
- KANAMURA, H.Y.; HOSHINO-SHIMIZU, S. & SILVA, L.C. - Pattern of class-specific fluorescent antibodies according to the stage of

- the infection in human schistosomiasis mansoní. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 20:76, 1978.
- KOMYIA, Y. & KOBAYASHI, A. - Evaluation of Kato's thick smear technic with a cellophane cover for helminth eggs in feces. *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, 19:59, 1966.
- KLDETZEL, K. - Tissue reactions to *Schistosoma mansoní* eggs: I. Serological and histological reactions at various intervals after infection. *Trans. R. S. Trop. Med. Hyg.*, 63(4):459, 1969.
- KOPPISCH, E. - Studies on schistosomiasis in Puerto Rico. VI. Morbid anatomy of the disease as found in Puerto Ricans. *P.R.J. Public Health Trop. Med.*, 16:395, 1941.
- LEIPER, R.T. - Report on results of the Bilharzia Mission in Egypt, Part I: Transmission. *J. R. A. Med. Corps.*, 25:1, 1915a.
- LEIPER, R.T. - Report on the results of the Bilharzia Mission in Egypt, Part II: Prevention and eradication. *J. R. A. Med. Corps.*, 25:147, 1915b.
- LEIPER, R. T. - Report on the results of the Bilharzia Mission in Egypt, Part III: Development. *J. R. A. Med. Corps.*, 25:253, 1915c.
- LEIPER, R.T. - Report on the results of the Bilharzia Mission in Egypt, Part IV: Egyptian mollusca. *J. R. A. Med. Corps.*, 27:171, 1916.
- LEIPER, R. T. - Report on the results of the Bilharzia Mission in Egypt, Part V: Adults and ova. *J.R.A. Med. Corps.*, 30:235, 1918.
- LUTZ, A. - Caramujos de água doce do gênero *Planorbis*, observados no Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 10:65, 1918.
- LUTZ, A. - O *Schistosoma mansoní* e a schistosomose segundo observações, feitas no Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 11:121, 1919.
- MAGALHÃES, L.A. - Técnica para a avaliação da viabilidade de penetração de cercárias de *Schistosoma mansoní* em *Mus musculus*. *O Hospital*, 75(5):137, 1969.
- MAGALHÃES, L.A. & CARVALHO, J.F. - Verificação do número de machos e fêmeas de *Schistosoma mansoní* capturados em camundongos infectados por duas cepas do helminto. *Rev. Soc. Bras. Trop.*, 3(5):253, 1969.

- MAGALHÃES, L.A. & CARVALHO, J.F. - Sobre o comportamento de duas linhagens de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. Proposição para método de estudo quantitativo. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 10:169, 1976.
- MAGALHÃES, L.A.; ALCÂNTARA, F.G. & CARVALHO, J.F. - Distribuição de lesões esquistossomóticas extra-hepáticas em camundongos infectados pelas linhagens BH e SJ do *Schistosoma mansoni*. *Rev. Saúde Publ. S. Paulo*, 13:326, 1979.
- MALDONADO, J.F. & HERRERA, F.V. - *Schistosoma mansoni* infection resulting from exposure to cercariae proceeding from a single naturally infected snail. *P.R.J. Public Health Trop. Med.*, 25(2):231, 1949.
- MATOSSIAN, R.M.; KANE, G.J.; CHANTLER, S.M.; BATTY, I. & SARHADIAN, H. - The specific immunoglobulin in hydatid disease. *Immunology*, 22:423, 1972.
- MAYER, M. & PIFANO C., F. - Estudios biológicos y patológicos en animales infectados con *Schistosoma mansoni* (Infecciones bi- y unisexuales). *Rev. Sanid. Asist. Soc.*, 7(3):419, 1942.
- MELENEY, H.E.; MOORE, P.V.; MOST, H. & CARNEY, B.H. - The histopathology of experimental schistosomiasis. I. The hepatic lesions in mice infected with *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma japonicum*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1(2):263, 1952.
- MOORE, P.V.; YOLLES, T.K. and MELENEY, H.E. - A comparison of common laboratory animals as experimental hosts for *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit.*, 35:156, 1949.
- MOORE, P.V.; YOLLES, T.K. & MELENEY, H.E. - The relationship of male worms to the sexual development of female *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit.*, 40:166, 1954.
- OUCHTERLONY, O. - Diffusion-in-gel methods for immunological analysis. *Progr. Allergy*. 5:1, 1958.
- PAGE, C.R.; ETGES, F.G. & OGLE, J.D. - Experimental prepatent schistosomiasis mansoni quantitative analyses of proteins, enzyme activity and free amino acids in mouse serum. *Exp. Parasit.*, 31:341, 1972.

- PARAENSE, W.L. & SANTOS, J.M. - O sexo do *Schistosoma mansoní* nas infestações produzidas por cercárias de um único molusco. *Mem. Instituto Oswaldo Cruz*, 47(1/2):35, 1949.
- PARAENSE, W.L. - Observações adicionais sobre o sexo do *Schistosoma mansoní* nas infestações por cercárias de um único molusco. *Mem. Instituto Oswaldo Cruz*, 47(3/4):535, 1949.
- PARAENSE, W.L. - Histórico. *Rev. Bras. Malar. Doenç. Trop.*, 11(2/3):105, 1949.
- PARAENSE, W.L. & CORREA, L.R. - Sobre a ocorrência de duas raças biológicas do *Schistosoma mansoní* no Brasil. 15ª Reunião da SBPC, Campinas, 1963.
- PELLEGRINO, J. & MACEDO, D.G. - A simplified method for the concentration of cercárias. *J. Parasit.*, 41:329, 1955.
- PELLEGRINO, J. & BRENER, Z. - Method for isolating schistosome granulomas from mouse liver. *J. Parasit.*, 42(6):564, 1956.
- PIFANO C., F. - Biología del *Schistosoma mansoní*. Schistosomiasis experimental. G.E.N. II. Jornadas sobre schistosomiasis mansoní, 10, Caracas. 1956.
- PIRAJÁ DA SILVA - Contribuição para o estudo da schistosomíase na Bahia. *Brazil-Médico*, 22:281, 1908a.
- PIRAJÁ DA SILVA - Contribuição para o estudo da schistosomíase na Bahia. Dezesesseis observações. *Brazil-Médico*, 22:441, 1908b.
- PIRAJÁ DA SILVA - Contribuição para o estudo da schistosomíase na Bahia. Vinte observações. *Brazil-Médico*, 22:451, 1908c.
- PIRAJÁ DA SILVA - La schistosomíase à Bahia. *Arch. Parasit.*, 13:283, 1908d.
- PIRAJÁ DA SILVA - Contribution to the study of schistosomiasis in Bahia, Brazil. *J. Trop. Med. Hyg.*, 12:159, 1909.
- PIRAJÁ DA SILVA - Cercaire brésilienne (*Cercaria Blanchardi*) à queue bifurquée. *Arch. Parasit.*, 15:398, 1912a.
- PIRAJÁ DA SILVA - Über einige Helminthen aus Bahia. *Arch. Schiffs Tropen-Hyg.*, 16:485, 1912b.
- RAGHUNATHAN, L. & BRUCKNER, D. - Identification of sex in *Schistosoma mansoní* cercariae. *J. Parasit.*, 61(1):66, 1975.

- ROWNTREE, S. JAMES, C. - Single sex cercariae of *Schistosoma mansoni*, a comparison of male and female infectivity. *J. Helmit.*, 51:69, 1977.
- RUIZ, J.M. & COELHO, E. - Schistosomose experimental. 2. Hermafroditismo do *Schistosoma mansoni* verificado em cobaia. *Mem. Instituto Butantan*, 24(2):115, 1952.
- SADUN, E.H. & WALTON, B.C. - Studies on the host parasite relationships to *Schistosoma mansoni*. II. Quantitative changes in the concentration of serum proteins in humans and rabbits. *Am. J. Hyg.*, 7:500, 1958.
- SAGAWA, E.; OGI, K. & SUMIKOSHI, Y. - Study concerning the influence of sex on the growth of animal bodies. 1st. report: experiment on *Schistosoma japonicum*. *Trans. Jap. Path. Soc.*, 16:494, 1928.
- SAMBON, L.W. - Descriptions of some new species of animal parasites. *Proc. Zool. Soc. London*, :282, 1907.
- SANTANA, J.V.; MAGALHÃES, L.A. & RANGEL, H.A. - Seleção de linhagens de *Biomphalaria glabrata* visando maior suscetibilidade ao *Schistosoma mansoni*. *Rev. Saúde Públ. S. Paulo*, 12:67, 1978.
- SEVERINCHAU, A.E. - Sex studies on *Schistosoma japonicum*. *Quart. J. Micro. Sci.*, 71(284):653, 1928.
- SHAW, J.R. - *Schistosoma mansoni*: pairing in vitro and development of females from single sex infections. *Exp. Parasit.*, 41:54, 1977.
- SHER, A.; SMITHERS, S.R. & MACKENZIE, P. - Passive transfer of acquired resistance to *Schistosoma mansoni* on laboratory mice. *Parasitology*, 70:347, 1975.
- SHER, A.; SMITHERS, S.R.; MACKENZIE, P. & BROOMFIELD, K. - *Schistosoma mansoni*: immunoglobulins involved in passive immunization of laboratory mice. *Exp. Parasit.*, 41:160, 1977.
- SHIMIZU, S.H. - Esquistossomose mansônica: anticorpos e antígenos parasitários no sangue e no rim, e alterações renais em camundongos experimentalmente infectados. Tese, USP, 1977.
- SHORT, R.B. - Hermaphrodites in a Puerto Rican strain of *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit.*, 34(30):240, 1948.

- SMITHERS, S.R. & WALKER, P.J. - Serum protein changes in monkey infected with *Schistosoma mansoni*, with special reference to the metabolism of albumin. *Exp. Parasit.*, 11:39, 1961.
- SOGANDARES-BERNAL, F. & BRANDT, S. - Antibodies sequestered in liver granulomata of 8-week infections of CF₁ mice by *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. *Z. Parasitenk.*, 50:331, 1976.
- STANDEN, O.D. - The effect of temperature, light and salinity upon the hatching of the ova of *S. mansoni*. *Trans. R.S. Trop. Med. Hyg.*, 45:225, 1951.
- STANDEN, O.D. - The relationship of sex in *Schistosoma mansoni* to migration within the hepatic portal system of experimentally infected mice. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 47(2):139, 1953.
- STIREWALT, M.A. - The frequency of bisexual infection of *Schistosoma mansoni* in snails of the species *Australorbis glabratus* (Say). *J. Parasit.*, 37:42, 1951.
- STIREWALT, M.A.; KUNTZ, R.E. & EVANS, A.S. - The relative susceptibilities of the commonly used laboratory mammals to infection by *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Trop. Med. Parasit.*, 31:57, 1951.
- VOGEL, H. - Hermaphrodites of *Schistosoma mansoni*. *Ann. Trop. Med.*, 41(2):226, 1947.
- WARREN, K.S.; DOMINGO, E.O. & COWAN, R.B.T. - Granuloma formation around schistosome eggs as a manifestation of delayed hypersensitivity. *Am. J. Path.*, 51(5):735, 1967.
- WEICHSELBAUM, T.E. - An accurate and rapid method for the determination of protein in small amount of blood serum and plasma. *Am. J. Clin. Path. Tech.*, 10:40, 1946.
- VOLLES, T.K.; MOORE, P.V.; DEGINSTI, D.L.; RIPSON, C.A. & MELENEY, H. E. - A technique for the perfusion of laboratory animals for the recovery of schistosomes. *J. Parasit.*, 33:419, 1947.
- ZANOTTI, E.M.; MAGALHÃES, L.A. & PAREJA, G.P. - Aspectos do desenvolvimento do *Schistosoma mansoni* em camundongos infectados unissexualmente. IV Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, Campinas, 1979.
- ZANOTTI, E.M.; MAGALHÃES, L.A. & PAREJA, G.P. - Aspectos da patogenia da esquistossomose mansoni em camundongos infectados unissexualmente.

sexualmente. IV Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, Campinas, 1979.

