

FABÍOLA ISABELA PEGORARO

“Influência da idade da infecção de *Strongyloides venezuelensis* Brumpt, 1934 (Nematoda : Rhabditida) em ratos e de fatores ambientais externos no desenvolvimento das formas de vida livre ”

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo (a) candidato (a) Fabíola Isabela Pegoraro e aprovada pela Comissão Julgadora.

17/09/99

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia para obtenção do Título de
MESTRE EM PARASITOLOGIA

Orientadora : Prof^a Dr^a Marlene Tiduko Ueta

1999

UNIDADE BC
 N.º CHAMADA: 1001-1000
1001-1000
 V. 1001 Ex. 1000
 TOMBO BC/ 39644
 PROC. 229/99
 C ☐ D ☒
 PREÇO R\$ 11,00
 DATA 07-12-99
 V.º CPD 1001

CM-00137476-1

FICHA CATALOGRÁFICA ELBORADA PELA
 BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

Pegoraro, Fabíola Isabela

P349e Influência da idade da infecção de *Strongyloides venezuelensis* Brumpt, 1934 (Nematoda: Rhabditida) em ratos e de fatores ambientais externos no desenvolvimento das formas de vida livre/Fabíola Isabela Pegoraro. – Campinas, SP.[s.n.], 1999.
 78f: illus.

Orientadora: Marlene Tikudo Ueta

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.
 Instituto de Biologia.

1. Ratos. 2. Nematoda. 3. Medição. I. Ueta, Marlene Tikudo.
 II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III.
 Título.

DATA DA DEFESA : 17 de setembro de 1.999

BANCA EXAMINADORA :

Titulares :

Profa. Dra. Marlene Tiduko Ueta (orientadora) Marlene Tiduko Ueta

Prof. Dr. Luiz Augusto Magalhães Luiz Augusto Magalhães

Dra. Silmara Marques Alegretti Silmara Marques Alegretti

Suplente :

Profa. Dra. Eliana Maria Zanotti - Magalhães _____

Aos meus pais ANÉSIO e LAURA,
Que eu jamais me esqueça de agradecê-los por tudo...
Sempre...

AGRADECIMENTOS

Algumas pessoas merecem uma página especial na história da minha vida. Entre elas:

A minha orientadora Profa. Dra. Marlene Tiduko Ueta, pelo incentivo e apoio tanto na vida científica como na amizade que solidificamos. Espero ter correspondido ao investimento !

Ao Prof. Dr. Arício Xavier Linhares pela colaboração na análise estatística e ao Prof. Dr. Nelson da Silva Cordeiro pelas sugestões e auxílio quanto aos desenhos e uso de equipamentos usados para a morfometria das larvas e adultos.

Ao Prof. Dr. Luiz Augusto Magalhães, Prof. Dr. Odair Benedito Ribeiro e Dra. Silmara Marques Alegretti, pela leitura criteriosa e sugestões feitas para este trabalho.

Ao Sr. João Batista Alves de Oliveira, pelo valioso apoio técnico nos experimentos e da mesma forma ao Sr. Geraldo do Nascimento pelo cuidado com os animais. Literalmente, meus “anjos – da – guarda “ !

Ao Rubens e a Angélica, amigos fiéis, quase irmãos mais velhos : muitas saudades das horas de bolachinhas, balinhas e chocolatinhos na sala da Marlene.

À Rosana Aparecida Trevisan e Luciene Balúra Pereira: amigas de “sol, chuvas e trovoadas”. Obrigada por tudo ! Tudo mesmo !

Aos professores, alunos do curso e funcionários do Departamento de Parasitologia pelos bons momentos vividos nas aulas e nos corredores. (“Que delícia de bolo!!”).

ÍNDICE

	Pág.
1. Introdução e Revisão Bibliográfica	01
2. Objetivos	13
3. Material e Métodos	14
4. Resultados	20
5. Discussão	34
6. Conclusões	41
7. Resumo	42
8. Abstract	44
9. Referências Bibliográficas	46
10. Anexos	54

ÍNDICE DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1	Medidas médias, em μm , das fêmeas parasitas de <i>Strongyloides venezuelensis</i> em diferentes dias de infecção 28
Tabela 2	Relação entre número de ovos no útero e comprimento total das fêmeas parasitas de <i>Strongyloides venezuelensis</i> 29
Tabela 3	Medidas médias, em μm , das larvas filarióides de <i>Strongyloides venezuelensis</i> em diferentes dias de infecção 30
Tabela 4	Número médio de fêmeas de vida livre de <i>Strongyloides venezuelensis</i> em culturas de diferentes proporções de carvão animal granulado 31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Medidas da fêmea parasita de <i>Strongyloides venezuelensis</i> 18
Figura 2	Medidas da larva filarióide de <i>Strongyloides venezuelensis</i> 19
Figura 3	Número médio de larvas filarióides de <i>Strongyloides venezuelensis</i> em culturas de carvão animal granulado 32
Figura 4	Número médio de fêmeas de vida livre de <i>Strongyloides venezuelensis</i> das culturas em carvão animal granulado 33

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1	54
Infecções em ratos Wistar machos de 30 dias de idade infectados com 3500 larvas filarióides de <i>Strongyloides venezuelensis</i> – RW30	
Anexo 2	58
Infecções em ratos Wistar machos de 60 dias de idade infectados com 3500 larvas filarióides de <i>Strongyloides venezuelensis</i> – RW60	
Anexo 3	64
Infecções em ratos Wistar machos de 30 dias de idade infectados com 500 larvas filarióides de <i>Strongyloides venezuelensis</i> – RW500	
Anexo 4	68
Infecções em ratos Wistar fêmeas de 30 dias de idade infectados com 3500 larvas filarióides de <i>Strongyloides venezuelensis</i> – FW30	

“Influência da idade da infecção de Strongyloides venezuelensis Brumpt, 1934 em ratos e de fatores ambientais externos no desenvolvimento das formas de vida livre”

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Muito se discute sobre os fatores que determinam a frequência do aparecimento de adultos de vida livre em parasitas do gênero *Strongyloides*.

A direção do ciclo, se direto ou indireto, pode ser determinada por fatores ambientais externos, pela linhagem do parasita, idade e intensidade da infecção, idade e sexo do hospedeiro.

O gênero *Strongyloides* foi definido em 1879 por Grassi, após descoberta do parasita feita por Louis Normand em 1876, quando examinava soldados regressos da Cochinchina (atual Vietnã) que apresentavam quadro clínico com diarreia.

Atualmente são descritas 52 espécies (GROVE, 1996), parasitando diferentes grupos de vertebrados. Entre as encontradas em seres humanos e roedores podem ser citados :

- *S. stercoralis* (BAVAY, 1876) STILES & HASSAL, 1902 e *S. fuelleborni* von LISTOW, 1905, por serem de interesse humano como agentes etiológicos da estrongiloidose.
- *S. ratti* SANDGROUND, 1925 e *S. venezuelensis* BRUMPT, 1934 em ratos.
- *S. myopotami* ARTIGAS & PACHECO, 1933 em ratão do banhado (*Myocaster coypus*).

ASPECTOS MORFOLÓGICOS DO GÊNERO

Strongyloides apresenta dimorfismo sexual nas gerações de vida livre e na geração parasita, são encontradas somente fêmeas adultas.

Os ovos das fêmeas parasita e de vida livre são idênticos, com formato elipsóide, medindo aproximadamente 40 x 70 µm. Sofrem várias divisões e são eliminados totalmente embrionados na fêmea de vida livre, e os da fêmea parasita, em algumas espécies, são incubados no interior das criptas de Lieberkühn da mucosa duodenal e porção inicial do jejuno. Nas espécies onde o ovo é o elemento parasitário expulso nas fezes, este eclode no exterior, condicionando o surgimento das larvas infectantes a um tempo mínimo, dependendo das condições do meio ou da cultura.

Após a eclosão das larvas apresentam vários estágios de desenvolvimento, sendo encontradas nas fezes ou no ambiente externo medindo cerca de 210 a 300 µm. As larvas de 1º e 2º estágios possuem vestíbulo bucal em formato de xícara, o primórdio genital é nítido e o intestino acompanha toda a extensão do corpo. O esôfago é rabditóide, ocupando a terça parte do corpo.

As larvas filarióides ou infectantes (L 3) são capazes de penetrar na pele e serem levadas a parasitar outros tecidos. Estas são longas e finas, com aproximadamente 500 a 700 µm de comprimento. Apresentam cutícula estriada e um entalhe característico na cauda. Neste estágio não se alimentam, utilizando apenas as reservas energéticas do seu organismo adquiridas durante a fase rabditóide. O esôfago é cilíndrico e reto (filarióide) sem bulbo posterior e é sucedido de um longo e estreito tubo digestivo que ocupa metade do seu tamanho.

NOJIMA *et al.* (1987) verificaram que o comprimento do esôfago das larvas filarióides aumenta durante o trajeto migratório no hospedeiro.

Já as larvas de 2º, 3º e 4º estágios das formas de vida livre, passam por processos de crescimento e na 4ª muda se diferenciam em machos e fêmeas. Estas quatro mudas ocorrem no decorrer dos ciclos de vida livre e parasita.

As L4 e L5 das formas parasitas, como observado experimentalmente em ratos infectados com *Strongyloides venezuelensis*, diferem dos adultos principalmente no tamanho do corpo e na imaturidade das gônadas (CASTANHO, 1983). As L4 e L5 se desenvolvem no interior do hospedeiro, sendo que as L5 já são

adultos jovens, não sofrendo mais mudas até o desenvolvimento completo na mucosa intestinal.

A fêmea de vida livre apresenta esôfago rabditóide, com 1,5 mm de comprimento e tem similaridade com a fêmea parasita quanto ao sistema reprodutor, excetuando o número de ovos no interior do útero, que são em maior número.

O macho de vida livre é menor que as fêmeas e tem 0,7 mm de comprimento, com cauda recurvada. O esôfago é rabditóide prolongando - se com o intestino, que percorre todo o corpo. O sistema reprodutor apresenta um par de espículos copulatórios, sustentados pelo gubernáculo. Na região da cauda existem 6 pares de papilas e uma única papila pré - cloacal. São encontrados exclusivamente no ambiente externo nas gerações de vida livre.

FAUST (1933) descreveu o encontro de machos, no interior do trato digestivo e respiratório (pulmões e bronquíolos) de cães. Para o autor, as fêmeas seriam inseminadas nos pulmões e depois migrariam para seu habitat intestinal. Estes machos, encontrados em baixo número, teriam vida efêmera. No entanto, pelas várias evidências existentes (NIGON & ROMAN, 1952) é muito mais coerente aceitarmos a não existência deste tipo de macho. GRAHAM (1936) infectou ratos com uma única larva de *Strongyloides ratti*, demonstrando não haver necessidade do macho parasita para completar o ciclo.

As fêmeas parasitas apresentam o corpo cilíndrico, filiforme, branco, com extremidades afiladas e cerca de 2,2 a 3,7 mm de comprimento. A boca é pequena, hexagonal, envolta por 6 papilas. O esôfago é filarióide. A vulva está situada na terça posterior do corpo, da qual parte um útero anfidelfo e ovários que poderão estar espiralados ou não com o intestino, de acordo com a espécie. O número de ovos é bem menor que a fêmea de vida livre. São encontradas no hospedeiro inseridas no interior das criptas de Lieberkühn.

DETERMINAÇÃO DOS CICLOS DE VIDA

As espécies de *Strongyloides* são notáveis na sua habilidade em manter-se, alternando gerações diretas ou homogônicas, em ciclos parasitas ou em repetidas gerações de vida livre, de maneira indireta ou heterogônica, indefinidamente dependendo da espécie e das condições externas encontradas. São muito discutidos os fatores que levam as larvas rabditóides a se encaminharem para um dos dois ciclos: direto ou indireto. Inúmeras pesquisas tem sido feitas para tentar explicar esta duplicidade de ciclos.

As formas de vida livre vivem no solo rico em matéria orgânica e as parasitas se instalam na mucosa duodenal e na parte inicial do jejuno. Os ovos produzidos por estas últimas são levados, através das fezes, para o meio externo onde eclodem larvas rabditóides (L 1).

A partir deste estágio dois tipos de desenvolvimento podem ser seguidos : o homogônico ou direto, onde as larvas L 1 sofrem transformações passando por 2 mudas até tornarem - se L 3 filarióides, que invadem novos hospedeiros por penetração cutânea e completam o desenvolvimento, passando por mais duas mudas. No tipo heterogônico ou indireto, as larvas (L 1) passam por 4 estágios, atingindo a maturidade como machos e fêmeas de vida livre. O caminho de ovo até L3, neste caso, é idêntico ao ciclo direto. Assim, apesar de ser um parasita obrigatório, parte significativa do ciclo de vida de *Strongyloides* ocorre fora do hospedeiro. Existe uma vantagem prática deste ciclo para o pesquisador, pois as formas de vida livre podem facilmente desenvolver - se em laboratório, em cultura de fezes de animais infectados.

Este ciclo é partilhado por todo o gênero. Entretanto, há diferenças específicas quanto ao número de gerações produzidas pelos adultos de vida livre. Em *S. planiceps* (parasita de felinos) foi encontrado até 09 gerações, enquanto em *S. stercoralis* foi observada apenas uma única geração (YAMADA *et al.*, 1991). Em *S. ratti*, não se encontrou mais que uma geração de vida livre (VINEY, 1999).

No trabalho de MORAES (1948), todas as larvas rabditóides oriundas das fêmeas de vida livre de *S. avium*, evoluíram para L 3 infectantes, não tendo sido observada outras gerações de adultos de vida livre. A presença de mais de uma geração foi incomum. CASTANHO (1983) constatou que o surgimento de adultos de vida livre em *S. avium* é bastante raro.

Este fato pode ter sido influenciado em função das condições ambientais (HANSEN *et al.*, 1969).

No desenvolvimento indireto, afirma-se não haver uma cópula perfeita com fecundação do óvulo da fêmea pelo espermatozóide do macho, mas apenas uma ativação do esperma (pseudofertilização) no interior do citoplasma do óvulo, não ocorrendo, portanto, a fusão de núcleos para produção de um zigoto.

A reprodução, para estes autores, é considerada pseudogâmica (HAMMOND & ROBINSON, 1994; ZAFFAGNINI, 1973) e ocorre por partenogênese meiótica (ZAFFAGNINI, 1973; CABLE, 1971), ou partenogênese meiótica seguida de pseudofertilização obrigatória (TRANTAPHYLLOU & MONCOL, 1977). Se as conclusões estiverem corretas, a descendência proveniente deste cruzamento poderia somente herdar material genético da fêmea. A existência de machos que não contribuem geneticamente para as próximas gerações dificultam o entendimento em termos evolutivos.

Uma evidência relevante foi encontrada em formas de vida livre de *S. ratti* por VINEY *et al.* (1993). Foi observada a ocorrência de "crossing - over" entre os cromossomos paternos e maternos por ocasião da reprodução sexuada, de forma que a hipótese da pseudogamia, anteriormente considerada por outros autores, seja descartada.

O ciclo do *S. ratti* demonstra que análises genéticas são de notável importância nos estudos da biologia básica destes parasitas, em particular para identificação de genes envolvidos na geração parasita.

CICLO NO HOSPEDEIRO

O ciclo no hospedeiro inicia-se com a penetração das L3 do solo através do tegumento. Ultrapassada esta barreira, as larvas atingem os vasos sanguíneos, chegam ao coração, de onde seguirão para as artérias pulmonares. Passando pelos capilares sanguíneos, atingem os alvéolos, migram pela árvore brônquica até a faringe quando, por deglutição, atingem o intestino delgado e se instalam na região do duodeno e jejuno, atingindo a maturidade como fêmeas parasitas e iniciando a oviposição.

Uma vez infectado, pode ocorrer auto - infecção no homem quando partículas de fezes aderidas à região anal durante um certo período de tempo, promovem a evolução das larvas rabditóides em L 3 e estas reinfetariam novamente o mesmo hospedeiro (GROVE, 1996). Na opinião de outros, um retardamento no percurso do bolo fecal permitiria que a larva se torne filarióide ainda dentro do intestino, penetrando pela parede intestinal.

É importante ressaltar que nas espécies que eliminam ovos nas fezes a auto - infecção não acontece.

GILL & BELL (1979), GROVE (1980) e PELLETIER (1984) relataram sintomas associados à *estrongiloidose* em trabalhos com ex - prisioneiros sobreviventes da Segunda Guerra Mundial, devido à situação por eles vivida nos locais de batalha, onde as condições sanitárias e de higiene eram precárias, muitos anos após o retorno aos seus países de origem.

As evidências não possibilitaram apontar se tal fato ocorreu devido à auto-infecção do parasita ou se a longevidade das fêmeas parasitas no interior do hospedeiro teriam alguma relação com o aparecimento de sinais clínicos. Isto explicaria talvez o porquê de pacientes permanecerem infectados por longos períodos sem estarem em contato com os focos da doença.

NOLAN & KATZ (1981) e KAWANABE *et al.* (1988) observaram outro modo de infecção, por via transmamária. BROWN & GIRARDEAU (1977)

relataram o encontro de larvas L3 de *Strongyloides* sp. no leite de uma parturiente quatro dias após o parto. Provavelmente as larvas migrariam pelo organismo da mãe, após penetrar pela pele e a transmissão ocorreria quando a mãe se infectasse próximo ao parto ou durante a amamentação.

INFLUÊNCIA DE FATORES AMBIENTAIS EXTERNOS

Vários trabalhos mostram que se deve entender como condições externas, favoráveis ou não, ao aparecimento de adultos de vida livre fatores como :

♦ **Granulação e pH do meio externo ou de cultura** - Segundo GALLIARD (1967), a natureza da cultura influencia a direção do ciclo, podendo ser este ora direto, ora indireto em *S. fuelleborni*. pHs menores que 5,9 ou maiores que 7,2 favorecem a diferenciação das larvas para L3 infectantes, enquanto pHs próximos ao neutro favorecem o desenvolvimento de formas de vida livre.

♦ **Ácidos graxos** presentes nas culturas de fezes interferem em mudanças fisiológicas das larvas rabditóides (L 1) de *S. rattii*, determinando a direção do desenvolvimento para L 3 infectantes e adultos de vida livre e a sobrevivência dos mesmos. Na presença de ácido linoléico ocorre um aumento do número de L1 nas culturas, havendo uma diminuição na quantidade das fases larvais seguintes. O ácido eicosapentanóico aumentou o número de L 3 infectantes (MINEMATSU *et al.*,1990).

♦ **Taxas de O₂ e concentração de CO₂** - TAYLOR & WEINSTEIN (1990) verificaram que o aumento da concentração de CO₂ inibe o desenvolvimento das L3 infectantes, enquanto concentrações variando entre 5 e 7,5% de CO₂ favorecem o direcionamento das larvas para adultos de vida livre.

Trabalhando com *S. fuelleborni*, HANSEN *et al.* (1969) verificaram que o meio de cultura anaeróbico propicia o surgimento de formas de vida livre, enquanto que as L3 infectantes de ciclo direto são mais prevalentes em meios aeróbicos.

♦ **Temperatura** - GALLIARD (1967) e SOROCZAM (1977) consideraram que a duração do ciclo indireto de *S. stercoralis* varia de acordo com a temperatura, sendo bem sucedido somente em temperaturas elevadas. Em culturas mantidas em regiões de clima temperado em torno de 16^o C, o ciclo é exclusivamente direto, e em clima tropical (temperaturas superiores a 20^o C) apresentam ciclo indireto.

A temperatura exerce um efeito significativo na proporção e nos tipos de formas de vida livre em culturas. Segundo NWAORGU (1983), fêmeas de vida livre são mais numerosas em culturas mantidas a 30^oC e L 3 infectantes a 20^oC. ARIZONO (1976) usou a temperatura como fator determinante em relação ao tamanho das larvas de *S. planiceps*, sugerindo que a temperatura pode influenciar na atividade alimentar das larvas ou ter efeito direto na fisiologia destas, apesar de não ser possível diferenciar larvas de 1^o estágio que evoluirão para fêmeas de vida livre ou para larvas filarióides. As gônadas das L 1 que evoluirão para fêmeas de vida livre aumentam de tamanho, enquanto as L 3, antes da primeira muda, não sofrem alteração. TSUJI & FUJISAKI (1994) confirmaram que o choque térmico em culturas de larvas filarióides *in vitro* ocasionam mudanças morfológicas e na composição protéica da cutícula.

♦ **Viabilidade de alimento** - A quantidade de matéria orgânica disponível no ambiente, consumida pelas larvas rabditóides e adultos de vida livre de *S. fuelleborni*, favorece o estabelecimento de um ciclo direto (GALLIARD, 1967).

LITTLE (1962) verificou que fêmeas parasitas produziam, dois tipos de ovos, através de mecanismos citológicos diferenciados que se desenvolveriam para machos, enquanto outro para fêmeas adultas de vida livre ou larvas filarióides (L3), dependendo das condições de cultura. ARIZONO (1976), YAMADA *et al.* (1991) e VINEY *et al.* (1993) confirmaram a influência de condições externas favoráveis ao aparecimento de adultos de vida livre.

YAMADA *et al.* (1991) confirmaram que, em laboratório, algumas gerações de vida livre não conseguem se manter indefinidamente, talvez pelo fato de que os

adultos de vida livre venham sofrer mudanças bioquímicas ou genéticas causadas por fatores externos não adequados.

FATORES GENÉTICOS DO PARASITA

SANDGROUND (1926) e KRIES (1932) observaram que o desenvolvimento da descendência tanto para adultos parasitas quanto adultos de vida livre ou para L 3 infectantes era determinado geneticamente, dependendo da quantidade de ovos fertilizados. NIGON (1965) considerou que a prevalência de um ciclo sobre o outro tem base genética e pode ser modificada por condições de vida das gerações seguintes.

Para MONCOL & TRIANTAPHYLLOU (1978) a determinação sexual ocorre durante a oogênese.

Estudos genéticos em algumas espécies tem colaborado para uma melhor compreensão deste assunto. Citologicamente o pró - núcleo feminino teria um número diplóide ($2n$) de 4 cromossomos. A fusão com o pró - núcleo haplóide (n) do macho produziriam vários zigotos triplóides ($3n$) destinados a serem L3 e de se tornarem fêmeas parasitas. O aparecimento de machos sobre a descendência destas fêmeas deve ser considerado uma peculiaridade (MONCOL & TRIANTAPHYLLOU, 1978). Neste caso entretanto, ocorrerá apenas uma geração de adultos de vida livre.

Para CHANG & GRAHAM (1957), em *S. papillosus*, o ciclo seria pré - determinado já na embriogênese .

BOLLA & ROBERTS (1968), assim como ALBERTSON *et al.* (1979) descreveram a gametogênese em três espécies de *Strongyloides* e analisaram que os machos sofreriam uma distribuição atípica de cromatina ou uma provável fragmentação cromossômica para a produção de adultos parasitas com $2n = 5$ cromossomos.

Nos trabalhos de VINEY *et al.* (1993) e VINEY (1994) foi salientado que a anfimixia (produção de gametas masculinos e femininos) ocorria normal e regularmente em linhagens de laboratório de *S. ratti*. O mecanismo mais aceito para a determinação sexual seguiria o modelo XX - X0 (VINEY, 1999) sugerindo que :

- fêmeas parasitas XX gerassem descendência também XX que poderiam desenvolver-se em duas formas: fêmeas de vida livre ou por desenvolvimento direto, em L3 infectantes.
- fêmeas parasitas XX gerariam machos X0 por não - disjunção e estes, subsequentemente, desenvolveriam somente em machos de vida livre.

Portanto, toda a progênie do cruzamento entre machos (X0) e fêmeas (XX) são aparentemente fêmeas.

MONCOL & TRIANTAPHYLLOU (1978) observaram que a presença dos machos de vida livre influencia a oogênese ou embriogênese do parasita.

Evidências genéticas experimentais tem mostrado que os parasitas que desenvolvem por ciclo direto se reproduz somente por partenogênese mitótica. Parasitas que desenvolvem por caminho indireto alternam entre reprodução mitótica do estágio parasita e reprodução sexual dos adultos de vida livre.

TRIANANTAPHYLLOU & MONCOL (1977), estudando linhagens de *S. ransomi* e *S. papillosus* observaram similaridade citogenética entre eles e a existência de cromossomos Neo - X e Neo - Y. O cariótipo destas espécies pode ser definido como: $2A + 2Neo - X$ = fêmea, sendo A os cromossomos autossomos.

O cariótipo do macho é o mesmo, mas o cariótipo funcional é observado somente durante a espermatogênese, onde um dos cromossomos Neo - X é fragmentado e um destes fragmentos (aparentemente do X original) é diminuído em *S. ransomi*. O verdadeiro cariótipo funcional do macho pode ser considerado como sendo: $2A + 1Neo - X + 1Neo - Y$.

O espermatozóide de *S. ransomi* pode ser de dois tipos principais: $A + Neo - X$ e $A + Neo - Y$.

A direção da evolução desses cariótipos precisa ser melhor estudada, mas o fato que o oócito de uma espécie pode ser ativado pelo espermatozóide da outra e vice-versa, é indicativo da estreita relação entre *S. ransomi* e *S. papillosus*.

Fatores ecológicos juntamente com fatores imunológicos do hospedeiro podem ser decisivos na determinação da direção do desenvolvimento.

Então, vermes que se reproduzem sexuadamente entre linhagens diferentes podem ser comparados para determinar as vantagens deste tipo de reprodução.

IMUNIDADE DO HOSPEDEIRO

GEMMIL *et al.* (1997), trabalhando com *S. rattii* argumentaram que o estado imune do hospedeiro pode determinar a sexualidade em nematódeos parasitas. Estes autores demonstraram que as larvas provenientes das fezes dos hospedeiros mutantes hipotímicos submetidos a corticóides, a irradiação gama e a exposição prévia ao parasita tinham adquirido proteção imune. Esta imunidade determinante da sexualidade é consistente com a idéia que a reprodução sexual dos parasitas é adaptativa em face da imunidade específica, hipótese esta que, se verdadeira, contribuirá para o entendimento das conseqüências clínicas e epidemiológicas da doença.

Em *S. rattii* a resposta imune desenvolvida pelo hospedeiro pode causar alterações morfológicas (redução de tamanho) e biológicas (redução de fecundidade) nas fêmeas parasitas (MOQBEL & McLAREN, 1980; MOQBEL *et al.*, 1980).

VARJU (1966) *apud* CASTANHO (1983) apontou uma relação entre a imunidade do hospedeiro e a tendência ao tipo de ciclo. Na sua opinião, o modo de desenvolvimento larval do *Strongyloides* está correlacionado ao aparecimento de imunidade no hospedeiro. Em porcos infectados houve a inversão do ciclo direto para o indireto quando anticorpos anti - *Strongyloides* atingiam níveis mais elevados. Quando a imunidade baixava, o ciclo retomava o tipo direto. Onde os

altos índices de anticorpos prevaleciam, era comum o encontro de fêmeas parasitas de tamanho pequeno. Existiriam razões para supor que a produção de ovos que originariam formas de vida livre é iniciada pelo dano sofrido pelo parasita no seu metabolismo, influenciando a oogênese.

2. OBJETIVOS

Estudar a influência de alguns fatores relacionados ao hospedeiro vertebrado, ao parasita e ao meio de cultura, no desenvolvimento das gerações de vida livre de *Strongyloides venezuelensis* :

- a) idade e sexo do hospedeiro vertebrado;
- b) intensidade e duração do parasitismo;
- c) proporção do meio de cultura (carvão animal granulado) em relação a quantidade de fezes.

O tamanho de fêmeas e de larvas delas oriundas são os parâmetros utilizados para constatar a influência dos diferentes fatores no desenvolvimento das fêmeas de vida livre.

Serão feitas associações entre tamanho de adultos parasitas, tamanho de larvas, meios de cultura e número de fêmeas de vida livre em cada grupo experimental.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. LINHAGEM DO PARASITA

Foi utilizada a linhagem de *Strongyloides venezuelensis* (F11), isolada de *Rattus norvegicus*, coletado no campus da UNICAMP em maio de 1986 e, mantida, desde então, em ratos Wistar machos, por injeção subcutânea.

3.2. LINHAGEM DO HOSPEDEIRO

Os trabalhos foram desenvolvidos em ratos heterogênicos Wistar, SPF, machos e fêmeas, com 30 e 60 dias de idade fornecidos pelo CEMIB (Centro de Bioterismo) da UNICAMP.

3.3. OBTENÇÃO DE LARVAS FILARIÓIDES E ADULTOS DE VIDA LIVRE

De fezes colhidas dos ratos infectados foram feitas culturas homogeneizando as fezes em água e misturadas com carvão animal granulado na proporção de 1:1 (LOOSS, 1911). A mistura de carvão e fezes foi mantida umedecida a temperatura ambiente.

No 3º dia de cultura, as larvas filarióides e/ou fêmeas de vida livre foram recolhidas pelo método de Rugai (RUGAI *et al.*, 1954) e utilizadas para infecção ou mortas pelo calor e fixadas em TAF.

3.4. INFECÇÃO DOS RATOS

As larvas filarióides obtidas por cultura de fezes e isoladas pelo método de Rugai, foram quantificadas e uma alíquota de aproximadamente 0,3 ml com número variável de larvas, usadas para infecção individual dos ratos por injeção subcutânea.

3.5. NECRÓPSIA DOS RATOS

Os ratos infectados foram mortos por deslocamento cervical e necropsiados nos 7º, 14º e 21º dias pós - infecção, isolando o duodeno em placas de Petri contendo solução salina 0,15 M. O duodeno de cada rato foi seccionado longitudinalmente e, após leve raspagem da mucosa, foi incubado por 30 minutos em estufa de cultura a 37 ° C. Após esse período, as fêmeas parasitas foram recolhidas, mortas pelo calor e fixadas em TAF.

3.6. MORFOMETRIA DE ADULTOS E LARVAS

As fêmeas parasitas e as larvas filarióides (L 3) fixadas, foram desenhadas em câmara clara e medidas com auxílio de curvímetro e mesa digitalizadora Digigraf Itaotec acoplada ao computador. Foi utilizado o programa idealizado pelo Prof. Eduardo Buzzatto, do Departamento de Computação do Instituto de Matemática, Estatística e Ciências (IMECC) da Computação da UNICAMP.

Foram também contados os ovos presentes no útero das fêmeas recém – coletadas.

Baseado nos trabalhos de LITTLE (1966) foram feitos, para as fêmeas parasitas, as seguintes medidas, em μm (FIGURA 1) :

CT = comprimento total

CE = comprimento do esôfago

CV = abertura da vulva (distância da extremidade anterior até a vulva)

AN = comprimento da cauda (distância da abertura do ânus até a extremidade posterior)

As fêmeas foram observadas em microscópio óptico com aumento de 100X.

Nas larvas filarióides foram feitas as seguintes medidas, em μm (FIGURA 2):

CTF = comprimento total

CEF = comprimento do esôfago (distância da extremidade anterior até o esôfago)

CCF = comprimento da cauda (distância do ânus até a extremidade posterior)

LAF = largura (medida na região mediana do esôfago)

As larvas foram observadas em microscópio óptico com aumento de 200X.

As medidas de comprimento total (CTF) e esôfago (CEF) foram feitas com curvímetro e o comprimento da cauda (CCF) e largura (LAF) em mesa digitalizadora.

As fêmeas de vida livre não foram submetidas à mensuração.

3. 7. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram formados 4 grupos experimentais:

1. **RW60** – 30 ratos Wistar machos de 60 dias de idade, divididos em 5 grupos de 06 animais, infectados individualmente com 3500 larvas filarióides de *Strongyloides venezuelensis*.

No 7º, 14º e 21º dia pós - infecção foram colhidas fezes para pesquisa de adultos de vida livre em culturas. Para cada dia de observação foram feitas culturas com diferentes quantidades de carvão animal granulado, pesadas proporcionalmente de acordo com a quantidade de fezes, obedecendo as proporções de 9 : 1, 6 : 1 e 3 : 1 carvão: fezes, respectivamente. O número de L 3 foi estimado por amostragem e as fêmeas de vida livre foram contadas manualmente.

Em cada dia de observação, 2 ratos foram sacrificados para colheita de vermes adultos. Trinta fêmeas parasitas, de cada dia de necrópsia, foram separadas para morfometria.

2. **RW30** – 60 ratos Wistar machos de 30 dias de idade, separados em 10 grupos de 06 animais, infectados individualmente com 3500 larvas filarióides.
3. **RW500** – 18 ratos Wistar machos de 30 dias de idade, divididos em 03 grupos de 06 animais, infectados individualmente com 500 larvas filarióides de *Strongyloides venezuelensis*.
4. **FW30** – 30 ratos Wistar fêmeas com 30 dias de idade, divididos em 05 grupos de 06 animais, infectados individualmente com 3500 larvas.

Nos grupos RW30, RW500 e FW30 os procedimentos para colheita de larvas L 3, fêmeas de vida livre e fêmeas parasitas foram os mesmo, já descritos para RW60.

3.8. ANÁLISE DOS DADOS

Para testar as possíveis diferenças entre as médias dos adultos e das larvas filarióides entre os diferentes grupos nos três dias de infecção, utilizamos o teste de comparações múltiplas de Duncan.

Para as análises de variância usamos os procedimentos PROC GLM (Modelos Lineares Gerais) e PROC CORR para a correlação de Pearson, ambos do programa SAS System (SAS, Inc. 1986).

Para todos os testes realizados a hipótese nula foi de que não existe diferença entre os grupos e nos diferentes dias de infecção, sendo adotada como regra de decisão : não rejeitar a hipótese nula se $p < 0,05$ (5%) e rejeitar a hipótese se $p \geq 0,05$, onde p é a significância encontrada.

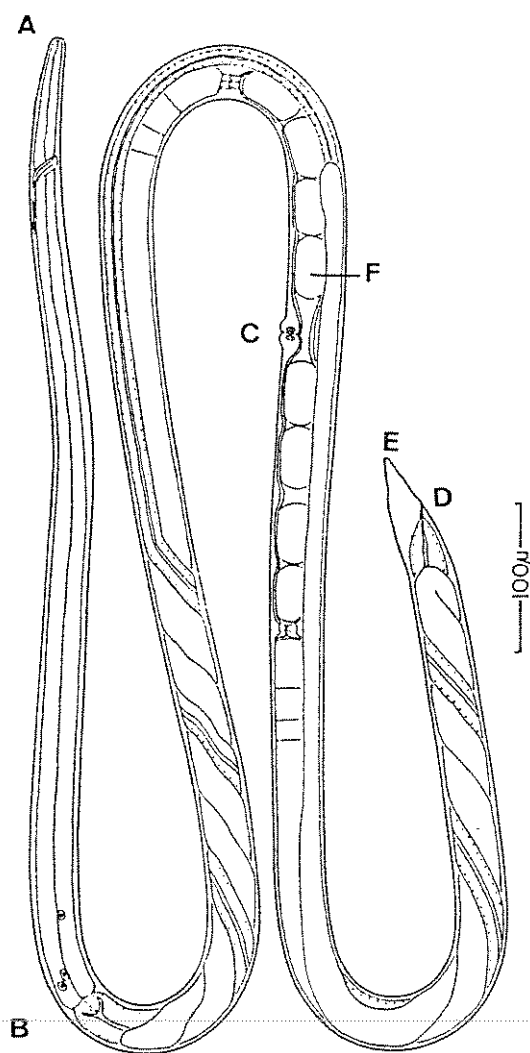


Figura 1 - Medidas da fêmea parasita de *Strongyloides venezuelensis*. A - E = comprimento total (CT); A - B = comprimento do esôfago (CE); A - C = abertura da vulva (CV); D - E = ânus (AN) e F = ovo no interior do útero (Original de LITTLE, 1966).

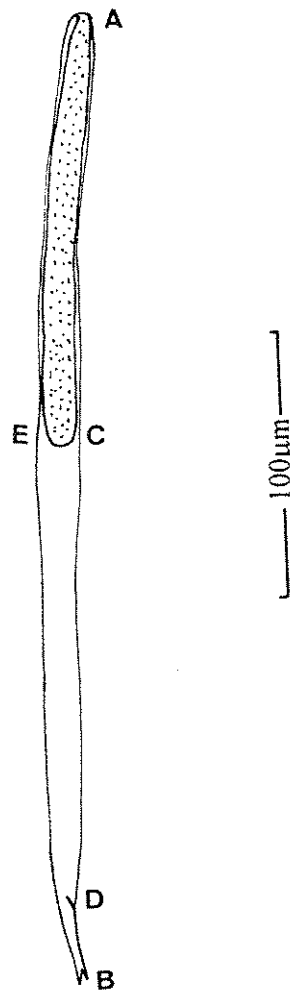


Figura 2 - Medidas da larva filarióide de *Strongyloides venezuelensis*. A - B = comprimento total (CTF); A - C = comprimento do esôfago (CEF); D - B = comprimento da cauda (CCF) e E - C = largura (LAF).

4. RESULTADOS

Na TABELA 1 estão expressos as medidas médias dos vermes adultos nos diferentes grupos experimentais.

O comprimento médio (CT) dos vermes recolhidos no 7º dia de infecção no grupo RW30, foi de 3468,7 μm , o esôfago (CE) ocupou pouco menos que um terço do comprimento (26,1 % do comprimento total), a vulva está localizada no início do terço posterior e a cauda (AN) ocupa 0,3 % comprimento total do verme. Os vermes deste mesmo grupo quando recolhidos no 14º e 21º dia pós – infecção mostraram comprimento médio menor, o esôfago ocupando um terço em pouco mais do comprimento, respectivamente 30,3 % e 33,4 % do comprimento total, a vulva se abrindo no terço posterior, mas um pouco mais atrás em relação à extremidade anterior. Observa-se ainda, pelas medidas do 21º dia, que houve diminuição da distância entre vulva e ânus, uma vez que a medida do ânus foi tomada entre a abertura do ânus e a extremidade posterior.

A análise estatística mostrou que a diferença de comprimento nos diferentes dias de infecção é estatisticamente significativa ($p = 0,0001$), formando grupos nitidamente distintos pela comparação múltipla de Duncan.

Se o tamanho dos vermes diminui com o tempo de infecção, diminui também o número médio de ovos presentes no útero das fêmeas (TABELA 2), com 6,52 ovos/fêmea no 7º dia e apenas 2,72 ovos/fêmea no 21º dia. Houve uma diminuição de 3,8 ovos no 21º dia em relação ao 7º dia. Mas, o teste de Pearson não mostrou correlação entre o número de ovos e o comprimento dos vermes, com coeficientes de 0,45085; 0,53690 e 0,5282 respectivamente nos 7º, 14º e 21º dias. Mostraram o mesmo padrão de medidas para esôfago, vulva e ânus, ou seja, esôfago ocupando menos que 30 % no 7º dia e ultrapassando os 30 % nos dias 14 e 21 pós – infecção, a vulva se distanciando levemente no 14º dia e aproximando no 21º dia, ânus se mantendo praticamente na mesma posição.

Os vermes do grupo RW60 mostram diferença entre os vários dias de infecção ($p = 0,0001$), diminuindo de comprimento em infecção de 14 dias e aumentando um pouco no 21º dia, formando três grupos distintos.

No entanto, o comprimento dos vermes nos vários dias de observação (exceto no 21º dia) foi menor quando comparado com os demais grupos (TABELA 1) e mostrando

diferença significativa em todos os dias de observação, exceto no grupo citado anteriormente (RW30 – 21 dias). Ao comprimento menor dos vermes do grupo RW60 observa - se que o número de ovos/fêmea no 7º dia passou de 4,07 ovos/fêmea para 1,90 ovos/fêmea no 21º dia (TABELA 2).

O número de ovos deste grupo foi sempre inferior comparado aos de hospedeiros vertebrados mais jovens. Somente no 14º dia pôde - se observar uma fraca correlação entre comprimento e número de ovos ($r = 0,61522$). Os valores do coeficiente de correlação no 7º e 21º dia foram $r = 0,24831$ e $0,50196$ respectivamente.

Nos vermes do grupo RW500 observa - se, pela TABELA 1, que o esôfago ocupa apenas 23,9 % do comprimento total no 7º dia, apresentando tamanho menor que nos dois grupos anteriores, aumentando um pouco o comprimento nos 14º e 21º dias, mas continua curto, ao contrário dos dois grupos anteriores, não atingindo 30 % do comprimento do corpo. A vulva se localiza aproximadamente à mesma distância nos dias 7º e 14º e encurta um pouco no 21º dia. A posição do ânus não sofreu alteração nos vários dias de observação, apesar da diminuição de comprimento.

O comprimento total do verme apresenta diferença significativa ($p = 0,0001$) nos diferentes dias de observação, não demonstrando, no entanto, diferença estatística (teste Duncan) entre os 14º e 21º dias e entre os 7º e 21º dias. Quando se compara os vermes deste grupo com os vermes de grupos anteriores, observa - se que apresentam maior comprimento tanto no 7º dia como no 14º dia. As medidas deste grupo mostram diferenças estatísticas significativas em relação aos outros grupos em todos os dias de observação.

Os vermes deste grupo apesar de apresentarem comprimento maior, não são os que mais ovos apresentaram por fêmea. Ao contrário dos demais grupos, o número de ovos/fêmea foi maior no 14º dia de observação. Também neste grupo não se observa correlação entre comprimento total e número de ovos, com $r = 0,20982$; $0,44605$ e $0,18181$ respectivamente no 7º, 14º e 21º dias.

Nos adultos recolhidos de FW30 (TABELA 1) o esôfago ocupa 25,4 % no comprimento total no 7º dia, atingindo 30 % no 14º e 21º. A vulva está situada no terço posterior ocupando 66,8 % do corpo no 7º dia, desloca - se ligeiramente para trás no 14º dia e no 21º dia está novamente ligeiramente para frente, em posição semelhante a do 7º dia.

A média do comprimento de 3433,3 μm no 7º dia diminui no 14º dia, aumenta no 21º dia, embora a medida do 21º dia continue menor que o do 7º dia. Essas diferenças são estatisticamente significativas ($p = 0,0001$).

Ao se comparar o comprimento médio dos vermes deste grupo, observa-se que difere dos grupos RW60 e RW500, mas não de RW30 no 7º dia. Nos 14º e 21º dias diferem de todos os grupos.

Em relação ao número de ovos/fêmea ocorre, como nos demais grupos anteriores, diminuição com tempo de infecção. No 7º dia o número de ovos de FW30, cujo tamanho das fêmeas não diferiram estatisticamente de RW30, é bem menor em relação a RW30 e gradualmente diminui nos dias 14º e 21º. Os valores do coeficiente de correlação entre comprimento e número de ovos não foram significativos, com $r = 0,33180$; $0,46049$ e $0,17127$ para 7º, 14º e 21º dia respectivamente.

As medidas das larvas oriundas da cultura de fezes dos ratos infectados dos diferentes grupos em diferentes dias estão expressas na TABELA 3. As larvas de RW30 medem no 7º dia 683,9 μm de comprimento (CTF), apresentam esôfago filarióide (CEF) ocupando quase a metade do comprimento da larva (45,4%), cauda curta (CCF), ocupando 5,7 % do comprimento total. As larvas colhidas nos 14º e 21º dias de infecção apresentaram a mesma proporção dos órgãos que no 7º dia, mas os comprimentos são diferentes ($p = 0,0001$).

As larvas colhidas no 14º dia são praticamente do mesmo comprimento e as de 21º dia menores que as de 7º. A análise estatística mostrou que larvas de 7º e 14º dias não diferem significativamente entre si, mas ambas diferem das de 21º dia. Assim, neste grupo as larvas oriundas de infecção com 21 dias apresentaram comprimento menor.

Fêmeas do grupo RW60 originaram larvas com esôfago também ocupando quase a metade do comprimento total nos vários dias de observação. Mas, as larvas deste grupo mostraram cauda mais longa, ou seja, o ânus localizado a uma distância maior da extremidade posterior. Estas larvas poderiam ser descritas como larvas mais curtas com cauda mais longa, e as de 21º dias ainda ligeiramente mais largas.

Em relação ao tamanho (TABELA 3) nos vários dias de observação verifica-se que as larvas apresentam valores muito próximos, apesar das larvas do 14º dia apresentarem comprimento um pouco maior, que os de 7º e 21º dia ($p = 0,0477$).

Quando se compara o tamanho das larvas deste grupo (RW60) com os dos demais, verifica-se que apresentaram comprimento médio menor, em todos os dias de observação, comprovado pelo resultado do teste de comparações múltiplas de Duncan. Essa diferença foi bastante nítida no 7º dia, onde larvas eram oriundas de ratos mais jovens, machos ou fêmeas.

Larvas oriundas de RW500 apresentaram esôfago ocupando cerca de 45 % do comprimento da larva, à semelhança dos dois grupos anteriores. Diferiram, no entanto, no comprimento da cauda, mostrando comprimento intermediário entre os grupos RW30 e RW60, ocupando entre 6,4 % a 7,1 % do comprimento total, ligeiramente maior no 21º dia. A largura da larva (LAF) foi semelhante nos três dias de observação, não diferindo dos outros grupos, exceto no 21º dia de RW60.

O comprimento das larvas deste grupo variou significativamente nos dias de observação ($p = 0,0002$), atingindo 704,2 μm no 14º dia, mas as medidas médias do 7º e 21º dia, foram praticamente iguais, porém, significativamente diferentes do 14º dia.

Nas larvas de FW30 os comprimentos do esôfago, da cauda e a largura foram muito semelhantes aos de RW500, o esôfago ocupando entre 6,9 a 7,4 % do comprimento total, sendo maior no 14º dia.

O comprimento total das larvas variou significativamente nos diferentes dias de observação ($p = 0,0001$), maior no 21º dia, embora as medidas do 7º e 14º dia não diferiram entre si. As larvas originárias de FW30, ao contrário dos outros grupos, apresentaram comprimento maior no 21º dia de infecção e não no 14º. Os valores médios de comprimento no 21º dia foi o maior entre os grupos estudados, diferindo deles.

A estimativa do número de larvas filaróides obtidas das culturas de fezes dos grupos/dia foi feita por amostragem e está expressa na FIGURA 3.

A FIGURA 4 mostra o número médio de fêmeas de vida livre presentes nas mesmas culturas.

Não foi feita contagem de larvas no grupo RW30 por falha técnica. Observa-se na FIGURA 4, que o número médio de fêmeas de vida livre aumenta muito à medida que as infecções vão se tornando mais antigas, passando de 3,4 (média do número de fêmeas/réplica) no 7º dia para 37,2 e 46,4 no 14º e 21º dias, um aumento de mais de 10 vezes e 13,6 vezes respectivamente (TABELA 4).

As FIGURAS 3 e 4, mostram que RW60 produziu uma quantidade muito grande de larvas filarióides em culturas feitas com infecções de 7 dias de idade, chegando 138.400,0 larvas. Mas esse número decresceu muito no 14° dia pouco mais que 1/3 do número do 7° dia, e chegando a somente 9.200,0 no 21° dia. Nas mesmas culturas o número de fêmeas de vida livre foi quase o dobro nos 14° (50,9) e 21° dias (51,7) em relação ao 7° (26,0) dia.

Os dois grupos RW500 e RW60 (FIGURAS 3 e 4), produziu no 7° dia cerca de 40.900,0 larvas infectantes, diminuindo bastante, cerca de 3,49 vezes, no 14° dia e 2,29 no 21° dia.

Fêmeas do grupo RW500 comparado com RW60 apresentaram, nas culturas, número bastante inferior de larvas filarióides no 7° dia, produzindo quase 3,38 vezes menos, mas o número de larvas no 21° dia foi quase o dobro de RW60. A produção de fêmeas de vida livre foi irrisória no 7° dia (2,0), não havendo grande produção no 21° dia (4,3).

Neste grupo houve produção maior de fêmeas de vida livre no 14° dia (17,0), chegando a ser quase 4 vezes menor no 21° dia, coincidindo com o menor comprimento da fêmea parasita.

O grupo FW30 (FIGURA 3 e TABELA 4) produziu maior número de larvas no 14° dia de infecção (92.600,0), decaindo no 21° dia (44.160,0). Foi o único grupo que apresentou maior número de larvas no 14° dia. O número de fêmeas de vida livre presente nas culturas foi irrisório no 7° dia (1,0), aumentando nos 14° (7,5) e nos 21° dias (20,0).

Neste grupo também houve produção maior de fêmeas de vida livre no 21° dia, a semelhança de RW60 e RW30, mas com número de fêmeas de vida livre incomparavelmente menores (51,7 e 20,0 respectivamente). No 21° dia a diminuição do número de larvas, em relação ao 7° dia foi 1,703 vezes e em relação ao 14° dia foi pouco menos que a metade, mas o número de fêmeas de vida livre aumentou em proporção maior.

A TABELA 4 mostra o número de fêmeas de vida livre obtidas em culturas de fezes quando cultivadas em quantidades diferentes de carvão.

No grupo RW30 as culturas na proporção de 3 : 1, ou seja, 3 partes de carvão para 1 de fezes, apresentaram maior número de fêmeas de vida livre no 14° e 21° dia, somando 37,2 e 46,4 respectivamente. A cultura que apresentou o segundo maior número de fêmeas de vida livre foi a de 9 : 1 no 14° dia e 6 : 1 no 21° dia, ambas com número muito pequeno

de fêmeas de vida livre quando comparadas com a cultura 3 : 1, respectivamente 6,65 e 17 vezes menor. Na infecção de 7 dias o número total médio de vermes obtidos nas réplicas foi 3,4, a maioria em cultura 6 : 1, sendo 10,94 vezes menor que o de 14º dia e 13,64 vezes menor que no 21º dia.

Observa-se na TABELA 4 que RW60 produziu maior número de fêmeas de vida livre em todos os dias de observação, crescendo de 26,0 no 7º dia para 51,7 fêmeas no 21º dia. Neste grupo, as culturas na proporção 3 : 1 permitiram a formação de maior número de fêmeas de vida livre em todos os dias de observação, seguida da cultura 6 : 1 também em todos os dias e as culturas 9 : 1 originaram número menor de fêmeas, mas ainda muito grande quando comparadas as de outros grupos.

O número total de fêmeas no 14º e 21º dia é semelhante, mas no 14º dia, as fêmeas apareceram em todos os tipos de culturas, em maior número na proporção 3 : 1, mas também em número razoável nas proporções 9 : 1 e 6 : 1. No 21º dia houve predomínio nítido em culturas 3 : 1. No 21º dia, o número de fêmeas de vida livre na cultura 3 : 1 foi 4,87 vezes maior em relação a 9 : 1 e 3,46 vezes maior em relação a 6 : 1. Observa-se, nesta tabela, fêmeas de vida livre em todos os tipos de cultura em todos os dias de observação, algumas vezes em número pequeno, mas na maioria acima de 10 exemplares.

No grupo RW500 (TABELA 4) houve produção maior de fêmeas de vida livre no 14º dia de infecção, provenientes da cultura 6 : 1. O número de fêmeas no 7º dia foi muito pequeno, totalizando apenas 2 exemplares e no 21º dia, pouco mais que o dobro. Infectados com menor quantidade de larvas, os ratos deste grupo foram os únicos que produziram maior número de fêmeas de vida livre no 14º dia de infecção, coincidindo com a presença de maior número de ovos no útero da fêmea parasita.

Comparando este grupo com RW30, também em infecções feitas em ratos machos de 30 dias de idade, com maior número de larvas, observa-se que produziram menor número de fêmeas de vida livre no grupo RW500, em todos os dias, totalizando 1,7 vezes menor no 7º dia, 2,19 vezes menor no 14º e 10,70 menos no 21º dia.

Os ratos de FW30 produziram maior quantidade de fêmeas de vida livre no 21º dia, na cultura 6 : 1 produzindo número 3,13 vezes menor na cultura 9 : 1 e 7,66 vezes menor em 3 : 1. No 14º dia, o número total de formas de vida livre foi menor que a metade quando se compara o número de fêmeas de vida livre do grupo FW30 com o de RW30, ou seja, de

infecções em ratos fêmeas de 30 dias de idade com a de ratos machos de 30 dias. Utilizando o mesmo número de larvas infectantes, os resultados mostram número total menor de fêmeas de vida livre em todos os dias de infecção, sendo 3,4 vezes menor no 7º dia, 4,96 vezes menor no 14º e 2,32 vezes menor no 21º dia em FW30.

Nas culturas de fezes dos vários grupos não foram encontrados machos de vida livre em nenhum dos dias examinados.

TABELA 1 - Medidas médias, em μm , e desvio padrão das fêmeas parasitas de *Strongyloides venezuelensis* em diferentes dias de infecção

Grupos	7° DIA				14° DIA				21° DIA			
	CT	CE	CV	AN	CT	CE	CV	AN	CT	CE	CV	AN
RW30	3468,7	906,7	2304,2	12,3	3117,3	943,3	2127,8	10,0	2777,6	927,4	1888,4	13,1
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	257,6	75,5	195,9	14,3	321,1	73,6	222,9	0	469,6	130,2	331,7	16,8
RW60	3316,7	877,3	2199,3	10	2727,3	928,7	1842,3	10,0	2815,3	994,0	1814,3	10,0
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	336,7	78,7	251,9	0	334,2	96,5	250,7	0	354,8	90,4	251,0	0
RW500	3598,9	860,0	2371,1	10	3343,4	884,4	2215,7	10,0	3476,7	918,9	2278,4	10,0
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	349,5	88,4	23,9	0	380,7	73,3	286,0	0	429,7	76,3	247,5	0
FW30	3433,3	871,7	2294,2	10	3013,3	911,1	2031,1	10,0	3187,5	991,7	2107,5	10,0
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	370,4	84,2	322,9	0	324,4	78,5	246,2	0	343,4	68,1	128,3	0

CT = comprimento total; CE = comprimento do esôfago; CV = abertura da vulva (distância da extremidade anterior até a vulva); AN = ânus (distância da abertura do ânus até a extremidade posterior);

TABELA 2 – Relação entre o número de ovos no útero e comprimento total das fêmeas parasitas de *Strongyloides venezuelensis*

IDADE DA INFECÇÃO GRUPOS	7° DIA		14° DIA		21° DIA	
	ovos/fêmea	CT (µm)	ovos/fêmea	CT (µm)	ovos/fêmea	CT (µm)
RW30	6,52	3468,7	4,18	3117,3	2,72	2777,6
RW60	4,07	3316,7	2,79	2727,3	1,90	2815,3
RW500	5,17	3598,9	6,44	3343,4	4,20	3476,7
FW30	5,45	3433,3	3,96	3013,3	3,22	3187,5

TABELA 3 - Medidas médias, em μm , e desvio padrão das larvas filarióides de *Strongyloides venezuelensis* em diferentes dias de infecção

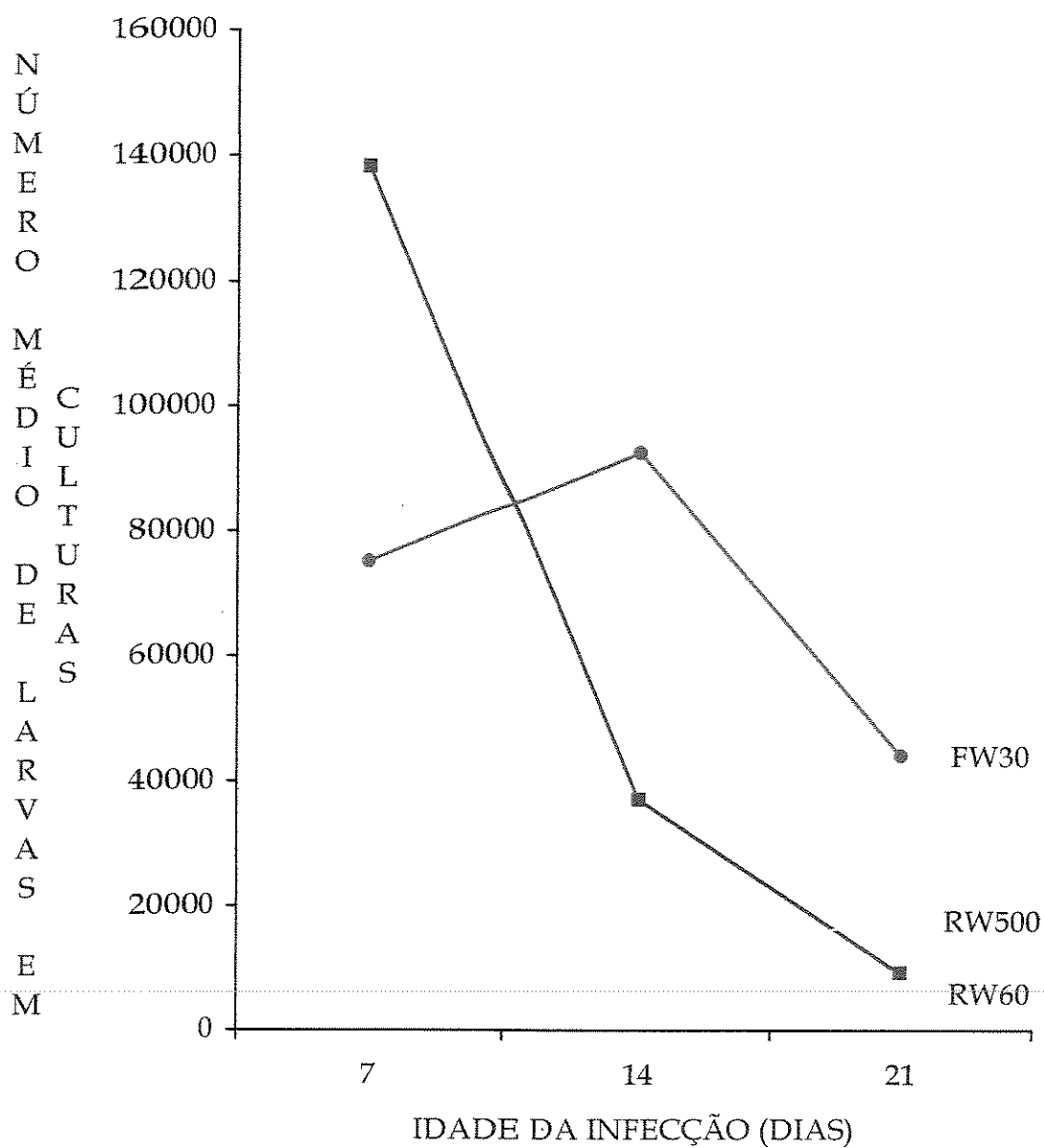
GRUPOS	7° DIA				14° DIA				21° DIA			
	CTF	CEF	CCF	LAF	CTF	CEF	CCF	LAF	CTF	CEF	CCF	LAF
RW30	683,9	310,7	39,1	15,1	689,7	311,2	40,4	15,7	675,4	307,8	37,9	14,9
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	40,0	26,3	8,9	3,6	38,7	25,5	8,9	3,3	36,5	25,0	9,0	2,9
RW60	668,0	301,7	60,2	14,8	674,7	307,0	59,6	13,4	662,0	296,0	69,8	20,3
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	38,5	60,2	83,1	6,7	49,1	23,2	96,8	3,0	44,7	25,0	132,9	11,4
RW500	678,9	310,6	46,4	16,0	704,2	319,2	45,4	15,8	677,8	303,9	47,9	16,0
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	44,9	23,1	10,8	3,7	46,3	30,7	10,6	3,3	33,6	18,7	9,7	3,9
FW30	685,9	304,3	47,3	16,2	683,3	311,1	50,5	16,4	708,3	326,7	49,9	16,8
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	31,3	20,1	11,3	3,1	45,0	37,3	13,1	4,0	30,9	20,0	25,6	6,1

CTF = comprimento total; CEF = comprimento do esôfago (distância da extremidade anterior até o esôfago); CCF = comprimento da cauda (distância do ânus até a extremidade posterior); LAF = largura

TABELA 4 - Número médio de fêmeas de vida livre de *Strongyloides venezuelensis* em culturas de diferentes proporções de carvão animal granulado (carvão : fezes)

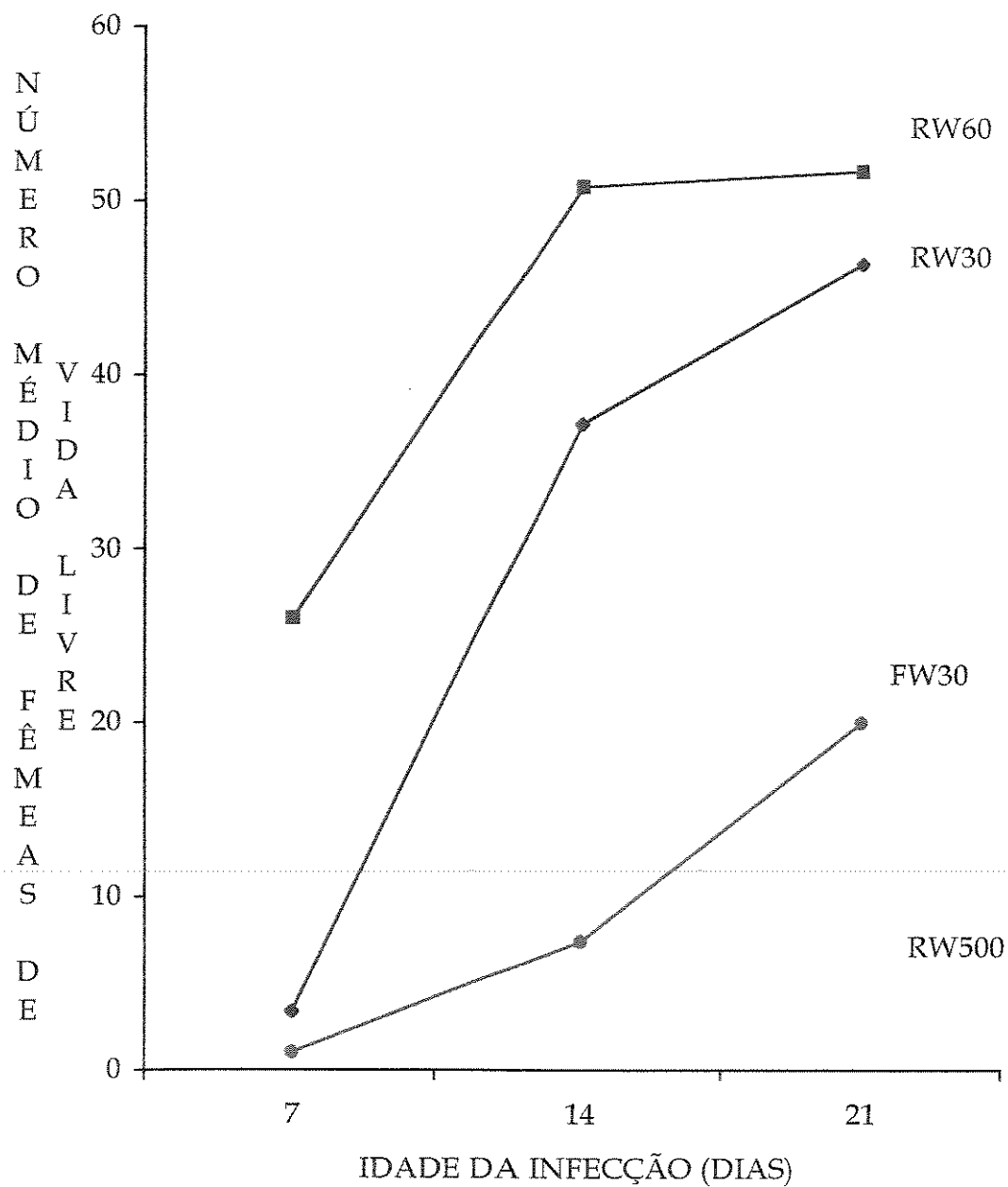
GRUPOS	7º DIA				14º DIA				21º DIA			
	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL
RW30	0,2	2,2	1,0	3,4	4,6	2,0	30,6	37,2	2,4	3,2	40,8	46,4
RW60	3,0	5,0	18,0	26,0	10,4	12,7	27,7	50,9	7,1	10	34,6	51,7
RW500	0,7	0,3	1,0	2,0	1,5	9,0	6,5	17,0	0	1,3	3,0	4,3
FW30	0,0	0,6	0,4	1,0	0,2	2,7	4,5	7,5	4,4	13,8	1,8	20,0

FIGURA 3 - Número médio de larvas filarióides de *Strongyloides venezuelensis* em culturas de carvão animal granulado



As larvas filarióides do grupo RW30 não foram quantificadas.

FIGURA 4 - Número médio de fêmeas de vida livre de *Strongyloides venezuelensis* das culturas em carvão animal granulado



5 – DISCUSSÃO

As medidas dos vermes adultos nos diferentes grupos mostrou, apesar das diferenças nas médias, o mesmo padrão de comportamento. Em todos os grupos o tamanho dos vermes diminuiu com o tempo de infecção, sendo sempre maiores quando recolhidos no 7º dia pós – infecção e menores no 21º dia. A proporção dos diferentes órgãos em relação ao comprimento total também obedeceu um padrão : o esôfago ocupando de 23,9 % a 26,4 % do comprimento total no 7º dia, passando a 30,2 % a 36,7% nos demais dias, com exceção do grupo RW500 que manteve proporção abaixo de 30 % nos três dias de observação.

LITTLE (1966) em seu trabalho sobre morfologia comparativa e redescritção do gênero fornece média de 2,59 mm para comprimento de *S. venezuelensis*, 0,68 mm para comprimento do esôfago e 44 mm para a medida da cauda. Baseado nestas medidas, se calcularmos a porcentagem que o esôfago ocupa em relação ao comprimento total, o valor 26,2 % é semelhante ao de dois grupos do nosso experimento, mas nos exemplares de LITTLE o comprimento da cauda é maior, ocupando 1,7 % do comprimento total.

WERTHEIM (1970) utilizando ratos machos mais jovens, de 60 – 70 g, infectados com 4000 - 5000 larvas relata, para adultos de *S. venezuelensis*, média de 2856 µm de comprimento, 779 µm de comprimento do esôfago, 53 µm de comprimento de cauda e 31 µm de largura do corpo. Se o comprimento destes adultos é semelhante ao RW60 nos 14º e 21º dias pós infecção, que é o grupo formado por ratos de 60 dias de idade e infectados com 3500 larvas, as proporções ocupadas pelo esôfago e pela cauda em relação ao comprimento foram menores quando comparados aos de RW60 nos 14º e 21º dias.

HASEGAWA *et al.* (1988) estudando *S. venezuelensis* isolados de *Rattus norvegicus* e mantidos em ratos Wistar machos descreveram vermes adultos no 15º dia de infecção, como vermes pequenos e filiformes, com esôfago longo e filarióide, vulva posterior à metade do corpo, dividindo o corpo em aproximadamente 2 : 1. O comprimento médio do adulto apresentado pelos autores foi de 2,97 mm, 0,77 mm de comprimento do esôfago, 1,97 mm de vulva e 66,5 µm de cauda. Pelas medidas dos vermes recolhidos no 15º dia de infecção, verifica – se que o comprimento dos vermes é semelhante ao de RW60 no 14º dia, embora o comprimento do esôfago e da vulva sejam menores, ocupando 25,9 % e 66,3 % do comprimento total do corpo. Estes autores não

fizeram referências a idade dos ratos infectados nem à quantidade de larvas infectantes injetadas.

O tamanho diferente dos vermes adultos do nosso experimento, principalmente nos ratos mais velhos, pode ser consequência de respostas imunológicas que afetam, conforme KORENAGA *et al.* (1994) em camundongos, além do comprimento do verme, a fecundidade e a expulsão do verme do intestino. Corroboram a idéia de que fatores imunológicos do hospedeiro alteram o tamanho e a integridade estrutural do adulto, provocando mudanças na rota de desenvolvimento, relatados nos trabalhos desenvolvidos com *S. rattii* (MOQBEL & McLAREN, 1980; MOQBEL *et al.*, 1980 e GEMMIL *et al.*, 1997).

O sexo do hospedeiro, quando utilizado ratos da mesma idade (RW30 e FW30) não influenciou no tamanho dos vermes no início da infecção, mas em infecções mais velhas mostrou diferença significativa. O tamanho do parasita pode sofrer influência de hormônios sexuais do hospedeiro, fatores que se fazem muito mais atuantes com o decorrer da infecção.

O tamanho maior apresentado pelos vermes do grupo RW500, com ratos de 30 dias de idade, deve – se, sem dúvida, ao menor número de espécimes presentes em cada rato, que sem competição acentuada, crescem mais. Interessante observar que é neste grupo que o comprimento médio do esôfago não sofre grandes alterações com os dias de infecção, ocupando sempre mais que 30 % do comprimento total.

A idade do hospedeiro pode ter influenciado no tamanho menor dos vermes de RW60, pois foi o grupo que apresentou a menor média de comprimento em todos os dias de observação. Evidentemente, não se pode descartar a ação de outros fatores no pleno desenvolvimento dos vermes.

Pela descrição de *S. venezuelensis* (LITTLE, 1966) o número de ovos no útero varia de 8 a 12, e estão em fase inicial de clivagem quando eliminados pela fezes.

O número de ovos no útero das fêmeas parasitas no nosso experimento não mostrou correlação com o comprimento do verme, a diminuição do número de ovos em infecções mais velhas está associada a fatores fisiológicos do verme e talvez ainda a fatores do hospedeiro.

A presença maior de ovos/fêmea nos vermes coletados de RW30 em relação a FW30 deve, provavelmente ser devida ao sexo do hospedeiro. Em ambos os grupos foram usados ratos jovens com 30 dias de idade, machos em RW30 e fêmeos em FW30. Os nossos resultados foram semelhantes aos de DAWKINS *et al.* (1980) que trabalhando com *Strongyloides ratti* em camundongos, chegaram a conclusão de que camundongos machos produziam maior número de larvas. No entanto, os nossos dados mostraram que em ratos machos há produção maior de ovos no 7º dia, decaindo bastante no 21º dia, enquanto que em ratos fêmeos o número de ovos produzidos é menor desde o início, mas a queda da produção nos 14º e 21º dias é menos acentuada.

Em relação ao comprimento das larvas observou-se que, apesar de nem sempre apresentar diferença estatisticamente significativa, os vermes originaram larvas maiores no 14º dia, com exceção de um grupo, e larvas no 21º dia eram menores que os de 14º e de 7º dia.

No entanto, em dois grupos o comprimento das larvas do 21º dia não diferiu estatisticamente das larvas de 7º dia e em outros dois grupos diferiram. Da mesma forma em três grupos o comprimento das larvas de 14º dia, apesar de maiores, não diferiu significativamente das de 7º dia e em um grupo a diferença foi significativa. Devido aos testes estatísticos que não mostraram significância estatística, não houve possibilidade de associar conclusivamente o tamanho da larva com idade da infecção, não permitindo afirmar que vermes mais velhos produzem larvas menores.

As larvas filarióides de *Strongyloides venezuelensis* utilizadas para cultura *in vitro* por TSUJI & FUJISAKI (1994) foram obtidas através de cultura de fezes de linhagem mantida em laboratório por passagens em ratos Sprague – Dawley, apresentaram medidas médias de $561 \pm 25, 1 \mu\text{m}$, valor muito inferior aos obtidos nos vários dias dos diferentes grupos.

LITTLE (1966) & WERTHEIM (1970) forneceram para larvas de *S. venezuelensis* os valores médios de 565 e 568 μm de comprimento do corpo, 254 e 251 μm para comprimento de esôfago, 60 μm para medida entre ânus e a cauda e 17,7 e 17 μm de largura respectivamente.

Estes comprimentos, são bem menores que os obtidos no nosso trabalho, que foram sempre maiores que 660 μm . Mas se calcularmos, pelas medidas de LITTLE e

WERTHEIM acima citados, as proporções que esôfago, cauda e largura ocupam em relação ao comprimento, 44,9 %, 10,6 % e 3,1 % correspondem às larvas de RW60 no 21º dia da infecção. LITTLE (1966) não faz referência à idade do hospedeiro, nem a quantidade de larvas infectantes, mas WERTHEIM (1970) utilizou ratos machos jovens, pesando entre 60 e 70 g infectado com 4000 e 5000 larvas.

Larvas recolhidas no 4º dia de cultura, por HASEGAWA *et al.* (1988) em culturas em papel filtro, a partir de fezes de ratos no 15º dia de infecção, apresentaram comprimento médio de 0,59 mm, esôfago de 270,3 µm, comprimento de cauda 63,7 µm, largura de 17,9 µm, com esôfago ocupando cerca de 45 % do comprimento do corpo. As larvas filarióides recolhidas pelos referidos autores apresentaram comprimento total semelhante aos de LITTLE (1966) e WERTHEIM (1970) mas, menores que as observadas por nós, tendo somente o esôfago ocupado proporção semelhante. Estes mesmos autores ainda comparam larvas e adultos de *S. venezuelensis* de Okinawa (Japão) com os dos Estados Unidos e de Israel e atribui as diferenças morfométricas à variações geográficas e/ou linhagens. No entanto, a diferença no comprimento de larvas de HASEGAWA *et al.* (1988) talvez possa ser atribuído ao isolamento mais recente, comparado ao nosso.

Os nossos resultados comprovam que vermes adultos desenvolvidos em ratos mais velhos, de 60 dias de idade, produzem larvas menores, quando comparados com os desenvolvidos em ratos de 30 dias, machos ou fêmeos.

A exceção foi o 14º dia de FW30, com larvas que apresentaram comprimento maior, mas não diferente estatisticamente de RW60. Este resultado comprova, de um modo geral, que as fêmeas parasitas desenvolvidas em hospedeiros mais velhos produziram larvas de comprimento menor. Assim, se a idade da infecção não influenciou de maneira categórica o tamanho da larva produzida, a idade do hospedeiro influenciou no tamanho do verme adulto e da larva dela oriunda, mostrando inclusive, comprimentos semelhantes nos 7º, 14º e 21º dias de infecção.

Não se pode descartar a possibilidade da idade do hospedeiro não influenciar diretamente no tamanho da larva produzida pela fêmea, pois pode ter havido influência de fatores não analisados neste trabalho.

Em relação a influência do sexo do hospedeiro no comprimento das larvas, pode – se deduzir que a produção de larvas mais longas se dá mais tardiamente em ratos fêmeos,

apresentando comprimento maior em infecções de 21 dias, ao contrário das larvas produzidas pelos ratos machos, tanto de 30 ou 60 dias de idade.

Se os vermes adultos recolhidos de infecção com menor quantidade de larvas mostraram comprimento maior, significativamente diferentes dos oriundos de infecção com maior número de larvas ($p = 0,0001$) em todos os dias de observação, o comprimento das larvas não mostrou essa diferença, apresentando distinção apenas em infecções com 14 dias.

Os resultados das culturas mostraram que fêmeas de vida livre aparecem em maior número em infecções mais antigas preferencialmente em hospedeiros mais velhos.

Assim, a idade do hospedeiro aliada à idade da infecção, favoreceram o aparecimento de fêmeas de vida livre. No entanto, os nossos resultados não permitiram associar conclusivamente a presença maior de fêmeas de vida livre com menor número de larvas filarióides nem com menor tamanho dos vermes adultos.

O número de larvas obtidas nas nossas culturas, que indiretamente podem medir a quantidade de ovos eliminadas pelas fezes, segue, de um modo geral, o padrão de eliminação de ovos descritos por TAIRA *et al.* (1995) em ratos infectados com *S. venezuelensis*. Os autores afirmam que ratos infectados com altas doses de larvas infectantes tem altos valores de opg (ovos/grama/fezes), que rapidamente decrescem. No nosso experimento isto se mostrou de forma mais evidente quando foram utilizados ratos com 60 dias de idade, enquanto em ratos infectados com 500 larvas houve decréscimo, mas em menor escala.

Não foi observado óbito devido a infecções pelo parasita ou por causa externa comprovando, ainda, os resultados obtidos por TAIRA *et al.* (1995) que não constatarem quaisquer sinais clínicos, exceto uma coceira transitória nos ratos, mesmo naqueles submetidos a infecções com grandes quantidade de larvas de *S. venezuelensis*. Segundo estes autores a LD₅₀ (dose letal) de *S. venezuelensis* em ratos foi estimada em 2.244.000 larvas/kg/peso do corpo.

As culturas na proporção de 3 partes de carvão para 1 de fezes foram as que proporcionaram a produção de maior número de fêmeas de vida livre em quase todos os grupos, seguidos das culturas 6 : 1 também na grande maioria dos grupos. Culturas na proporção 3 : 1 podem ser interpretadas como as que proporcionaram maior disponibilidade

de matéria orgânica, tornando o meio mais favorável a obtenção do alimento e assim favorecendo o desenvolvimento de fêmeas de vida livre.

Mas, em alguns grupos (RW30 - 7º dia, FW30 - 7º e 21º dia, RW500 - 14º dia) houve produção maior de fêmeas de vida livre em culturas feitas na proporção 6 : 1, embora em pequeno número.

Em culturas de fezes utilizando carvão animal granulado, a proporção de carvão em relação a fezes teve grande influência no desenvolvimento de formas de vida livre, mas, sem dúvida, não é o tipo de cultura isoladamente a responsável pelo aparecimento de maior número de fêmeas de vida livre.

Quando comparados o número de vida livre originários de ratos machos de 30 dias, infectados com número diferentes de larvas infectantes (3.500 e 500), observa-se que em infecções com 500 larvas o número de fêmeas foi muito menor em todos os dias de observação, e especialmente no 21º dia. Um maior número de larvas infectantes injetadas em ratos, ou seja, a intensidade maior da infecção favoreceu o aparecimento de formas de vida livre. A intensidade menor de infecção, em ratos, pode ser interpretada como condição favorável ao direcionamento para o ciclo direto.

Nossos resultados mostraram que em infecções realizadas em condições semelhantes, usando ratos da mesma idade e mesma quantidade de larvas infectantes, o sexo do hospedeiro influenciou no aparecimento de fêmeas de vida livre. Os ratos fêmeos produziram número bastante inferior de fêmeas de vida livre quando comparado aos ratos machos.

HANSEN *et al.* (1969), trabalhando com *S. fuelleborni*, constataram que as condições da cultura influenciam a produção de formas de vida livre, com maior número de adultos em fezes “espessas” (fezes aplicadas em ágar) onde há menor quantidade de oxigênio. Nessas condições ocorreram sucessivas gerações de fêmeas.

No nosso trabalho a condição de “fezes espessas” pode ser interpretada como a de menor quantidade de carvão, a proporção de 3 partes de carvão para 1 de fezes, que favoreceu o aparecimento das fêmeas de vida livre.

HASEGAWA *et al.* (1988) relataram, em culturas em papel filtro, que fêmeas de vida livre de *S. venezuelensis* foram raramente observadas, a despeito de repetidas tentativas utilizando vários métodos. Relataram também a coleta de somente fêmeas de

vida livre no experimento realizado, apesar de, segundo eles, ser freqüente o desenvolvimento de adultos de vida livre, especialmente machos, em culturas de *S. venezuelensis* de Okinawa.

Nossos resultados corroboram os de HASEGAWA *et al.* (1988) apenas no tocante à ausência de machos, uma vez que fêmeas de vida livre estavam presente em todos os grupos, embora mais freqüentes em ratos mais velhos.

6 - CONCLUSÕES

- Adultos de *S. venezuelensis* obtidos de infecções em ratos mais velhos, de 60 dias de idade, apresentaram menor comprimento.
- Adultos recolhidos de infecções menos intensas, ou seja, de ratos infectados com quantidade menor de larvas apresentaram comprimento maior.
- O sexo do hospedeiro não afeta aparentemente o comprimento do verme adulto em ratos mais jovens. Em ratos mais velhos, porém, este parâmetro se altera.
- Larvas filarióides produzidas por parasitas recolhidos de hospedeiros de 60 dias de idade mostraram menor comprimento.
- O número de fêmeas de vida livre foi maior em culturas de fezes oriundas de ratos mais velhos, de 60 dias de idade.
- O número de fêmeas de vida livre foi maior nas culturas com proporção de 3 partes de carvão para 1 de fezes
- O número de fêmeas de vida livre aumenta com a idade da infecção.
- A maior intensidade de infecção favorece o aparecimento de fêmeas de vida livre.
- Adultos recolhidos de hospedeiros fêmeos produziram menor quantidade de fêmeas de vida livre.

7 - RESUMO

O nematódeo *Strongyloides venezuelensis* alterna, no decorrer do seu ciclo de vida, gerações parasita e de vida livre, sofrendo influência de fatores ambientais externos e outros relacionados ao hospedeiro vertebrado. A geração parasita é constituída somente por fêmeas adultas e a de vida livre por machos e fêmeas. Dos ovos eclodem larvas que se tornam filarióides por ciclo direto ou adultos sexuais por ciclo indireto. Parâmetros morfométricos das fêmeas parasitas e de larvas filarióides oriundas das culturas de carvão animal granulado, em intervalos de 7, 14 e 21 dias, serviram para evidenciar o grau de atuação de fatores do meio externo (quantidade de alimento nas culturas) e relacionados ao hospedeiro (sexo e idade).

Os estudos foram feitos em 4 grupos experimentais, usando ratos Wistar, SPF, machos e fêmeas infectados, subcutaneamente, com 500 e 3500 larvas filarióides. Após o intervalo de 7, 14 e 21 dias, as larvas filarióides e as formas de vida livre foram recolhidas das culturas pelo método de Rugai e as formas parasitas do intestino dos ratos, por necrópsia dos animais. Ambas foram mortas pelo calor e fixadas em TAF. Posteriormente, 30 exemplares de larvas e fêmeas de cada dia de infecção de cada grupo foram desenhadas em câmara clara e medidas com curvímeter e mesa digitalizadora, para análise morfométrica.

Sendo assim, nossos resultados evidenciaram que a idade e o sexo do hospedeiro podem alterar o comprimento e as proporções do esôfago e cauda nas larvas e o comprimento, o esôfago e a distância da abertura da vulva nos adultos. Os adultos obtidos de infecções em ratos mais velhos, apresentaram menor tamanho e nas infecções menos intensas o comprimento foi maior. O sexo do hospedeiro aparentemente não afetou o tamanho do adulto, exceto em infecções mais antigas; porém, produziu menor número de fêmeas de vida livre nos hospedeiros fêmeas. A duração e a intensidade da infecção no comportamento de *Strongyloides venezuelensis* no hospedeiro comprovou que, em infecções mais antigas, aumenta o número de formas de vida livre em cultura, principalmente em ratos mais velhos.

Neste trabalho, o meio de cultura demonstrou influenciar o aparecimento das formas de vida livre, principalmente onde houve maior disponibilidade de alimento nas fezes dos hospedeiros, que faziam parte do meio de cultura (3 partes de carvão : 1 parte de fezes).

8 – ABSTRACT

“Influence of the infection age of *Strongyloides venezuelensis* Brumpt, 1934 (Nematoda : Rhabditida) and external environmental factors in free – living forms development ”

During its life cycle, the nematode *Strongyloides venezuelensis* alternates, parasite and free – living generations, under influence of external environmental factors and others related to vertebrate host. The parasite generation is composed of only adults female and free – living for males and females. As of eggs hatches larvae becoming infective larvae by direct cycle or sexual adults by indirect cycle. Morfometric parameters of females adults and the infective larvae derived from animal granulated charcoal cultures, at space between 7, 14 and 21 days, served for evidence the grade of actuation the external environmental factors (quantity for food in the cultures) and related for host (sex and age).

The studies were done with 4 experimental groups, utilized Wistar rats, SPF, males and females infected, subcutaneously, with 500 and 3500 infective larvae. In the space of 7th, 14th and 21th days, the infective larvae and free – living forms went removed in the cultures by Rugai's method and parasites forms from rats intestine, by necropsy for animals. Both killed for heat and fixed in TAF. Posteriorly, thirty larvae and adult females examples in every infection day in each group went pictured in camera lucida and measured with curvimeter and digital board, for morfometric analysis.

Thus, our results evidenced wich the age and the host sex can be change the length and the esophagus and tail proportions in the larvae and the lenght, esophagus and the vulva opening in the adults. The adults derived by infections in older rats, presented smaller size and in less intensive infections the length were higher. Apparently, the host sex don't to affect the adult size, except in older infections; but produced a minor number of free – living females from female hosts.

The duration and the intensity of infection *Strongyloides venezuelensis* in the host behaviour wished corroborate which, in older infections, increase the number of free – living forms in culture, mainly in older rats.

In **this** work, the culture medium showed the development of free – living forms, mainly where there was high disponibility of food in the feces hosts as part of culture medium (3 charcoal parts : 1 feces).

9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS :

- ALBERTSON DG, NWAORGU OC , SULSTON JE 1979. Chromatin diminution and a chromosomal mechanism of sexual differentiation in *Strongyloides papillosus*. *Chromosoma* 75 : 75 - 87.
- ARIZONO N 1976. Studies on the free - living generations of *Strongyloides planiceps* Roger 1943 II. Effect of temperature on the development types. *Jap J Parasitol* 25 : 328 - 335.
- BOLLA RI , ROBERTS LS 1968. Gametogenesis and chromosomal complement in *Strongyloides ratti* (Nematoda : Rhabdiasoidea). *J Parasitol* 54 : 849 - 855.
- BROWN RC , GIRARDEAU MHF 1977. Transmammary passage of *Strongyloides* sp larvae in human host. *Am J Trop Med Hyg* 26 : 215 - 219.
- CABLE RM 1971. Parthenogenesis in parasitic helminths. *Am Zool* 11 : 267 - 272.
- CASTANHO REP 1983. Contribuição ao estudo sobre o determinismo dos ciclos homogônico e heterogônico dos parasitas do gênero *Strongyloides* Grassi, 1879. São Paulo [Tese de Mestrado - Instituto de Ciências Biociências da Universidade de São Paulo].
- CHANG CH, GRAHAM GL 1957. Parasitism, parthenogenesis and polyploid : the life cycle of *Strongyloides papillosus* . *J Parasitol* 43 : 13.
- DAWKINS HJS , GROVE DI, DUNSMORE JD , MITCHELL GF 1980. *Strongyloides ratti* : susceptibility to infection and resistance to reinfection in inbred strains of mice as assessed by excretion of larvae. *Int J Parasitol* 10 : 125 - 129.

- FAUST EC 1933. Experimental studies on human and primate species of *Strongyloides* II. The development of *Strongyloides* in the experimental host. **Am J Hyg** 18 : 114 - 132.
- GALLIARD H 1967. Pathogenesis of *Strongyloides* . **Helminthol Abstracts** 36 : 247 - 260.
- GEMMIL AW , VINEY ME, READ AF 1997. Host immune status determines sexuality in a parasitic nematode. **Evolution** 51 : 393 - 401.
- GILL GV, BELL DR 1979. *Strongyloides stercoralis* infection in former Far East prisoners of war. **British Med J** 2 : 572 - 574.
- GRAHAM GL 1936. Studies on *Strongyloides* : I. *S. ratti* in parasitic series each generations in the rat established with a single homogonic larvae. **Am J Hyg** 24: 71 - 87.
- GROVE DI 1980. Strongyloidiasis in allied ex - prisoners of war in south-east Asia. **British Med J** 280 : 598 - 601.
- GROVE DI 1996. Human strongyloidiasis. **Adv Parasitol** 38 : 252 - 309.
- HAMMOND MP, ROBINSON RD 1994. Chromosome complement gametogenesis and development of *Strongyloides stercoralis*. **J Parasitol** 80 : 689 - 695.
- HANSEN EL, BUECHER EJ, CRYAM WS 1969. *Strongyloides fuelleborni* : environmental factors and free - living generations. **Exp Parasitol** 26 : 336 - 343.

- HASEGAWA H , ORIDO Y , SATO Y, OTSURA M 1988. *Strongyloides venezuelensis* BRUMPT (Nematoda : Strongyloididae) collected from *Rattus norvegicus* in Naha (Okinawa, Japan). *Jap J Parasitol* 37 : 429 – 434.
- KAWANABE M , NOJIMA H, UCHIKAWA R 1988. Transmammary transmission of *Strongyloides ratti* . *Parasitol Research* 75 : 50 – 56.
- KORENAGA M , HITOSHI Y , TAKATSU, TADA I 1994. Regulatory effect of anti – interleukin – 5 monoclonal antibody on intestinal worm burden in a primary infection with *Strongyloides venezuelensis* in mice. *Int J Parasitology* 24 : 951 – 957.
- KRIES A 1932. Studies on the genus *Strongyloides* (Nematoda). *Am J Hyg* 16 : 450 – 491.
- LITTLE MD 1962. Experimental studies on the life cycle of *Strongyloides*. *J Parasitol* 48 : 41.
- LITTLE MD 1966. Comparative morfology of six species of *Strongyloides* (Nematoda) and redefinition of the genus. *J Parasitol* 52 : 69 – 84.
- LOOSS A 1911. The anatomy and life history of *Ancylostoma duodenale* Dub. A monography . Part II. The development in the free state. Translated from the German by M. Bernhard Rec School Med Egyptian Min Educ National Printing Press , Cairo v4 p. 163 – 613.

- MINEMATSU T, YAMAZAKI S , UJI Y , OKABE H , KORENAGA M, TADA I
1990. Analysis of polyunsaturated fatty acid composition of *Strongyloides ratti* in relation to development. *J Helminthol* 64 : 303 – 309.
- MONCOL DJ, TRIANTAPHYLLOU AC 1978. *Strongyloides ransomi*: factors influencing the *in vitro* development of the free - living generation. *J Parasitol* 64 : 220 – 225.
- MOQBEL R, McLAREN DL 1980. *Strongyloides ratti* : structural and functional characteristics of normal and immune – damaged worms. *Exp Parasitol* 49 : 139 – 152.
- MOQBEL R , McLAREN DL, WAKELIN D 1980. *Strongyloides ratti* : reversibility of immune damage to adult worms . *Exp Parasitol* 49 : 153 – 166.
- MORAES RG 1948. Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da estrogiloidíase no Brasil (Tese de Mestrado). *Rev Serv Esp S Pub* 1 : 507 – 624.
- NIGON V 1965. Développement et reproduction des nématodes . *In* Traité de zoologie IV P Grassé (ed) Masson , Paris - France p. 218 – 386.
- NIGON V, ROMAN E 1952. Le déterminisme du sexe et le développement cyclique de *Strongyloides ratti* . *Bull Biol Fr Belg* 86 : 404 – 448.
- NOJIMA H, NODA S , KAWANABE M, SATO A 1987. Larval migration of *Strongyloides ratti* with reference to esophagus lenght. *J Parasitol* 73 : 228 – 230.

- NOLAN JT, KATZ FF 1981. Transmammary transmission of *Strongyloides venezuelensis* (Nematoda) in rats. **Proc Helmintol Soc** 48 : 09 – 12.
- NWAORGU OC 1983. The development of the free – living stages of *Strongyloides papillosus*. I - Effect of temperature on the development of the heterogonic and homogonic nematodes in faecal culture. **Vet Parasitol** 13 : 213 – 223.
- PELLETIER LL Jr 1984. Chronic strongyloidiasis in a World War II far East ex – prisoners of war. **Am J Trop Med Hyg** 33 : 55 – 61.
- RUGAI E, MATTOS T, BRISOLA AP 1954. Nova técnica para isolar larvas e nematóides das fezes – modificação do método de Baermann. **Rev Inst Adolfo Lutz** 14 : 5 – 8.
- SANDGROUND JH 1926. Biological studies on the life - cycle in the genus *Strongyloides* Grassi 1879. **Am J Hyg** 6 : 337 – 387.
- SAS INSTITUTE INC 1986. SAS User's Guide Statistics : Version 6th Ed. Cary North Carolina USA .
- SOROCZAM W 1977. The life cycle of *Strongyloides stercoralis* STILES ET HASSAL 1902 (Nematoda - Strongyloididae) in the temperate climatic zone. **Acta Parasitol Polonica** 24 : 259 – 267.
- TAIRA N, NAKAMURA Y, ALMEIDA MH O, SAEKI H 1995. Massive experimental infection with *Strongyloides venezuelensis* in rats and absence of sudden death. **J Vet Med Sci** 57 : 855 – 858.

- TAYLOR KA , WEINSTEIN PP 1990. The effect of oxygen and carbon dioxide on the development of the free - living stages of *Strongyloides ratti* in axenic culture. **J Parasitol** 76 : 545 - 551.
- TRANTAPHYLLOU AC, MONCOL DJ 1977. Cytology, reproduction and sex determination of *Strongyloides ransomi* and *S. papillosus*. **Parasitol** 63 : 961 - 973.
- TSUJIN , FUJISAKI K 1994. Development *in vitro* of free - living infective larvae to the parasitic stage of *Strongyloides venezuelensis* by temperature shift. **Parasitol** 109 : 643 - 648.
- VINEY ME , MATHEWS BE, WALLIKER D 1993. Mating in the nematode parasite *Strongyloides ratti* : proof of genetic exchange. **Proc Royal Soc London B** 254 : 213 - 219.
- VINEY ME 1994. A genetic analysis of reproduction in *Strongyloides ratti*. **Parasitol** 109 : 511 - 515.
- VINEY ME 1999. Exploiting in the life cycle of *Strongyloides ratti*. **Parasitol Today** 15 : 231 - 235.
- WERTHEIM G 1970. Growth and development of *Strongyloides venezuelensis* (BRUMPT , 1934) in the albino rat. **Parasitol** 61 : 381 - 388.
- YAMADA M , MATSUDA S , NAKAZAWA M , ARIZONO N 1991. Species - specific differences in heterogonic development of serially transferred free - living generations of *Strongyloides planiceps* and *Strongyloides stercoralis*. **J Parasitol** 77 : 592 - 594.

ZAFFAGNINI F 1973. Parthenogenesis in the parasitic and free - living forms of *Strongyloides papillosus* (Nematoda - Rhabdiasoidea). *Chromosoma* 40 : 443 - 450.

10. ANEXOS

A seguir, os dados originais de cada grupo experimental.

**ANEXO 1 : INFECÇÕES EM RATOS WISTAR MACHOS DE 30 DIAS DE IDADE
INFECTADOS COM 3500 LARVAS FILARIÓIDES DE *Strongyloides venezuelensis* -
RW30**

A quantificação das L3 não foi realizada neste grupo.

**Tabela I - Medidas, em μm , das larvas filarióides de *Strongyloides venezuelensis*
extraídas de culturas em carvão animal granulado - RW30**

RÉPLICAS	7º DIA				14º DIA				21º DIA			
	CTF	CEF	CCF	LAF	CTF	CEF	CCF	LAF	CTF	CEF	CCF	LAF
1	650,8	300,0	38,2	16,6	671,6	310,0	36,7	16,5	670,0	295,0	36,1	15,3
2	703,3	323,3	41,6	18,1	703,3	306,7	42,4	15,3	690,0	311,7	36,9	14,9
3	698,3	318,3	36,7	15,3	718,3	301,7	41,9	15,3	690,0	301,7	34,9	13,4
4	700,0	300,0	43,6	15,6	711,6	311,7	40,3	16,2	*	*	*	*
5	696,6	310,0	37,0	16,7	690,0	335	43,7	16,4	*	*	*	*
6	716,6	325,0	40,7	16,0	723,3	323,3	43,2	16,6	666,7	303,3	37,4	15,2
7	711,6	316,6	39,7	13,8	660,0	301,7	40,2	17,5	655,0	301,7	37,3	15,8
8	661,6	296,6	35,8	15,0	671,6	303,3	38,9	16,4	681,6	338,3	39,0	17,0
9	683,3	308,3	39,18	16,73	678,3	301,7	40,07	16,9	678,3	308,3	41,67	18,1
10	698,3	308,3	38,45	13,8	694,6	317,9	36,73	16,0	671,7	302,5	39,6	17,2
MÉDIA	692,0	310,6	39,1	15,7	692,2	311,3	40,4	16,3	675,4	307,8	37,8	15,8
DP	21,0	9,9	2,4	1,4	21,7	11,1	2,5	0,67	11,9	13,3	2,1	1,5

CTF = comprimento total; CEF = comprimento do esôfago (distância da extremidade anterior até o esôfago); CCF = comprimento da cauda (distância do ânus até a extremidade posterior); LAF = largura; DP = desvio padrão

* Nestes dias não apareceram larvas nas culturas.

Tabela II – Medidas, em µm, de fêmeas parasitas de *Strongyloides venezuelensis* de ratos Wistar machos de 30 dias de idade infectados com 3500 larvas filarióides – RW30

RÉPLICAS	7º DIA				14º DIA				21º DIA			
	CT	CE	CV	AN	CT	CE	CV	AN	CT	CE	CV	AN
1	3453,3	926,6	2239,3	9,8	3250	951,7	2281,7	10,0	3316,7	986,7	2280,0	10,0
2	3510,0	920,0	2320,7	10,0	3413,3	956,7	3020,0	10,0	3006,7	996,7	2083,3	10,0
3	3716,7	943,3	2474,1	10,0	3190,0	966,7	2180,0	10,0	3170,0	996,7	2183,3	10,0
4	3473,3	913,3	2317,2	10,0	2713,3	913,3	1906,7	10,0	1923,3	650,0	1280,0	10,0
5	3373,3	973,3	2253,3	10,0	2950,0	916,7	2013,3	10,0	2813,3	966,7	1900,0	10,0
6	3510,0	913,3	2303,3	10,0	3263,3	913,3	2206,7	10,0	2573,3	916,7	1773,3	10,0
7	3456,7	840,0	2323,3	10,0	3143,3	986,7	2096,4	10,0	2820,0	1000	1873,3	10,0
8	3590,0	870,0	2425,0	10,0	3116,7	983,3	2100	10,0	2613,3	846,7	1740,0	10,0
9	3403,3	843,3	2256,7	10,0	3270,0	930,0	2233,3	10,0	2493,3	986,7	1713,3	10,0
10	3213,3	926,7	2142,9	10,0	2863,3	915,0	1933,3	10,0	3050,0	926,6	2074,1	7,7
MÉDIA	3470,0	906,9	2305,6	9,9	3117,3	943,3	2197,1	10	2778,0	927,3	1890,1	9,7
DP	132,7	43,0	93,8	0,1	213,8	29,3	315,0	0	401,9	109,1	288,5	0,7

CT = comprimento total; CE = comprimento do esôfago (distância da extremidade anterior até o esôfago); CV = abertura da vulva (distância da extremidade anterior até a vulva); AN = ânus (distância da abertura do ânus até a extremidade posterior); DP = desvio padrão.

Tabela III - Número médio de ovos nos ramos anterior e posterior do útero das fêmeas parasitas de *Strongyloides venezuelensis* - RW30

RÉPLICAS	7º DIA		14º DIA		21º DIA	
	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior
1	5,5	5	2	1,5	2,5	1,5
2	4	5,5	3	3	1	1,5
3	6,5	3,5	1,5	0	2,5	2
4	3	2	2	1	0	0
5	4,5	1,5	1	1,5	1	0
6	3	2,5	3,5	2,5	3	1,5
7	5,5	1,5	3	1,5	0	0,5
8	2	2	1	1,5	2,5	1,5
9	2,5	3	4	2	0	0
10	3,2	1,7	1,7	1,3	2,9	1,5
MÉDIA	3,9	2,8	2,3	1,6	1,5	1
DP	1,4	1,4	0,9	0,7	1,2	0,7

DP = desvio padrão

Tabela IV – Número médio de fêmeas de vida livre de *Strongyloides venezuelensis* em culturas de diferentes proporções de carvão animal granulado (carvão : fezes) – RW30

RÉPLICAS	7° DIA				14° DIA				21° DIA			
	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL
3	X	X	X	X	X	23	X	23	11	23	173	207
4	8	11	4	23	11	10	12	33	0	0	0	0
5	4	14	10	28	30	23	4	57	0	0	0	0
6	4	5	1	10	1	5	27	33	16	18	40	74
7	2	2	1	5	23	0	25	48	3	28	37	68
8	0	1	1	2	5	24	25	54	1	3	19	23
9	2	1	103	106	2	16	101	119	2	2	0	4
10	1	1	6	8	1	1	0	2	24	6	8	38
MÉDIA	3	5	18	26	10.4	12.7	27.71	46.1	7.1	10	34.6	51.7

X = dados não quantificados

Observação: as réplicas 1 e 2 não tiveram o número de fêmeas de vida livre quantificados.

ANEXO 2 - INFECÇÕES EM RATOS WISTAR DE 60 DIAS DE IDADE COM 3500 LARVAS FILARIÓIDES DE
Strongyloides venezuelensis - RW60

Tabela V – Medidas médias, em µm, das larvas filarióides de *Strongyloides venezuelensis* de culturas com 3 dias de incubação - RW60

RÉPLICAS	7º DIA				14 º DIA				21 º DIA			
	CTF	CEF	CCF	LAF	CTF	CEF	CCF	LAF	CTF	CEF	CCF	LAF
1	711,6	320,0	38,14	19,4	675,0	305,0	31,6	15,4	625,0	273,0	34,8	34,1
2	645,0	296,7	42,86	12,7	653,3	298,3	68,7	20,3	675,0	301,7	41,4	14,7
3	666,7	296,7	43,69	11,3	643,3	296,7	41,4	11,2	688,3	308,3	43,0	22,2
4	656,7	303,3	40,61	16,3	658,3	300,0	44,3	22,5	631,7	290,0	36,5	15,4
5	660,0	291,7	38,61	11,0	743,3	335,0	50,4	23,8	690,0	306,7	36,6	16,8
MÉDIA	668,0	301,6	40,7	14,2	674,6	307,0	47,3	18,6	662,0	295,9	38,5	20,6
DP	25,6	11,0	2,5	3,6	40,0	15,9	13,7	5,2	31,3	14,7	3,5	8,1

CTF = comprimento total; CEF = comprimento do esôfago (distância da extremidade anterior até o esôfago); CCF = comprimento da cauda (distância do ânus até a extremidade posterior); LAF = largura; DP = desvio padrão.

Tabela VI – Medidas médias, em µm, de fêmeas parasitas de *Strongyloides venezuelensis* de ratos infectados com 3500 larvas filarióides – RW60

RÉPLICAS	7º DIA				14º DIA				21º DIA			
	CT	CE	CV	AN	CT	CE	CV	AN	CT	CE	CV	AN
1	3376,7	936,6	2240,0	10,0	2886,7	896,6	1890,0	10,0	2676,7	1013,3	1789,0	10,0
2	3420,0	846,7	2310,0	10,0	2356,7	923,3	1606,9	10,0	2930,0	973,3	1970,0	10,0
3	3316,7	870,0	2210,0	10,0	2750,0	913,3	1856,7	10,0	2800,0	963,3	1793,3	10,0
4	2933,3	836,7	1886,7	10,0	3060,0	956,7	2090,0	10,0	2606,7	953,3	1756,7	10,0
5	3536,7	896,7	2355,2	10,0	2583,3	953,3	1760,0	10,0	3063,3	1036,7	2030,0	10,0
MÉDIA	3316,7	877,3	2200,4	10,0	2727,3	928,6	1840,7	10,0	2815,3	987,9	1867,8	10,0
DP	228,9	40,4	184,4	0	271,4	25,9	177,5	0	185,5	35,5	123,3	0

CT = comprimento total; CE = comprimento do esôfago (distância da extremidade anterior até o esôfago); CV = abertura da vulva (distância da extremidade anterior até a vulva); AN = ânus (distância da abertura do ânus até a extremidade posterior); DP = desvio padrão.

Tabela VII – Número de ovos nos ramos anterior e posterior do útero das fêmeas parasitas de *Strongyloides venezuelensis* em ratos de 60 dias de idade - RW60

RÉPLICAS	7º DIA		14º DIA		21º DIA	
	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior
1	1,83	0,76	1,93	1,13	1,03	0,56
2	4,13	1,93	0,34	0,24	1,56	0,6
3	2,47	1,73	2	2,1	0,5	1,23
4	1,4	1,3	2,87	1,5	1,2	0,9
5	3,13	1,86	1,13	0,76	0,96	0,96
MÉDIA	2,6	1,5	1,6	1,1	1,0	0,8
DP	1,1	0,5	0,9	0,7	0,4	0,3

DP = desvio padrão.

Tabela XVIII – Número médio de larvas filarióides encontradas em culturas de carvão animal granulado (carvão : fezes)
incubadas por 3 dias – FW30

RÉPLICAS	7 ° DIA				14 ° DIA				21 ° DIA			
	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL
1	7200	8400	9200	24800	X	X	X	X	2400	6000	4400	12800
2	6400	1200	0	7600	83200	32400	48000	163600	7200	42800	72000	122000
3	37200	22400	29600	89200	4400	7600	6000	18000	1600	400	4000	6000
4	30400	74400	36000	140800	800	48400	70400	119600	51200	9600	4800	65600
5	26400	68400	18800	113600	25600	20800	22800	69200	3200	10400	800	14400
MÉDIA	21520	34960	18720	75200	28500	27300	36800	92600	13120	13840	17200	44160

X = dados não quantificados

Tabela IX – Número médio de fêmeas de vida livre de *Strongyloides venezuelensis* em culturas de diferentes proporções de carvão animal granulado (carvão : fezes) – RW60

RÉPLICAS	7º DIA				14º DIA				21º DIA			
	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL
1	0	4	0	4	0	4	1	5	1	0	1	1
2	0	1	0	1	0	0	0	0	0	5	0	5
3	0	0	1	1	1	5	38	44	6	10	196	212
4	1	6	4	11	0	0	0	0	5	1	2	8
5	0	0	0	0	22	1	114	137	0	0	5	5
MÉDIA	0,2	2,2	1	3,4	4,6	2	30,6	37,2	2,4	3,2	40,8	46,2

ANEXO 3 - INFECÇÕES EM RATOS WISTAR MACHOS DE 30 DIAS DE IDADE COM 500 LARVAS FILARIÓIDES DE

Strongyloides venezuelensis - RW500

Tabela X - Medidas, em μm , das larvas filarióides de *Strongyloides venezuelensis* de culturas com 3 dias de incubação - RW500

RÉPLICAS	7º DIA				14º DIA				21º DIA			
	CTF	CEF	CCF	LAF	CTF	CEF	CCF	LAF	CTF	CEF	CCF	LAF
1	683,3	316,7	42,1	17,1	680,0	303,3	41,2	15,9	663,3	296,7	49,1	16,9
2	675	306,7	47,1	16,7	X	X	X	X	680,0	305,0	47,0	15,9
3	678,3	308,3	50,7	16,21	728,3	335,0	50,1	15,7	690,0	310	44,2	17,1
MÉDIA	678,8	310,6	46,6	16,6	704,1	319,1	45,6	15,8	677,7	303,9	46,7	16,6
DP	4,2	5,4	4,3	0,4	34,1	22,4	6,3	0,1	13,5	6,7	2,5	0,6

CTF = comprimento total; CEF = comprimento do esôfago (distância da extremidade anterior até o esôfago); CCF = comprimento da cauda (distância do ânus até extremidade posterior); LAF = largura; DP = desvio padrão.

X = dados não quantificados.

Tabela XI – Medidas médias, em µm, das fêmeas parasitas de *Strongyloides venezuelensis* de ratos de 30 dias de idade infectados com 500 larvas filarióides – RW500

RÉPLICAS	7º DIA				14º DIA				21º DIA			
	CT	CE	CV	AN	CT	CE	CV	AN	CT	CE	CV	AN
1	3586,7	866,7	2343,3	10,0	3616,7	833,3	2369,0	10,0	3290,0	900,0	2227,6	10,0
2	3546,7	866,6	2360,0	10,0	3486,7	910,0	2356,7	10,0	3360,0	960,0	2282,8	10,0
3	3663,3	846,7	2410,0	10,0	2926,7	910,0	1926,7	10,0	3476,7	896,7	2323,3	10,0
MÉDIA	3598,9	860,0	2371,1	10,0	3343,4	884,4	2217,5	10,0	3375,6	918,9	2277,9	10,0
DP	59,2	11,5	34,7	0	366,6	44,3	251,9	0	94,4	35,6	48,0	0

CT = comprimento total; CE = comprimento do esôfago (distância da extremidade anterior até o esôfago); CV = abertura da vulva (distância da extremidade anterior até a vulva); AN = ânus (distância da abertura do ânus até a extremidade posterior); DP = desvio padrão.

Tabela XII - Número de ovos nos ramos anterior e posterior do útero das fêmeas parasitas de *Strongyloides venezuelensis* em ratos de 30 dias de idade - RW500

RÉPLICAS	7º DIA		14º DIA		21º DIA	
	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior
1	2,5	2,5	3,7	2,8	2,4	1,8
2	2,1	1,9	4,2	2,4	3,3	1,9
3	4,2	2,2	2,0	2,1	1,9	1,5
MÉDIA	2,9	2,2	3,3	2,4	2,5	1,7
DP	1,1	0,3	1,1	0,5	0,6	0,2

DP = desvio padrão.

Tabela XIII – Número médio de larvas filariíóides encontradas em culturas de carvão animal granulado (carvão : fezes)
incubadas por 3 dias - RW500

RÉPLICAS	7º DIA				14º DIA				21º DIA			
	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL
1	18800	10400	5200	34400	12800	4400	10800	28000	4400	3200	3200	10800
2	12400	11200	5200	28800	X	X	X	X	2800	4400	1600	8800
3	24400	20400	14800	59600	2000	3600	1600	7200	2800	16800	14400	34000
MÉDIA	18533,3	14000	8400	40933,3	7400	4000	6200	11733,3	3333,3	8133,3	6400	17866,7

X = dados não quantificados

Tabela XIV – Número médio de fêmeas de vida livre de *Strongyloides venezuelensis* em culturas de diferentes proporções de carvão animal granulado (carvão : fezes) – RW500

RÉPLICAS	7 ° DIA				14 ° DIA				21 ° DIA			
	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL
1	0	0	1	1	0	0	2	2	0	0	2	2
2	2	1	2	5	X	X	X	X	0	3	1	4
3	0	0	0	0	3	18	11	32	0	1	6	7
MÉDIA	0,67	0,33	1	2	1,5	9	6,5	17	0	1,33	3	4,33

X = dados não quantificados

ANEXO 4 : INFECÇÕES EM RATOS WISTAR FÊMEAS DE 30 DIAS DE IDADE INFECTADOS COM 3500 LARVAS
FILARIÓIDES DE *Strongyloides venezuelensis* – FW30

Tabela XV – Medidas médias, em µm, das larvas filarióides de *Strongyloides venezuelensis* de culturas com 3 dias de incubação – FW30

RÉPLICAS	7º DIA			14º DIA			21º DIA		
	CTF	CEF	CCF	LAF	CTF	CEF	CCF	LAF	LAF
1	683,3	301,7	46,7	17,4	X	X	X	X	17,5
2	686,7	300	46,2	21,3	680,0	305	52,1	16,9	15,5
3	690	306,7	48,3	22,7	691,7	316,7	53,2	15,7	16,3
4	688,3	308,3	48,7	26,8	703,3	318,3	X	X	18,4
5	665,0	305,0	45,8	16,8	710,0	325,0	47,9	17,6	18,3
MÉDIA	682,6	304,3	47,2	21	696,2	316,2	51,0	16,7	17,2
DP	10,1	3,4	1,2	4,1	13,2	8,3	2,7	0,9	1,2

CTF = comprimento total; CEF = comprimento do esôfago (distância da extremidade anterior até o esôfago); CCF = comprimento da cauda (distância do ânus até a extremidade posterior); LAF = largura

X = dados não quantificados; DP = desvio padrão.

Tabela XVI – Medidas médias, em µm, das fêmeas parasitas de *Strongyloides venezuelensis* de ratos infectados com 3500 larvas filarióides – FW30

RÉPLICAS	7º DIA				14º DIA				21º DIA			
	CT	CE	CV	AN	CT	CE	CV	AN	CT	CE	CV	AN
1	3440,0	890,0	2266,7	10,0	X	X	X	X	3280,0	976,7	2173,3	10,0
2	3743,3	880,0	2550,0	10,0	2916,7	910,0	1990,0	10,0	3306,7	1000,0	2146,7	10,0
3	3563,3	900,0	2400,0	10,0	3256,7	930,0	2186,7	10,0	2836,7	970,0	1883,3	10,0
4	2986,7	816,7	1960,0	10,0	2866,7	893,3	1916,7	10,0	3326,7	1020,0	2226,7	10,0
5	3850	930	2576,7	10,0	2916,7	956,7	1983,3	10,0	2560,0	966,7	1720	10,0
MÉDIA	3516,7	883,3	2350,7	10,0	2989,2	922,5	2019,2	10,0	3062,0	986,7	2030,0	10,0
DP	335,9	41,7	251,5	0	179,8	27,3	116,5	0	346,5	22,7	218,2	0

CT = comprimento total; CE = comprimento do esôfago (distância da extremidade anterior até o esôfago); CV = abertura da vulva (distância da extremidade anterior até a vulva); AN = ânus (distância da abertura do ânus até a extremidade posterior); DP = desvio padrão.

X = dados não quantificados

Tabela XVII – Número médio de ovos nos ramos anterior e posterior do útero das fêmeas parasitas de *Strongyloides venezuelensis* – FW30

RÉPLICAS	7º DIA		14 º DIA		21 º DIA	
	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior
1	3,27	1,93	X	X	2,33	1,8
2	2	1,76	1,9	1,37	1,23	0,7
3	4,27	2,9	3,03	2,63	1,6	1,87
4	2,8	1,17	2,63	1,7	2,83	1,23
5	4,46	2,73	1,9	0,7	1,4	1,16
MÉDIA	3,3	2,1	2,4	1,6	1,8	1,3
DP	1,0	0,7	0,5	0,8	0,7	0,5

X = dados não quantificados; DP = desvio padrão.

Tabela XVIII – Número médio de larvas filarióides encontradas em culturas de carvão animal granulado (carvão : fezes)
incubadas por 3 dias – FW30

RÉPLICAS	7 ° DIA				14 ° DIA				21 ° DIA			
	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL
1	7200	8400	9200	24800	X	X	X	X	2400	6000	4400	12800
2	6400	1200	0	7600	83200	32400	48000	163600	7200	42800	72000	122000
3	37200	22400	29600	89200	4400	7600	6000	18000	1600	400	4000	6000
4	30400	74400	36000	140800	800	48400	70400	119600	51200	9600	4800	65600
5	26400	68400	18800	113600	25600	20800	22800	69200	3200	10400	800	14400
MÉDIA	21520	34960	18720	75200	28500	27300	36800	92600	13120	13840	17200	44160

X = dados não quantificados

Tabela XIX - Número médio de fêmeas de vida livre de *Strongyloides venezuelensis*, em culturas de diferentes proporções de carvão animal granulado (carvão : fezes) - FW30

RÉPLICAS	7 ° DIA				14 ° DIA				21 ° DIA			
	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL	9:1	6:1	3:1	TOTAL
1	0	0	0	0	X	X	X	X	12	55	7	74
2	0	0	0	0	0	6	7	13	0	0	0	0
3	0	2	1	3	0	0	0	0	2	1	1	4
4	0	0	1	1	1	4	11	16	7	10	1	18
5	0	1	0	1	0	1	0	1	1	3	0	4
MÉDIA	0	0,6	0,4	1	0,25	2,75	4,5	7,5	4,4	13,8	1,8	20

X = dados não quantificados