

Luiz Augusto Magalhães

MÉTODO PARA O ESTUDO QUANTITATIVO DO FENÔMENO PARASITÁRIO

(Sobre o comportamento de duas linhagens de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907)

Tese apresentada para o concurso de Livre Docência da
Disciplina de Parasitologia do Instituto de Biologia da
Universidade Estadual de Campinas.

CAMPINAS-S.P.

1970

U N I C A M P

AGRADECIMENTOS

Desejamos deixar assinalado nossos agradecimentos a Maria do Carmo, esposa do autor deste trabalho, pela inestimável colaboração na revisão desta Tese

Somos também gratos a Lucia Helena pelo cuidado e dedicação que teve em datilografar estas linhas.

Não poderíamos deixar de tornar público a decisiva cooperação que nos foi prestada pelo estatístico José Ferreira de Carvalho, do Centro de Computação da Universidade Estadual de Campinas.

José Ferreira de Carvalho foi o responsável por todos os cálculos estatísticos e pela realização do programa processado pelo computador para o ajuste das funções e por várias sugestões oportunamente aceitas.

Ao Paulo Friedrich Bührnheim, nosso colega, o agradecimento pela correção das provas deste trabalho.

Este trabalho foi realizado no Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, com o auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas.

III
Í N D I C E

I - Considerações Gerais	1
II - Escolha do parasita e do hospedeiro	30
III - Determinação do índice de sobrevivência de camundongos infectados por número conhecido de cercárias de <i>Schistosoma mansoni</i> ..	33
IV - Determinação do número de <i>Schistosoma mansoni</i> sobreviventes após um determinado período de infecção em <i>Mus musculus</i>	36
V - Determinação do número de granulomas hepáticos em camundongos de laboratório infectados por <i>Schistosoma mansoni</i>	39
VI - Aplicação do método	43
VII - Conclusões obtidas nas condições da experiência	68
VIII - Citações bibliográficas	70

Método para o estudo quantitativo do fenômeno parasitário.

I - Considerações Gerais

^{adaptaram-se} Durante o processo evolutivo, alguns seres vivos adaptam-se ^{por seleção natural} ao parasitismo. Numa fase inicial esta nova forma de vida poderia ou não ter evoluído para um parasitismo obrigatório, dependendo esta alternativa de um conjunto de situações, as quais, poderíamos resumir da seguinte maneira: o parasitismo obrigatório seria instalado a medida em que as condições fornecidas ^{pelos ambiente} não ser de vida livre não permitissem a sobrevivência da espécie e, sempre que as novas circunstâncias obtidas pelo parasitismo fornecessem meios a uma melhor adaptação hospedeiro-parasita.

A interação ser de vida livre - ^{ecossistema} ambiente dependeria então da adaptabilidade do ser vivo e, de fatores mais ou menos variáveis do meio ambiente; porém de um modo geral, poderíamos dizer que neste caso, teríamos apenas uma variável adaptativa: o ser vivo. Dizemos isto, conscientes que, nas relações ser vivo - ^{ecossistema} ambiente, entram em jogo uma série de fatores, inclusive relacionados com outros seres vivos participantes da biocenose. Entretanto, a ação de adaptação faz-se sentir muito mais intensamente no ser de vida livre simplesmente considerado, que no conjunto da biocenose. ^{tomada como um todo.} Em outras palavras: sabemos que, na interação ser de vida livre - ^{ecossistema} ambiente temos duas variáveis; entretanto, a variável ambiente ^{ecossistema} pouco se adapta ao ser vivo.

Na interação parasita - hospedeiro, as variáveis adaptativas passam não só a correr por conta do parasita como também por parte do hospedeiro. Teríamos neste segundo caso, um meio ambiente para o ser vivo considerado parasita muito mais dinâmico, sob o ponto de vista adaptativo, embora que, submetido a um processo de homeostase. Sobremaneira é de se notar, que a ^{reação} agressão promovida pelo ~~organismo~~ de hospedeiro é especificamente organizada contra o parasita, reação tão evidente, que poderíamos medi-la, ^{através de modificações observadas no organismo do hospedeiro}

Teríamos, portanto, dois sistemas variáveis que passariam a funcionar em interação e ~~em~~ interdependência, estando sujeitos às resultantes destes sistemas a sobrevivência do hospedeiro e do parasita.

Decorridos tais fatos, poderíamos supor que seria mais simples o estudo das condições de sobrevivência de uma espécie de ser vivo não parasita, em virtude de usarmos no presente caso, uma só variável adaptativa. Entretanto, os fatores ligados ao ^{ecossistema} ~~meio ambiente~~ são tão numerosos e complexos; e ao mesmo tempo de variabilidade tão difícil de ser medida, e seu significado tão árduo de ser aquilatado, que se torna quase impraticável o seu estudo, e, por conseguinte, a obtenção de um sistema representativo da dinâmica ser de vida livre - ^{ecossistema} ambiente.

Já no ^{sistema} ~~caso do~~ parasita - hospedeiro, pela limitação do ambiente do ser parasita e pelo maior número de informações obtidas através do comportamento do organismo do hospedeiro, seria possível, dentro de certos limites, obtermos dados que possibilitariam a maior ^{precisa} compreensão do fenômeno parasitário, tornando realizável o ^{calcula} estabelecimento de constantes e variáveis. De acôrdo com este modelo, ^{podémos obter} teríamos uma maneira de ^{avaliar} determinar quantitativamente o fenômeno parasitário. ^{estudado.}

A fim de que se ^{possa} estabelecer crité-
rios para os diversos ^{variáveis} ~~fatores~~ que entram na elaboração do
nosso ^{modelo} sistema, necessitaríamos limitá-los dentro de cer-
tos conceitos, que necessariamente não teriam que concor-
dar com os conceitos clássicos ~~já~~ adotados, por não cor-
responderem êstes a um critério definido sob o ponto de
vista em que nos colocamos. Poderíamos escolher desta for-
ma, ~~nomes até então nunca utilizados;~~ entretanto, julgamos
ser mais aconselhável a escolha de nomes que se aproximam
sem tanto quanto possível daqueles já empregados para a
denominação de conceitos paralelos ~~àqueles expressados no~~
nosso sistema.

A definição adotada para parasita e hospedeiro, é contudo clássica e preconizada por Pavlovsky:

"PARASITA - é uma espécie biológica que vive às expensas de outra, biológica e ecológicamente intimamente conectada com ela."

"HOSPEDEIRO - é o ser vivo que alberga em seu organismo outro ser vivo, em perfeita interação com êle, fato indispensável para a sobrevivência do albergado, havendo entre êles um íntimo contato e vivendo o parasita às expensas do primeiro."

O fato do ser vivo parasita obrigatório necessitar para sua sobrevivência do íntimo contato com o hospedeiro significa que o hospedeiro sempre lhe fornece algo: alimento, calor, espaço, etc. Poderíamos aventar a hipótese de que o parasita poderia retirar do hospedeiro determinada substância indesejável a êste, fato indispensável a sobrevivência do hospedeiro. Esta hipótese, parece-nos, nunca foi assinalada na natureza e, mesmo assim, não excluiria a utilização por parte do parasita de outras propriedades do hospedeiro, quanto mais não sejam ~~do~~ do espaço ocupado pelo parasita. É também pouco provável,

sob o ponto de vista da evolução, que um ser de vida livre se tornasse parasita, em consequência de possuir a propriedade de retirar determinada substância do organismo de seu futuro hospedeiro, substância lesiva ao hospedeiro. Poderíamos dizer, que êste raciocínio seria ilógico e anti-natural, não se enquadrando dentro do critério que selecionaria as espécies existentes, ou pelo menos, tornaria êste mecanismo muitíssimo pouco provável.

Por princípio aceitamos que o parasita sempre retira qualquer atributo do hospedeiro, e deste modo sempre lesivo êle será ao hospedeiro.

Por outro lado, sabemos que alguns parasitas danificam o hospedeiro por vários mecanismos, como por exemplo, através da ação de toxinas, reações alérgicas, imunitárias, mecânicas, etc.

De qualquer maneira admitimos que a presença do parasita é sempre prejudicial ao hospedeiro, sendo êste prejuízo traduzido através uma ATIVIDADE PARASITÁRIA que proporciona uma espoliação ao hospedeiro, lesando-o através de toxinas ou por sua simples presença ou de seus ovos a produzir reações inflamatórias.

Na primeira hipótese, poderíamos medir a quantidade de espoliação mediante as mudanças observadas no hospedeiro, em virtude da retirada dos atributos de seu organismo, como ocorre no caso das anemias espoliativas.

Na hipótese da liberação de toxinas, elas seriam proporcionais (em um hospedeiro dado) ao número de parasitas e a patologia causada, e seriam traduzidas pelas alterações fisiológicas e imunológicas observadas.

Na terceira hipótese, a espoliação seria consequência direta do espaço ocupado pelo parasita, ou por seus ovos, variando também, em relação direta ao número de parasitas ou ovos.

Outro mecanismo de espoliação seria igualmente o resultado da competição entre hospedeiro e parasita, visando a utilização de substâncias necessárias a ambos.

Vemos assim, que o termo espoliação aqui utilizado é de sentido bem amplo, sendo sempre usado com o significado de traduzir o prejuízo causado pelo parasita ao hospedeiro.

Denominamos GRAU DE ESPOLIAÇÃO ao maior ou menor ^{prejuízo} ~~prejuízo~~ causado pelo parasita ao hospedeiro, traduzido em alguns casos, pela retirada de atributos do hospedeiro.

No ser de vida livre, o GRAU DE ESPOLIAÇÃO corresponderia à quantidade de atributos que cede o meio ambiente ao ser vivo. Necessariamente a retirada de atributos do hospedeiro não lhe causaria dano, sendo entretanto lógico raciocinar-se que, quanto maior a quantidade de atributos retirados, mais o hospedeiro sentirá o parasitismo, havendo assim, um limite em que a vida do hospedeiro não seria mais possível. Em outras palavras, diríamos que, acima de determinado limite, o número de hospedeiros que sobreviveriam em tempo t tenderia a cair, ^{de acordo com} ~~com o~~ aumento sempre crescente do GRAU DE ESPOLIAÇÃO.

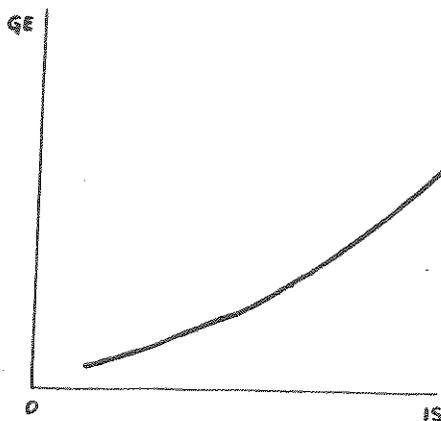
Por outro lado, pelo fato de admitirmos um parasita obrigatório, teríamos que concordar que esse parasita só sobreviveria mediante um grau mínimo de espoliação. Em outras palavras, dentro de certos limites, o GRAU DE ESPOLIAÇÃO estaria relacionado ao número de parasitas que conseguiriam sobreviver um tempo t .

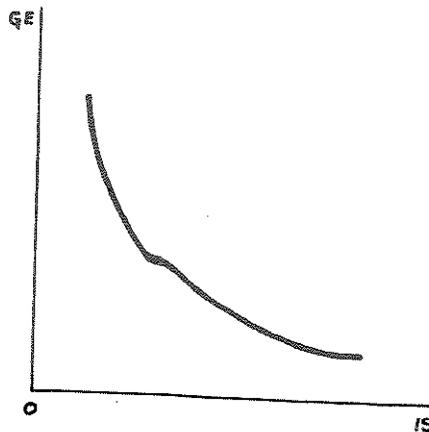
Teríamos então o seguinte raciocínio: a percentagem de sobrevivência do hospedeiro num tempo t variaria em relação inversa com o GRAU DE ESPOLIAÇÃO, e o número de parasitas que sobrevivessem um tempo t variaria em relação direta com o GRAU DE ESPOLIAÇÃO.

O número que sobreviveria ao grau mínimo

Havendo uma perfeita interação parasita-hospedeiro e sendo o GRAU DE ESPOLIAÇÃO dado pela retirada de atributos do hospedeiro pelo parasita, é evidente que o GRAU DE ESPOLIAÇÃO é o mesmo tanto para o parasita quanto para o hospedeiro. Isto é, em determinado momento, e sob determinadas condições, o parasita e o hospedeiro possuem sempre o mesmo GRAU DE ESPOLIAÇÃO.

Podemos exprimir êste raciocínio mediante um gráfico em que o GRAU DE ESPOLIAÇÃO é colocado nas ordenadas e o número de parasitas e hospedeiros que sobrevivem num tempo t , dado em percentagem, é colocado nas abcissas. A função obtida por êste gráfico é válida dentro de um tempo t , para espécies determinadas, populações determinadas e dentro de certos limites dados pelos meios de primeira e segunda ordem (Zhdanov).





Os pontos, adquiridos para o traçado da função, seriam fornecidos pelas diferentes relações entre o GRAU DE ESPOLIAÇÃO e a percentagem de sobrevivência do hospedeiro e o número de parasitas, relações conseguidas mediante a análise de dados obtidos dentro do limite de variabilidade dos espécimes estudados.

Se supuséssemos que os espécimes de uma determinada espécie teriam sempre, dentro das condições controláveis no laboratório, um só GRAU DE ESPOLIAÇÃO fornecido por um determinado grau de infecção, obteríamos um só ponto, e não poderíamos obter a função.

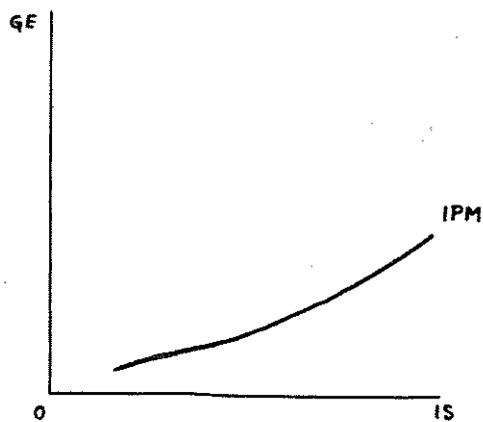
Entretanto, é evidente que na natureza, o grau de infecção de cada espécime varia dentro de limites bastante amplos, que poderão ser restringidos em laboratório.

É de se esperar também que a espoliação determinada por um único grau de infecção varie dentro de certa faixa. Essa variabilidade estaria na dependência de fatores imunológicos e homeostáticos, próprios de cada organismo, oriundos talvez de determinantes genéticos intra-específicos.

Além do GRAU DE ESPOLIAÇÃO, poderão ainda influir, nas percentagens de sobrevivência do hospedeiro e no número de parasitas, outras causas. Entretanto, admitimos que, apesar deste fato constituir um motivo de inexatidão do nosso sistema, haverá uma grande relação entre o GRAU DE ESPOLIAÇÃO e a percentagem de sobrevivência, mais ainda se no laboratório, tratarmos de eliminar, tanto quanto possível, as outras causas prováveis que poderiam influir sobre a percentagem de sobrevivência do hospedeiro, e no número de parasitas vivos, após um tempo t .

Mediante o estudo do gráfico traçado para a espécie de parasita, poderemos admitir que a curva obtida nada mais seria que a intensidade de parasitismo registrada, limitada pelo número de parasitas, que sobreviveram num tempo t , e pelo grau de espoliação. Pelo exame da função, poderemos determinar um ponto que chamaremos IPM ou ponto de INTENSIDADE DE PARASITISMO MÁXIMO.

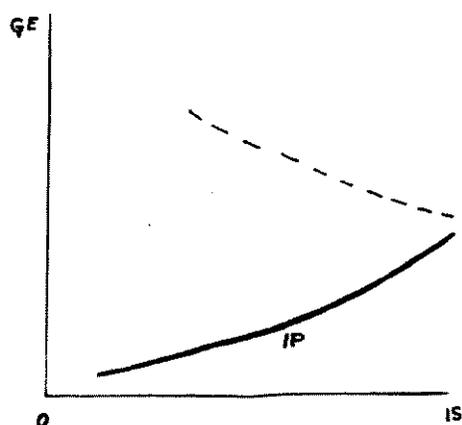
INTENSIDADE DE PARASITISMO MÁXIMO é a maior capacidade do parasita estudado, em espoliar o hospedeiro em um tempo t , admitindo-se a sobrevivência do hospedeiro durante este período de tempo.



Se imaginarmos que determinado parasita pudesse espoliar cada vez mais seu hospedeiro, ultrapassando os limites fisiológicos inerentes a êsse parasita, isto é, admitindo-se que não houvesse mecanismos reguladores desta capacidade de espoliação, veríamos que, a partir de determinado momento, a quantidade de atributos espoliados passaria a agir em detrimento do parasita, e por conseguinte, sua sobrevivência seria reduzida.

Suponhamos que, para a alimentação necessária à sobrevivência de determinado espécime fôsse conside-

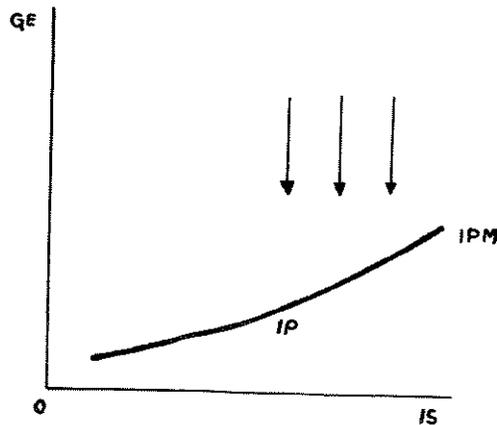
rada como limite máximo de substâncias absorvidas e aproveitadas o índice de 5, fornecido por uma quantidade 20, de determinado alimento. Se a quantidade ingerida deste alimento fôsse de 40, o organismo continuaria utilizando o índice máximo de 5, e a quantidade de catabólitos subiria de 15 a 35, havendo em certos níveis, um nítido desequilíbrio em detrimento da vitalidade do espécime estudado. Este raciocínio seria aplicado não só quanto a quantidade de alimento retirado do meio, como também com relação ao calor e espaço ocupado, pois a superfície de contato, neste último caso, poderia aumentar de tal maneira, que o organismo não tivesse mais meios de controlar as atividades inerentes a relação corpo-ambiente.



Sabemos também, que o índice de sobrevivência da população de parasitas deverá ser inversamente proporcional a concentração populacional por área.

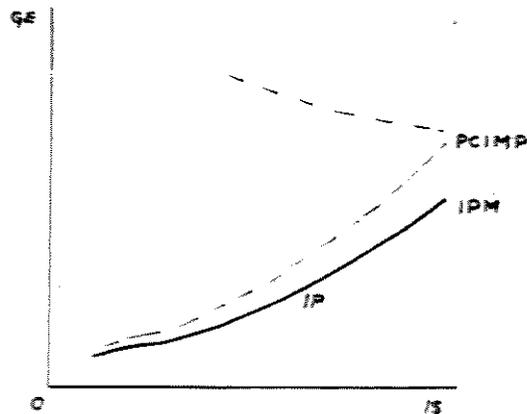
Em virtude desse fato, quando nos referimos ao parasita, evitamos assinalar o índice de sobrevivência dos mesmos, mas sim referimos o número de parasitas que, nas condições da experiência, determinaram um grau de espoliação em um tempo t .

Entretanto, dentro dos limites fisiológicos, podemos admitir uma relação direta entre o GRAU DE ESPOLIAÇÃO e o número de parasitas. Poderemos concordar que a INTENSIDADE DE PARASITISMO está diretamente relacionada com o GRAU DE ESPOLIAÇÃO, dentro da faixa fisiológica. Não haveria, porém, mais esta relação direta acima desta faixa, onde um maior GRAU DE ESPOLIAÇÃO não corresponderia mais a uma maior INTENSIDADE DE PARASITISMO, daí considerarmos a distinção, dentro os limites fisiológicos, entre o GRAU DE ESPOLIAÇÃO e a INTENSIDADE DE PARASITISMO.

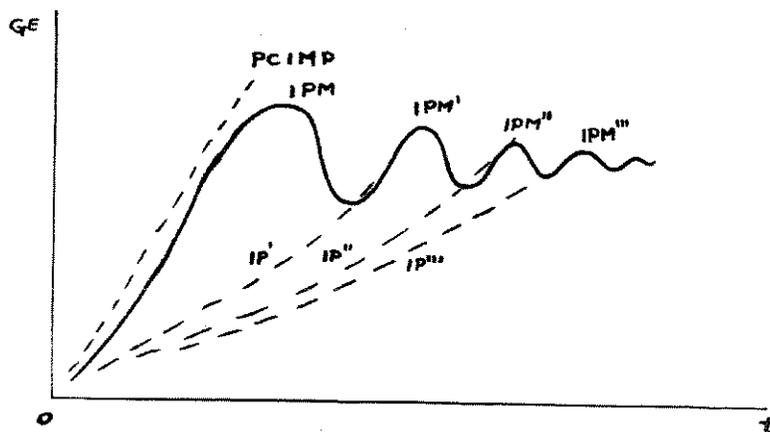


Dentro dos limites fisiológicos do parasita, poderíamos supor que a sua INTENSIDADE DE PARASITISMO MÁXIMO fôsse limitada pela resistência oferecida pelo hospedeiro, manifestada por mecanismos de defesa.

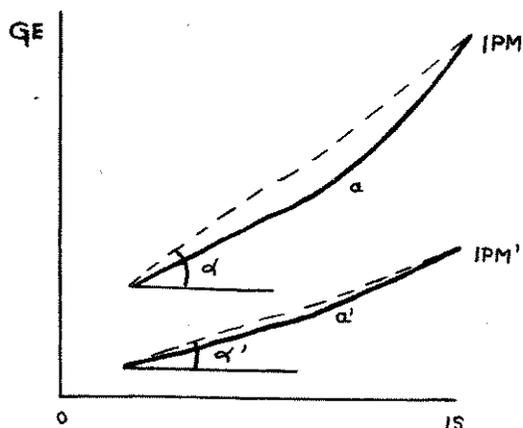
Assim é que, a curva de INTENSIDADE DE PARASITISMO é sempre obtida com relação a uma determinada espécie de hospedeiro, e a INTENSIDADE DE PARASITISMO MÁXIMO nunca coincidiria com o PONTO CRÍTICO DE INTENSIDADE MÁXIMA DE PARASITISMO (PCIMP) inerente ao parasita (acima do qual haveria inversão da curva), pois teríamos sempre que levar em consideração a resistência oferecida pelos mecanismos de defesa do hospedeiro.



Com relação a um período enorme de tempo, teríamos a obtenção de uma função tal, que se apresentasse oscilante ante com deflexões de amplitude cada vez menores, e que tendesse a um ponto de equilíbrio, que equivaleria ao ponto de INTENSIDADE DE PARASITISMO MÁXIMO do parasita, com relação ao hospedeiro. No traçado desta função, levaríamos em conta as forças de defesa do hospedeiro, e as forças de defesa do parasita contrárias às do hospedeiro, ^{mas sucessivamente geradas} que tenderiam sempre a um GRAU DE ESPOLIAÇÃO mais elevado, unidos a fatores oriundos da adaptação do hospedeiro à sua nova circunstância orientada no sentido de suprir condições de sobrevivência a ele mesmo e também ao parasita.



Como no nosso sistema GRAU DE ESPOLIÇÃO-
 NÚMERO DE SOBREVIVENTES PARASITAS-HOSPEDEIROS consideramos t conhecido e invariável, teríamos:



a representando um parasitismo menos adaptado e a' um parasitismo mais adaptado. O grau de adaptação do parasita ao hospedeiro seria fornecido pelo ângulo α : quanto maior α , menor a adaptação.

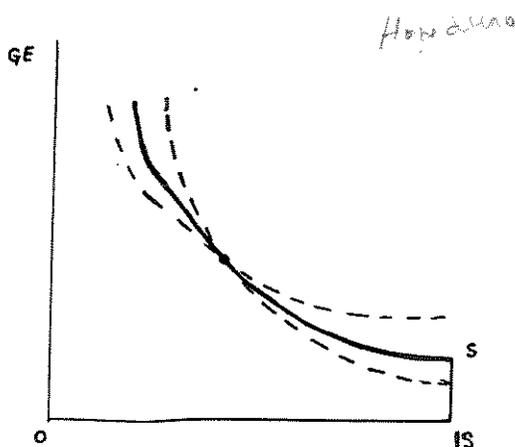
Veremos adiante, no gráfico final do sistema, que esse raciocínio é coincidente, pois a função a' fornece maior probabilidade de um parasitismo possível.

O exame do gráfico GRAU DE ESPOLIAÇÃO-TEMPO nos explica que, se em determinados casos, após o estabelecimento do sistema equilibrado, o hospedeiro passasse a necessitar do parasita para sua sobrevivência, e que, a

retirada abrupta do fator parasita, acarretar um desequilíbrio no sistema, poderá passar a agir o mecanismo de defesa do hospedeiro, em detrimento d'ele próprio. Entretanto, êste fenômeno não é comumente observado, sendo em geral sempre vantajoso ao hospedeiro a ausência do parasita.

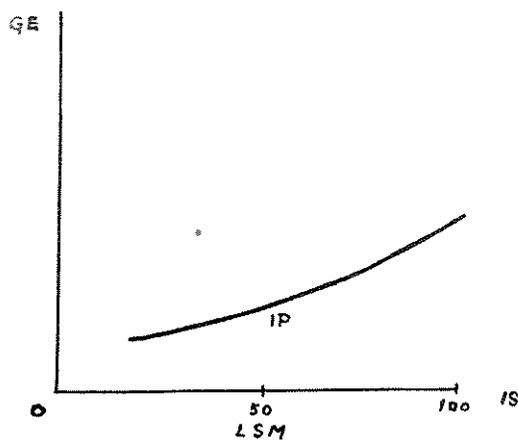
Pela observação da função do hospedeiro, vemos que, o limite mínimo de espoliação pode variar com relação a percentagem máxima de sobrevivência ($PS = 100$). A faixa compreendida entre êstes limites denominamos faixa de SUSCETIBILIDADE (ϵ).

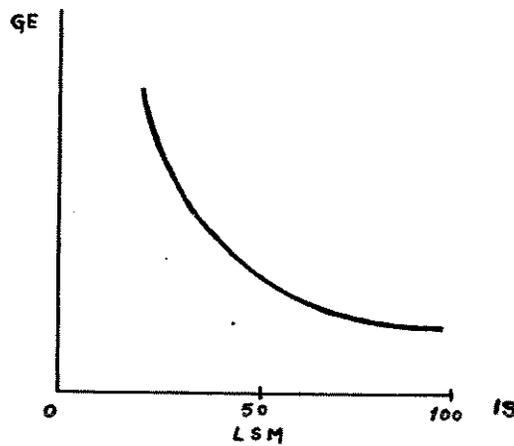
SUSCETIBILIDADE de um hospedeiro, com relação a um determinado parasita, é dada pelo limite máximo do GRAU DE ESPOLIAÇÃO que não provoque modificação na percentagem de SOBREVIVÊNCIA.



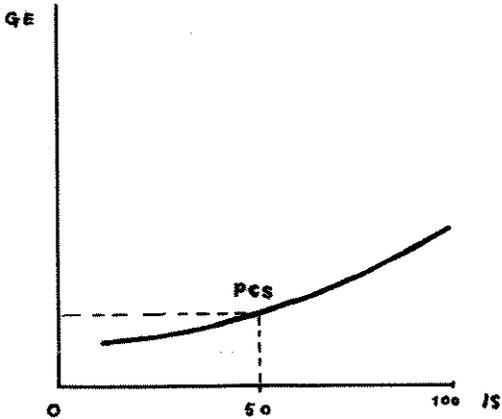
Poderemos supor que, abaixo de determinada percentagem de sobrevivência do hospedeiro, e do parasita, torna-se cada vez mais difícil a manutenção das espécies.

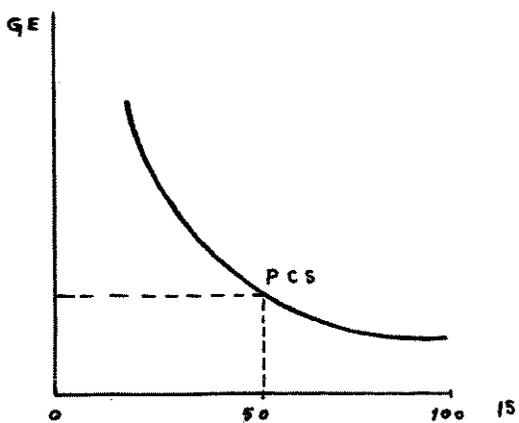
Para a manutenção das espécies estudadas, em laboratório, poderemos fixar em um ponto, o índice desejado de sobrevivência. Fixemos arbitrariamente o valor de 50% dos espécimes que conseguem sobreviver ao parasitismo num tempo t . Este ponto é tomado como parâmetro, e denominado do LIMITE DE SOBREVIVÊNCIA MÍNIMO (LSM).



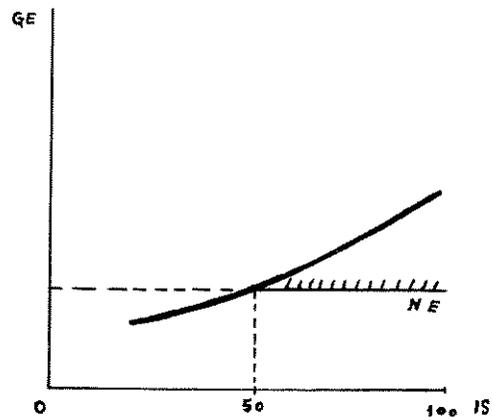


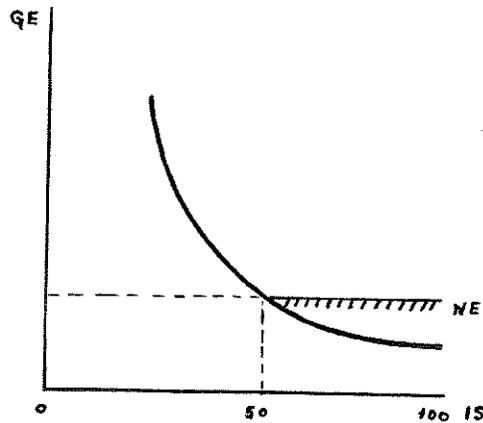
Partindo desta constante, determinaríamos o ponto PCE, PONTO CRÍTICO DE SOBREVIVÊNCIA, que é o limite mínimo do GRAU DE ESPOLIAÇÃO necessário à manutenção da espécie do parasita, e o limite máximo do GRAU DE ESPOLIAÇÃO que permitirá a manutenção da espécie do hospedeiro.





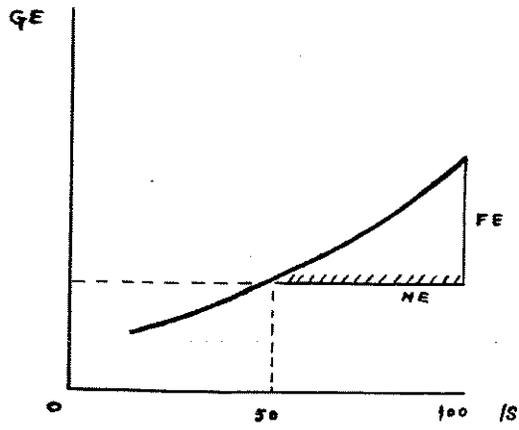
Traçando-se uma horizontal a este ponto, determinamos a linha NE, NÍVEL DE ESPOLIAÇÃO.

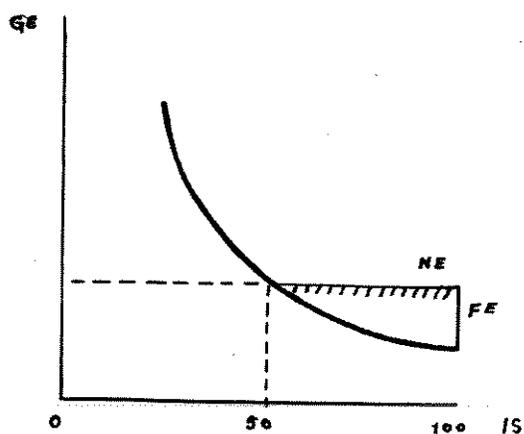




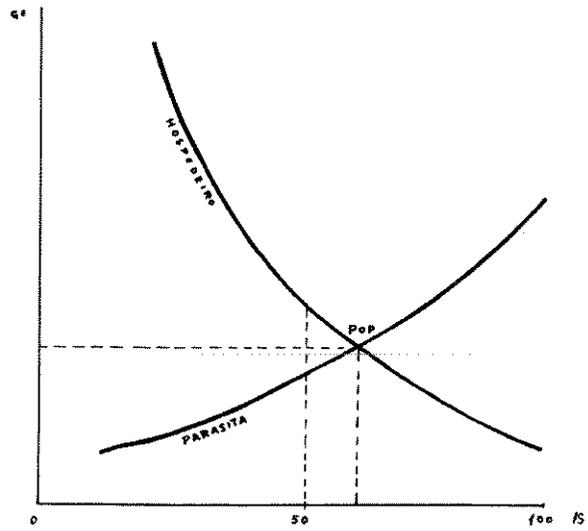
A distância vertical, que separa o NÍVEL DE ESPOLIAÇÃO do ponto da curva que corresponde ao ponto de INTENSIDADE DE PARASITISMO MÁXIMO, é o que denominamos FAIXA DE ESPOLIAÇÃO (FE).

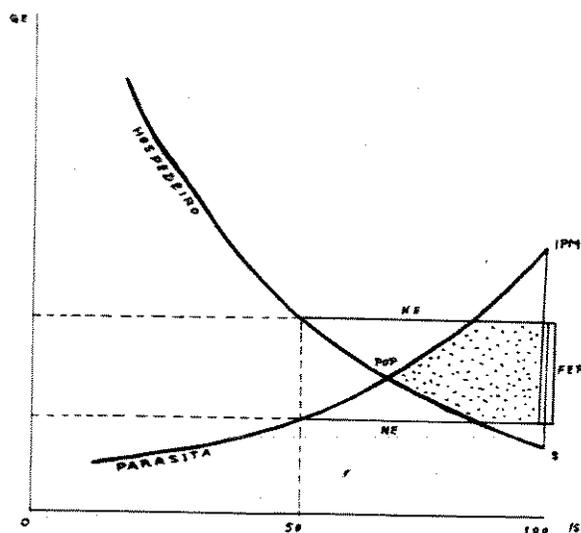
A FAIXA DE ESPOLIAÇÃO do parasita determina as condições de sobrevivência proporcionadas a êsse parasita, acima do nível mínimo de espoliação, necessário a manutenção da espécie, nas condições da experiência, abaixo do ponto determinado pela INTENSIDADE DE PARASITISMO MÁXIMO.





A FAIXA DE ESPOLIAÇÃO do hospedeiro determinada as condições de sobrevivência proporcionadas a esse hospedeiro, abaixo do nível máximo de espoliação nas circunstâncias da experiência.





Como o fenômeno parasitário não passa de um sô, em que participam tanto o hospedeiro como o parasita, podemos superpor as duas curvas obtidas, adotando como usa mos anteriormente, a mesma escala de GRAU DE ESPOLIAÇÃO.

Obteremos assim, um ponto de contato destas curvas que chamaremos POP, (PONTO ÓTIMO DE PARASITISMO). É o ponto em que os GRAUS DE ESPOLIAÇÃO cedidos pelo hospedeiro e ganhos pelo parasita são iguais, e em que, a percentagem de sobrevivência dos dois em um tempo t , é também igual. É o ponto ótimo para a manutenção das espécies nas condições estabelecidas pela experiência.

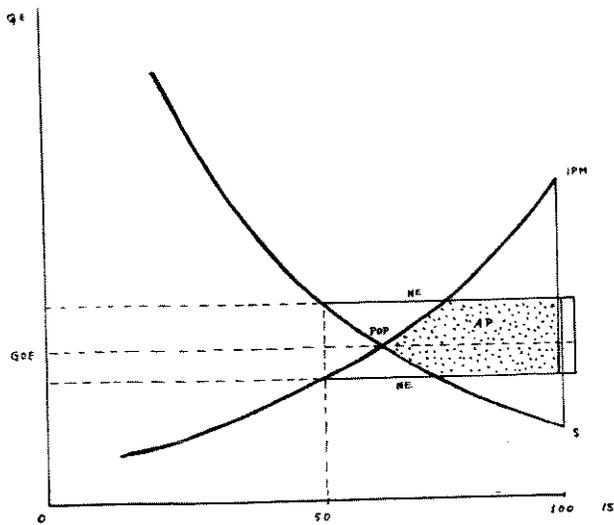
A FAIXA DE ESPOLIAÇÃO POSSÍVEL (FEP), seria limitada pelos níveis máximo e mínimo de espoliação, que permitam a sobrevivência do parasita e do hospedeiro. A projeção do NÍVEL DE ESPOLIAÇÃO no eixo das abcissas, determina as percentagens de sobrevivência do parasita e do hospedeiro, nas condições da experiência.

O ponto ótimo de parasitismo pode situar-se dentro ou fora desta faixa. Num parasitismo mais adaptado, esse ponto é cada vez mais desviado para a direita, isto é, está cada vez mais próximo a um PS = 100.

A projeção do PONTO ÓTIMO DE PARASITISMO na FAIXA DE ESPOLIAÇÃO nos dará uma idéia de sua localização, com relação a essa faixa.

A projeção do POP, no eixo das ordenadas, determina o GRAU ÓTIMO DE ESPOLIAÇÃO (GOE) para o parasita e para o hospedeiro, de acordo com a presente experiência.

A ÁREA DE PARASITISMO (AP) está limitada pelos níveis de espoliação, pela faixa de espoliação, e pelas curvas determinadas pela função grau de espoliação-percentagem de sobrevivência do parasita, e do hospedeiro.



Na prática, para a determinação do GRAU DE ESPOLIÇÃO, escolheríamos um índice que nos fornecesse uma relação direta com a ATIVIDADE PARASITÁRIA, pois supõe-se que, tanto maior fôr a ATIVIDADE PARASITÁRIA, tanto maior também será o GRAU DE ESPOLIÇÃO.

A anemia produzida por estes parasitas ao hospedeiro, a quantidade de lesões causadas diretamente pela ação dos parasitas no hospedeiro, são índices que poderíamos escolher para a avaliação do GRAU DE ESPOLIÇÃO, em determinado tempo e sob determinadas condições.

O sistema preconizado seria uma representação julgada válida, do fenômeno parasitário, dentro de certos limites. Os seus índices não teriam valor universal, e valeriam apenas com relação aos outros índices utilizados na experiência.

Creemos que, ao utilizarmos este sistema, poderíamos, após a determinação de parâmetros, em uma experiência preliminar, variando alguns dos fatores que entram na elaboração do sistema ou variando as condições do meio, obter dados que nos proporcionem a avaliação quantitativa com relação ao sistema parâmetro, das modificações apresentadas. Compreenderíamos melhor o mecanismo de ação das causas que influem no fenômeno parasitário, como por exemplo o papel das diferentes drogas, sua ação e o comportamento das diversas linhagens de parasitas e hospedeiros, mudanças de ambiente, etc.

II - Escolha do parasita e do hospedeiro

Ao escolhermos o *Schistosoma mansoni*, para pôr em prática o método proposto para o estudo quantitativo do fenômeno parasitário, o fizemos por diversos motivos.

1º) Por sabermos da importância da esquistossomose mansônica, no panorama das endemias parasitárias brasileiras, desejando desta maneira oferecer nossa contribuição ao estudo de uma doença que, unida a outros fatores, constitui um obstáculo ao desenvolvimento do nosso País;

2º) Por julgarmos que os dados obtidos nas experimentações com aquêle trematódeo, seriam facilmente aplicáveis à execução do nosso plano;

3º) Porque já há alguns anos vínhamos desenvolvendo uma linha de pesquisas orientada para o estudo destes helmintos e de seus hospedeiros intermediários, adquirindo, desta forma, prática na manutenção destas espécies em laboratório, e colocando-nos também a par da vasta bibliografia sobre o assunto;

4º) Porque o *Schistosoma mansoni* apresenta linhagens distintas. Ao que tudo indica, estas linhagens possuem comportamento diferente, tanto no que diz respeito à biologia referente às suas relações com os hospedeiros intermediários, como também com os definitivos.

Diversos autores tem assinalado este fenômeno.

Paraense & Corrêa em 1963 referiram a existência de duas linhagens de *Schistosoma mansoni*.

Com a descoberta dos focos de esquistossomose no Vale do Rio Paraíba em São Paulo (Piza & col. , 1959) e, em outras localidades do mesmo Estado (Piza & Ramos, 1960) ficou evidente não só a importância desta parasitose no sul do Brasil, como também a diversidade de comportamento das várias populações do helminto.

Escolhemos, por êstes motivos, duas linhagens de *Schistosoma mansoni*. A primeira oriunda de população de *Biomphalaria glabrata* de Belo Horizonte. A segunda proveniente de *Biomphalaria tenagophila* do Vale do Rio Paraíba.

Uma vez escolhido o parasita, restava escolher o hospedeiro. Dentre os hospedeiros definitivos do *Schistosoma mansoni*, é sem dúvida, o camundongo que apresenta melhores vantagens, tanto pela facilidade de sua manutenção em laboratório, como também por demonstrar uma patologia esquistossomótica semelhante à encontrada no homem. (Moore, Yolles & Meleney, 1949; Stirewalt, Kuntz e Evans 1951; Kuntz 1953 e Brener, 1956).

As duas linhagens do verme foram, desta maneira, mantidas em laboratório, mediante passagens sucessivas, utilizando-se como hospedeiro definitivo *Mus musculus* albinos e, como hospedeiros intermediários, as duas espécies de planorbídeos originalmente responsáveis pela manutenção dos focos, na natureza.

Como índice para determinação do GRAU DE ESPOLIAÇÃO escolhemos a quantidade de granulomas hepáticos, observados nos camundongos infectados, após decorrido um tempo t.

Esta determinação nos pareceu adequada, pois é fato notório o importante papel destas lesões na patologia da esquistossomose, e sua estreita relação com o grau de parasitismo.

Também determinamos o índice de sobrevivência apresentado pelos camundongos infectados por diferentes quantidades de cercárias, e o número de esquistossomas sobreviventes, após um período determinado da experiência.

Munidos destes três dados pudemos armar nosso sistema, baseado no método já descrito.

III - Determinação do índice de sobrevivência de camundongos albinos infectados por número conhecido de cercárias de *Schistosoma mansoni*.

Foram utilizadas, na presente experiência, cercárias provenientes de duas linhagens de *Schistosoma mansoni*, uma de Belo Horizonte (Minas Gerais) e outra de São José dos Campos (São Paulo).

MATERIAL E MÉTODO:

Usamos camundongos albinos oriundos do biotério da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

Foram infectadas 275 fêmeas, pesando cada uma entre 14 a 16 gramas.

Os camundongos foram infectados em lotes, utilizando-se, respectivamente, 200, 100, 60, 30 e 10 cercárias por camundongo, em cada lote.

As cercárias foram obtidas de grupos de 5 moluscos infectados por 10 miracídeos.

Desta maneira, procurávamos assegurar maior probabilidade de distribuição igual de vermes machos e fêmeas, por lotes de cercárias utilizadas.

Diariamente eram recolhidos os camundongos mortos e necropsiados a fim de se constatar a infecção esquistossomótica.

Ao fim de 60 dias, contados a partir da data da infecção, determinávamos os índices de sobrevivência dos camundongos.

Todos os roedores sobreviventes foram sacrificados para verificação da infecção ocasionada pelo *Schistosoma mansoni*.

RESULTADOS

Os resultados estão transcritos na tabela abaixo:

Linhagem de Belo Horizonte

Lote	nº de cercárias	nº de camundongos	camundongos vivos após 60 dias	Índice de sobrevivência em %
1	200	13	2	15.2
2	100	103	20	19.4
3	60	26	8	30.7
4	30	10	6	60
5	10	6	6	100

Linhagem de São José dos Campos

Lote	nº de cercárias	nº de camundongos	camundongos vivos após 60 dias	Índice de sobrevivência em %
1	200	8	2	25
2	100	73	21	28.7
3	60	22	13	59
4	30	8	6	75
5	10	6	6	100

Os dados desta experiência foram submetidos a cálculos estatísticos que nos conduziram a não aceitação da hipótese de igualdade dos índices de sobrevivência para as duas linhagens.

A experiência demonstrou que a linhagem de *Schistosoma mansoni* proveniente de Belo Horizonte é mais lesiva aos camundongos infectados que a cepa desse helminto de São José dos Campos.

IV - Determinação do número de *Schistosoma mansoni* so-
breviventes após um determinado período de in-
fecção em *Mus musculus* albinos.

Essa experiência, como a anterior, foi rea-
lizada utilizando-se as mesmas linhagens de *Schistosoma man-
soni*.

MATERIAL E MÉTODO:

Utilizamos 41 fêmeas de camundongos albinos
pesando entre 14 a 16 gramas, cada uma, tôdas provenientes
do biotério da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

Os camundongos, separados em lotes, foram
infectados com um determinado número de cercárias, pelo mé-
todo de imersão da cauda descrito por Magalhães em 1969.

Após 60 dias contados a partir da data da
infecção, os camundongos foram sacrificados e dêles foram
retirados exemplares de *Schistosoma mansoni* pelo método de
perfusão dos vasos mesentéricos e hepáticos (Yolles e col.
1947 e Brener, 1962), e esmagamento do fígado entre lâmi-
nas de vidro (Standen, 1953 e Hill, 1956).

As cercárias utilizadas provinham de grupos
de 5 moluscos, sendo cada molusco infectado por 10 mira-
cídeos.

RESULTADOS:

Os resultados estão transcritos no quadro que se segue:

Linhagem de Belo Horizonte

lote	camundongo	nº de cercárias	nº de helmintos
1	1	200	18
1	2	200	15
1	3	200	24
2	4	100	17
2	5	100	18
2	6	100	19
2	7	100	16
2	8	100	18
3	9	60	8
3	10	60	10
3	11	60	12
3	12	60	14
3	13	60	6
3	14	60	10
3	15	60	14
3	16	60	12
4	17	30	9
4	18	30	3
4	19	30	5
4	20	30	12
5	21	10	4
5	22	10	2
5	23	10	5

Linhagem de São José dos Campos

lote	camundongo	nº de cercárias	nº de helmintos
1	1	200	18
1	2	200	14
1	3	200	10
2	4	100	11
2	5	100	15
2	6	100	9
2	7	100	12
2	8	100	15
3	9	60	10
3	10	60	6
3	11	60	9
3	12	60	8
4	13	30	2
4	14	30	7
4	15	30	4
5	16	10	0
5	17	10	1
5	18	10	2

Os dados submetidos a testes de significância, nos levaram à não rejeição da hipótese de igualdade das capacidades de desenvolvimento do *Schistosoma mansoni* das linhagens estudadas.

V - Determinação do número de granulomas hepáticos em camundongos de laboratório infectados por *Schistosoma mansoni*.

Procuramos determinar não só o número de granulomas hepáticos, obtidos por camundongo, como também, a existência de relação entre a quantidade de granulomas e a de helmintos infectantes.

MATERIAL E MÉTODO.

Os camundongos albinos fêmeas de 14 a 16 gramas provenientes do biotério da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, foram separados em lotes e submetidos a infecção por diferentes quantidades de cercárias provenientes das duas populações de *Schistosoma mansoni*, já referidas anteriormente.

Como nas experiências anteriores, as cercárias eram provenientes de 5 planorbídeos infectados, cada um, por 10 miracídeos.

Infectaram-se ao todo 41 camundongos.

Utilizaram-se quantidades de 200, 100, 60, 30 e 10 cercárias por lote.

Após 60 dias, a partir da data da infecção, os camundongos foram sacrificados e contados os granulomas hepáticos empregando-se o método descrito por Pellegrino & Brenner, 1956 e Brenner, Pellegrino & Oliveira, 1956.

RESULTADOS:

Os resultados estão contidos na tabela abaixo:

Linhagem de Belo Horizonte

nº de cercárias	nº de granulomas
200	4.320
200	2.106
200	2.457
100	972
100	1.674
100	2.053
100	1.944
100	2.106
60	810
60	756
60	1.134
60	1.620
60	540
60	1.080
60	1.080
60	1.566
30	216
30	810
30	864
30	972
10	108
10	108
10	43

Linhagem de São José dos Campos

nº de cercárias	nº de granulomas
200	918
200	702
200	1.836
100	810
100	594
100	756
100	1.188
100	1.242
60	648
60	756
60	702
60	540
30	324
30	270
30	378
10	0
10	0
10	0

Aplicando-se a análise de variância, testamos se o número de granulomas hepáticos dependia:

- 108
- a) do número de cercárias infectantes;
 - b) da cepa de *Schistosoma mansoni* e,
 - c) no caso de positivadas as hipóteses a e b, se as duas dependências diferiam significativamente.

Verificamos que as hipóteses de dependência ao número de cercárias infectantes e às linhagens de *Schistosoma mansoni* são aceitas com muita segurança.

Concluimos, também, que ao nível de (1%) existe diferença significativa entre as relações do número de granulomas hepáticos e o número de cercárias infectantes de cada linhagem.

Em resumo, há influência notável, com o modelo estatístico usado, do número de cercárias infectantes e da cepa de *Schistosoma mansoni* na patogenicidade.

A mesma conclusão, com reservas, pode ser tomada quanto à diferença nessa dependência, por cepa.

Como a média de granulomas hepáticos é maior na esquistossomose causada pelo *Schistosoma mansoni* de Belo Horizonte, conclui-se que a patogenicidade desta cepa é mais elevada.

Sabe-se que o número de granulomas depende do número de ovos depositados pelos parasitas. Assim, um dos fatores que poderiam influir na patogenicidade seria uma eventual diferença na relação machos-fêmeas das populações. Isto é posto de lado, já que em trabalho anterior (Magalhães & Carvalho, 1969), utilizando-se as mesmas linhagens, verificamos que a relação em causa é a mesma.

Nestas experiências os camundongos utilizados foram infectados na mesma época e submetidos a condições ambientais semelhantes.

VI - Aplicação do método

Com os dados obtidos nas experiências anteriormente assinaladas, tratamos de por em prática o método proposto no primeiro capítulo deste trabalho.

Para tanto fêz-se necessário a obtenção das quatro funções referentes as relações grau de espoliação-índice de sobrevivência do hospedeiro e do parasita.

O grau de espoliação, como antes havia sido estabelecido, corresponde ao número de granulomas hepáticos obtidos pelo método já referido.

O índice de sobrevivência do hospedeiro já havíamos obtido na experiência realizada.

A percentagem do número de helmintos sobreviventes após os 60 dias da experiência, foi determinado tomando-se como valor de 100% o maior número de vermes obtidos por camundongo pelo método de perfusão. Os outros valores foram estabelecidos a partir deste dado.

Transcrevemos a seguir os números, já agrupados, que nos fornecerão as funções desejadas.

Linhagem de Belo Horizonte

Índice de sobrevivência do hospedeiro	Grau de espoliação
15	4.320
15	2.106
15	2.457
19	972
19	1.674
19	2.053
19	1.944
19	2.106
31	810
31	756
31	1.134
31	1.620
31	540
31	1.080
31	1.080
31	1.566
60	216
60	810
60	864
60	972
100	108
100	108
100	43

Linhagem de São José dos Campos

Índice de sobrevivência do hospedeiro	Grau de espoliação
25	918
25	702
25	1.836
29	810
29	594
29	756
29	1.188
29	1.242
59	648
59	756
59	702
59	540
75	324
75	270
75	378
100	0
100	0
100	0

Linhagem de Belo Horizonte

Índice de sobrevivência do parasita	Grau de espoliação
100	4.320
79	2.106
75	2.457
75	2.106
75	1.944
71	1.674
67	972
66	2.106
58	1.620
58	1.566
50	1.134
50	972
50	1.080
42	810
42	1.080
38	864
33	756
25	540
21	810
21	108
17	108
13	216
8	43

Linhagem de São José dos Campos

Índice de sobrevivência do parasita	Grau de espoliação
100	1.856
83	1.188
83	1.242
78	918
67	810
61	756
56	702
56	756
50	594
50	708
44	648
39	378
33	540
22	324
11	270
11	0
6	0

Após ajustadas, as funções apresentaram os seguintes valores para x e y.

Linhagem de Belo Horizonte

Hospedeiro	
x	y
15	2.143
19	1.844
31	1.187
60	411
100	95

Linhagem de São José dos Campos

Hospedeiro	
x	y
25	1.022
29	943
59	528
75	383
100	0

O modelo ajustante buscado teria de ser único para parasitas e hospedeiros, nas duas linhagens, variando apenas os parâmetros em cada caso. Como supomos as funções monótonas, crescentes ou decrescentes, definidas - no primeiro quadrante, adotou-se o modelo

$$y = \theta_1 \cdot e^{\theta_2 \cdot x} \quad 0 < x < 100$$

onde $\theta_1 > 0$ e θ_2 são constantes a serem definidas e
 $e = 2,71828$

Os valores calculados foram:

a) para BE

$$\text{parasita: GE} = 119,0 \cdot e^{0,0399 \cdot I \text{ S}}$$

$$\text{hospedeiro: GE} = 3726,8 \cdot e^{-0,0365 \cdot I \text{ S}}$$

b) para SJ

$$\text{parasita: GE} = 223,4 \cdot e^{0,0203 \cdot I \text{ S}}$$

$$\text{hospedeiro: GE} = 1684,5 \cdot e^{-0,0196 \cdot I \text{ S}}$$

~~11~~
~~11~~

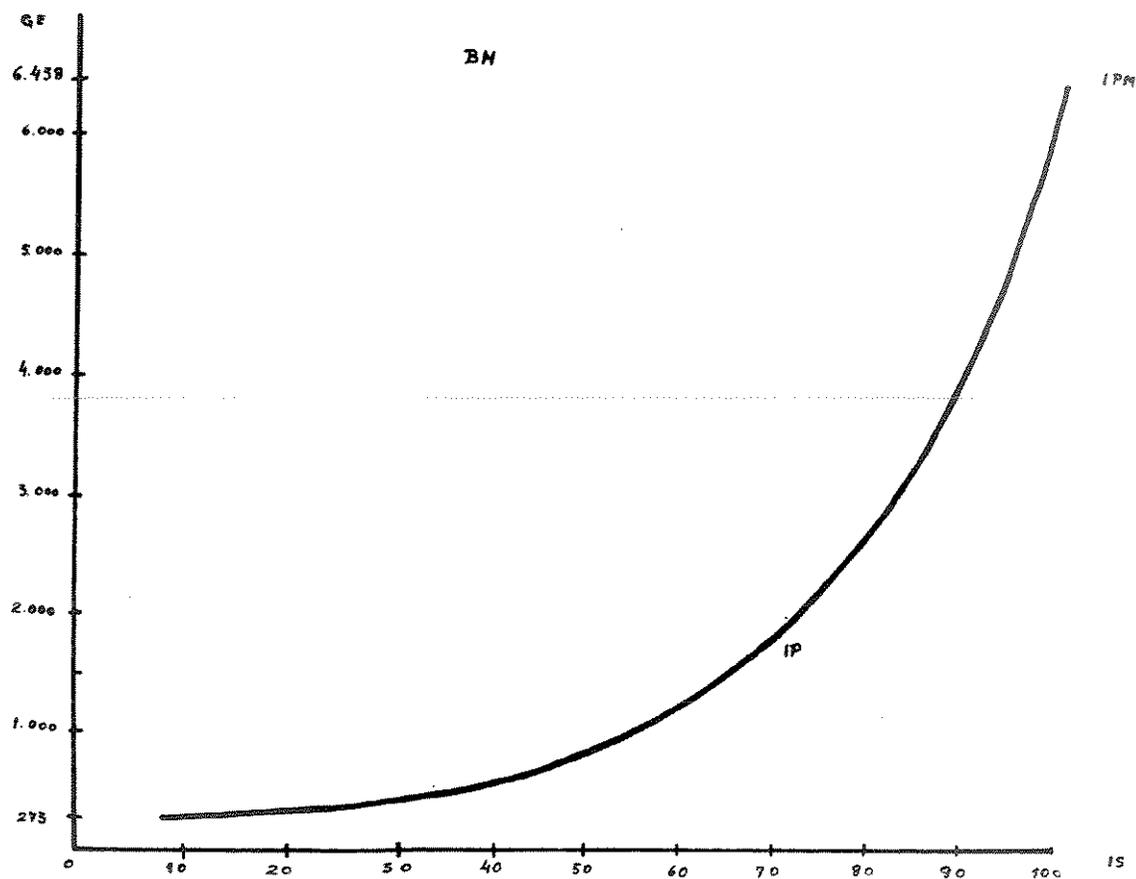
Linhagem de Belo Horizonte

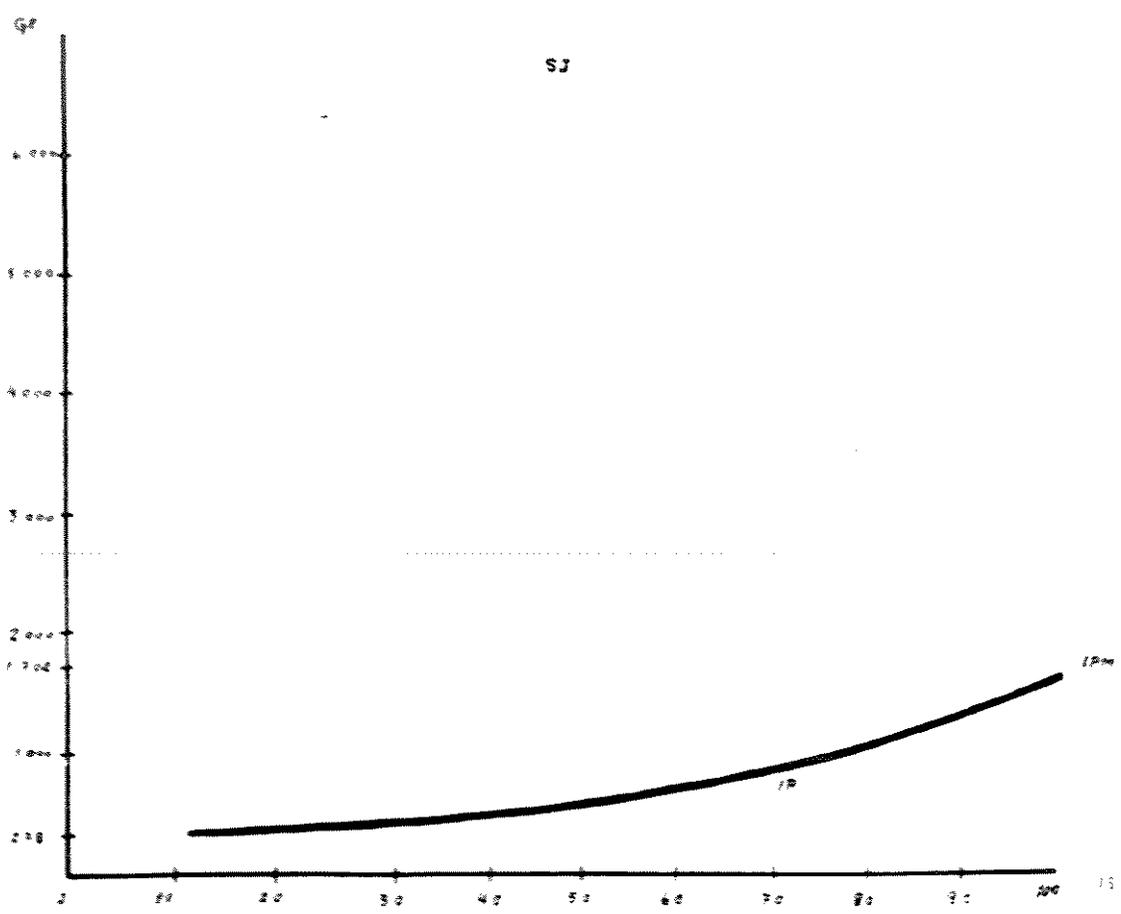
Parasita	
x	y
100	6.438
79	2.779
75	2.368
71	2.018
67	1.719
66	1.652
58	1.199
50	871
42	632
38	539
33	441
17	320
8	273

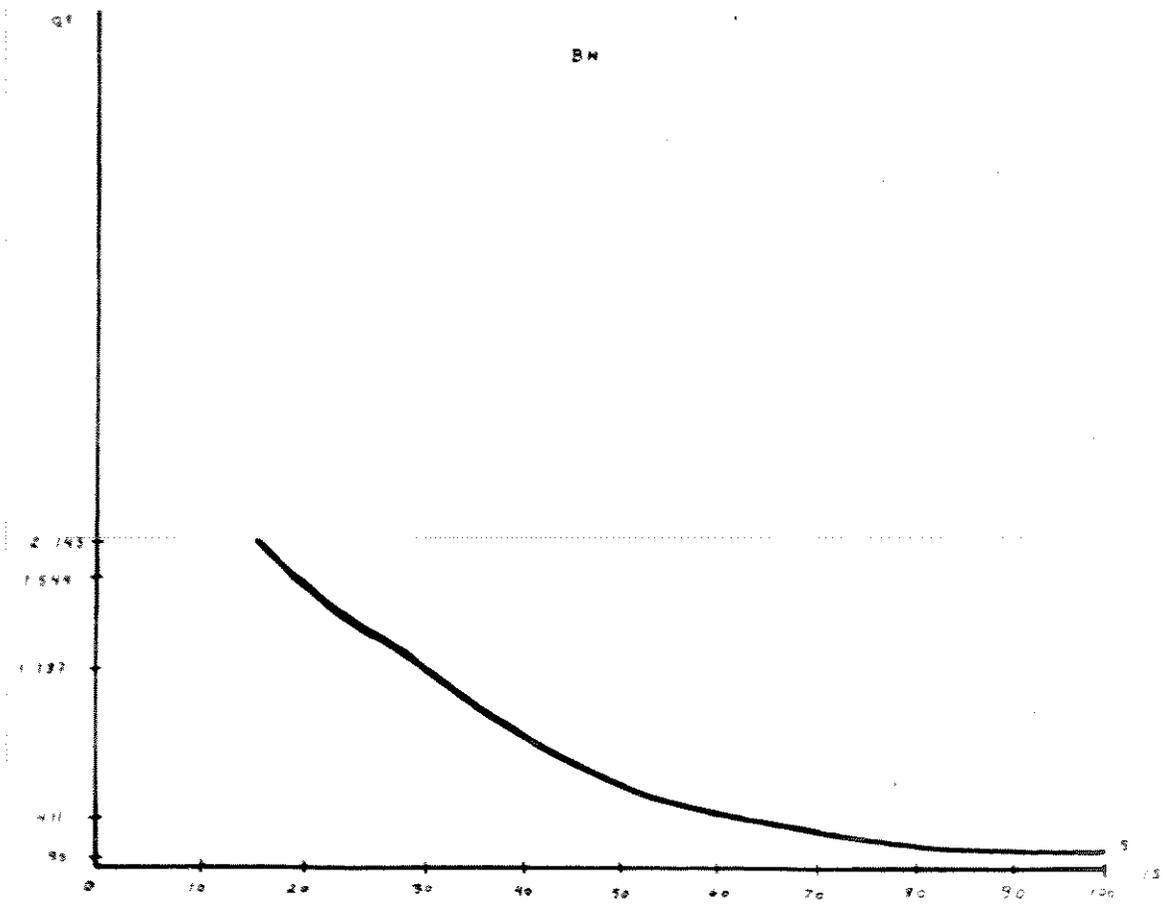
Linhagem de São José dos Campos

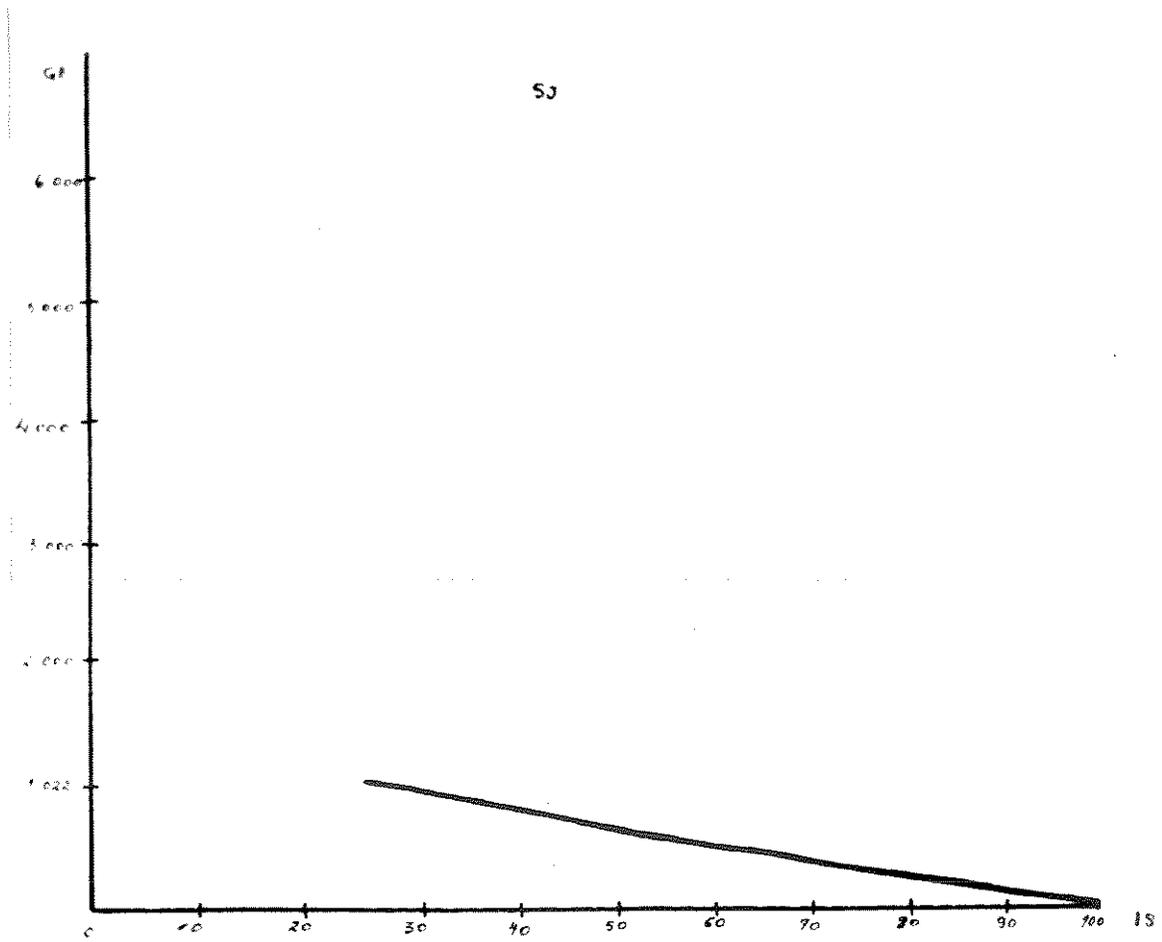
PARASITA	
x	y
100	1.702
83	1.199
78	1.085
67	871
61	765
56	692
50	614
44	544
39	492
33	432
22	347
11	278

Podemos construir os seguintes gráficos das funções:









Obtidos os gráficos, observamos que o IPM da linhagem de Belo Horizonte (Minas Gerais) é igual a 6.438 e o da linhagem de São José dos Campos (São Paulo) é igual a 1.702.

O IPM de Belo Horizonte é 3,78 vezes maior que o da linhagem paulista.

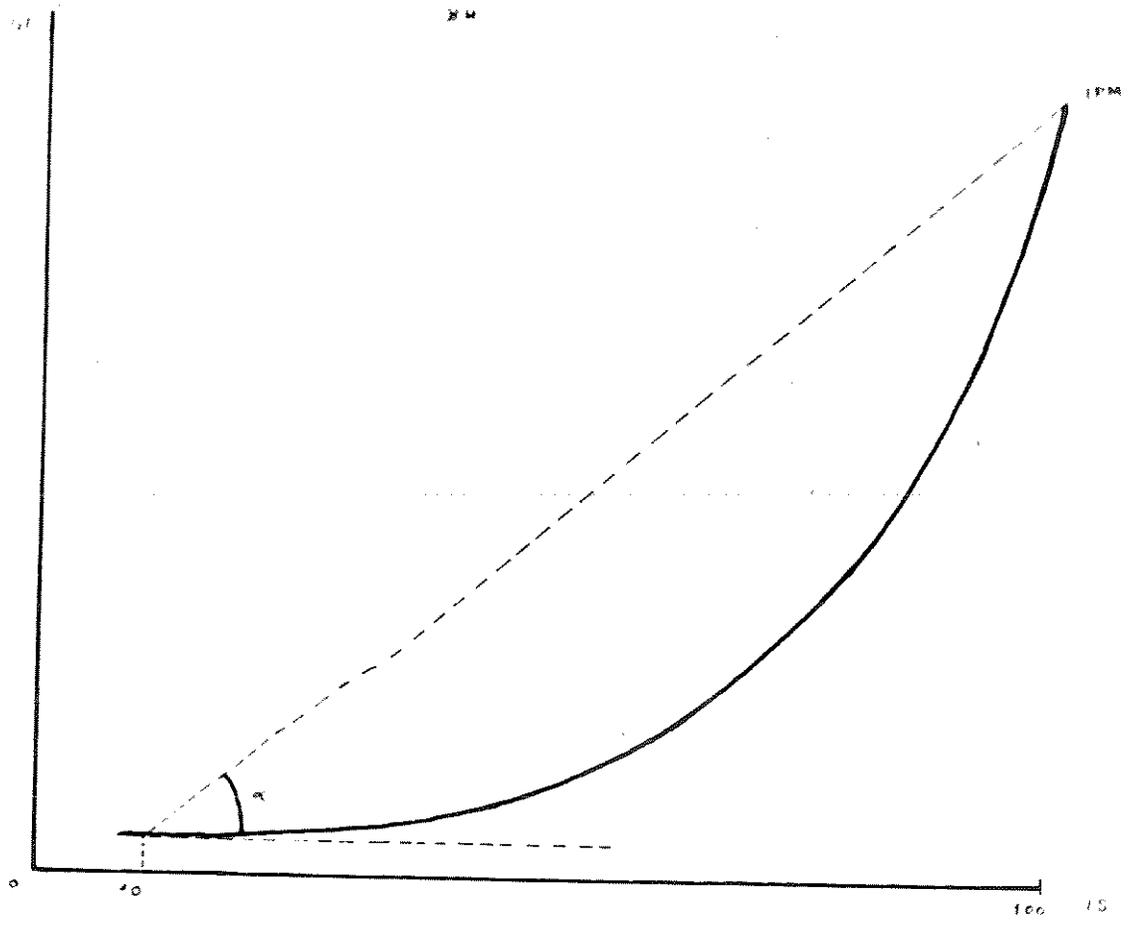
Concluimos que o *Schistosoma mansoni* de Belo Horizonte, nessa experiência, possui uma capacidade 3,78 vezes maior do que o de São José dos Campos em espoliar o hospedeiro utilizado no período de 60 dias.

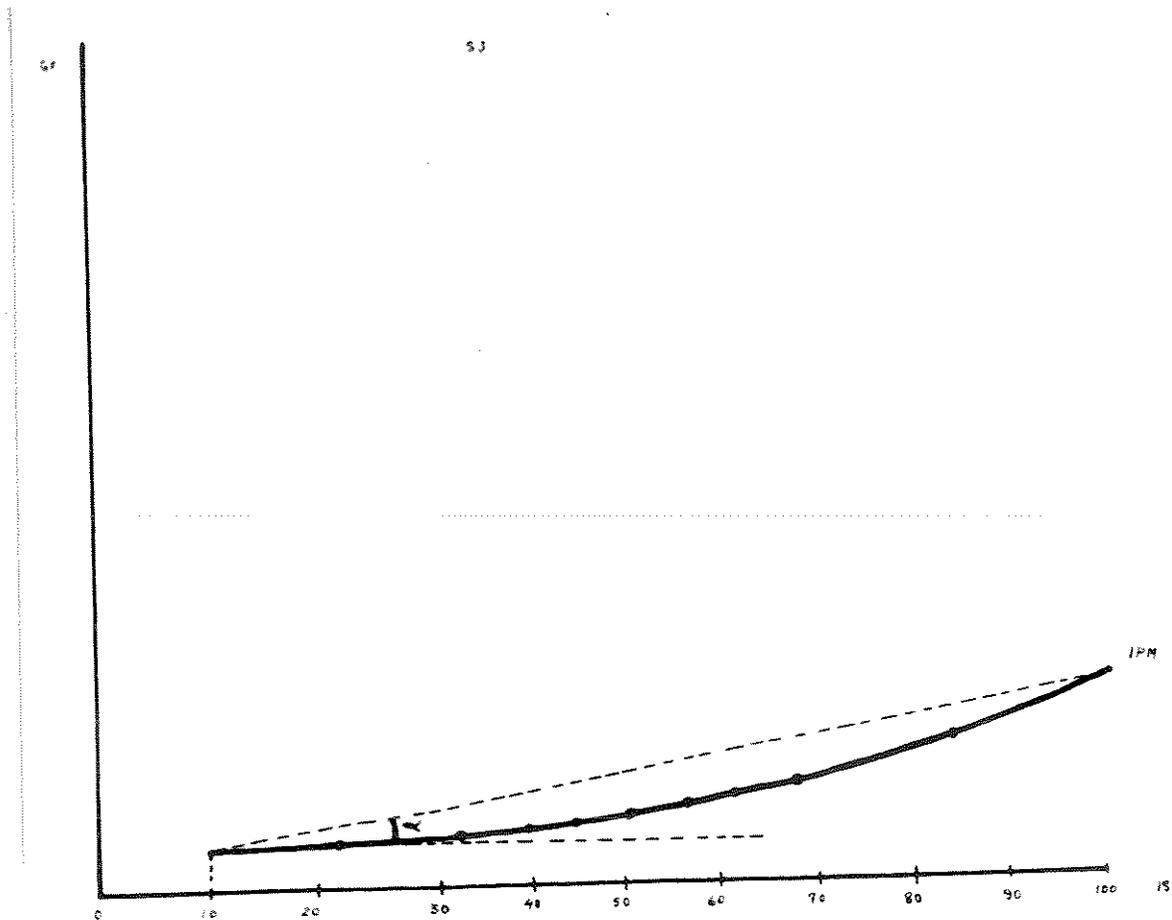
A suscetibilidade do camundongo ao *Schistosoma mansoni* de São José dos Campos apresentou valor menor do que 1 e a linhagem mineira apresentou valor de 95.

A suscetibilidade no sentido utilizado neste trabalho é maior para a linhagem BF, isto é, esta linhagem forneceu um nível de espoliação mais elevado em que não havia modificação do índice de sobrevivência do hospedeiro no período da experiência.

Nos gráficos que se seguem, observamos - que na linhagem BF o ângulo α é igual a 41° .

Na linhagem SJ $\alpha = 10^\circ$.

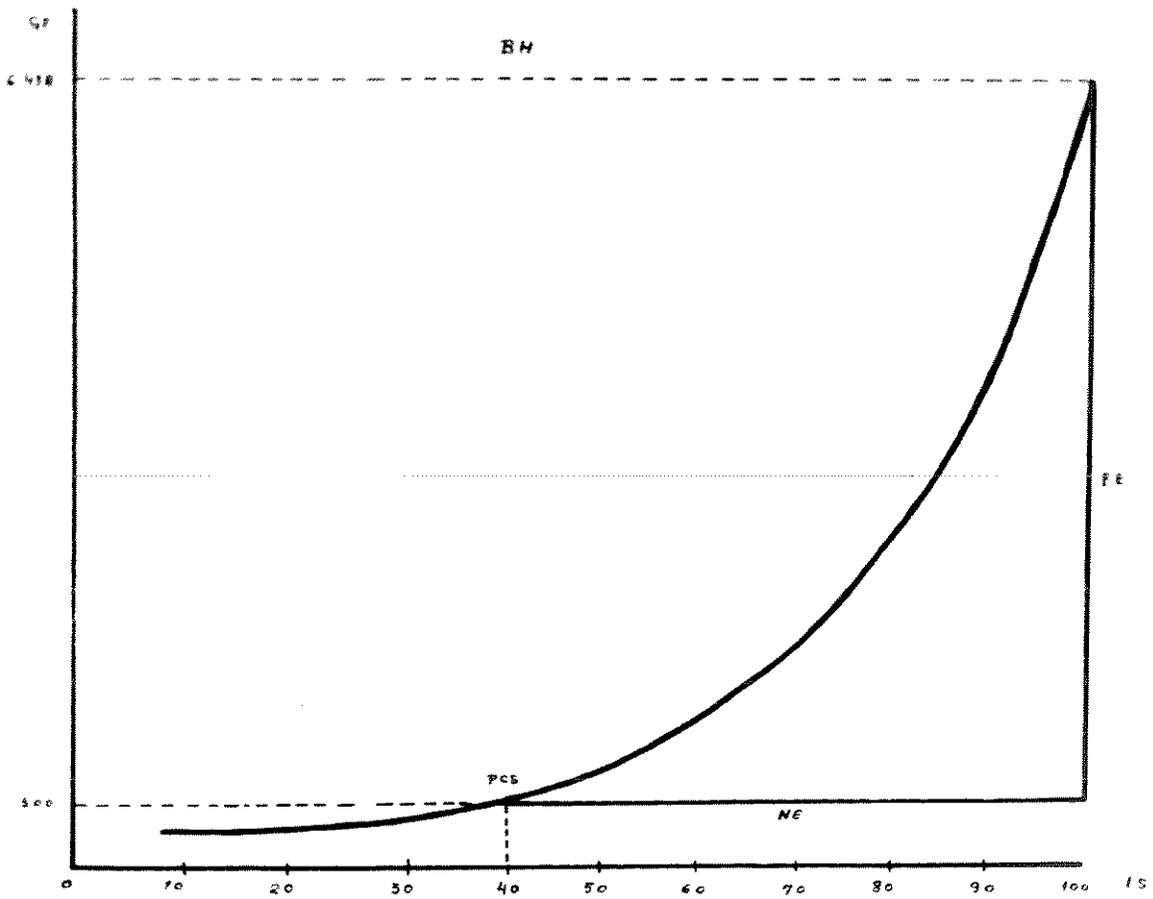


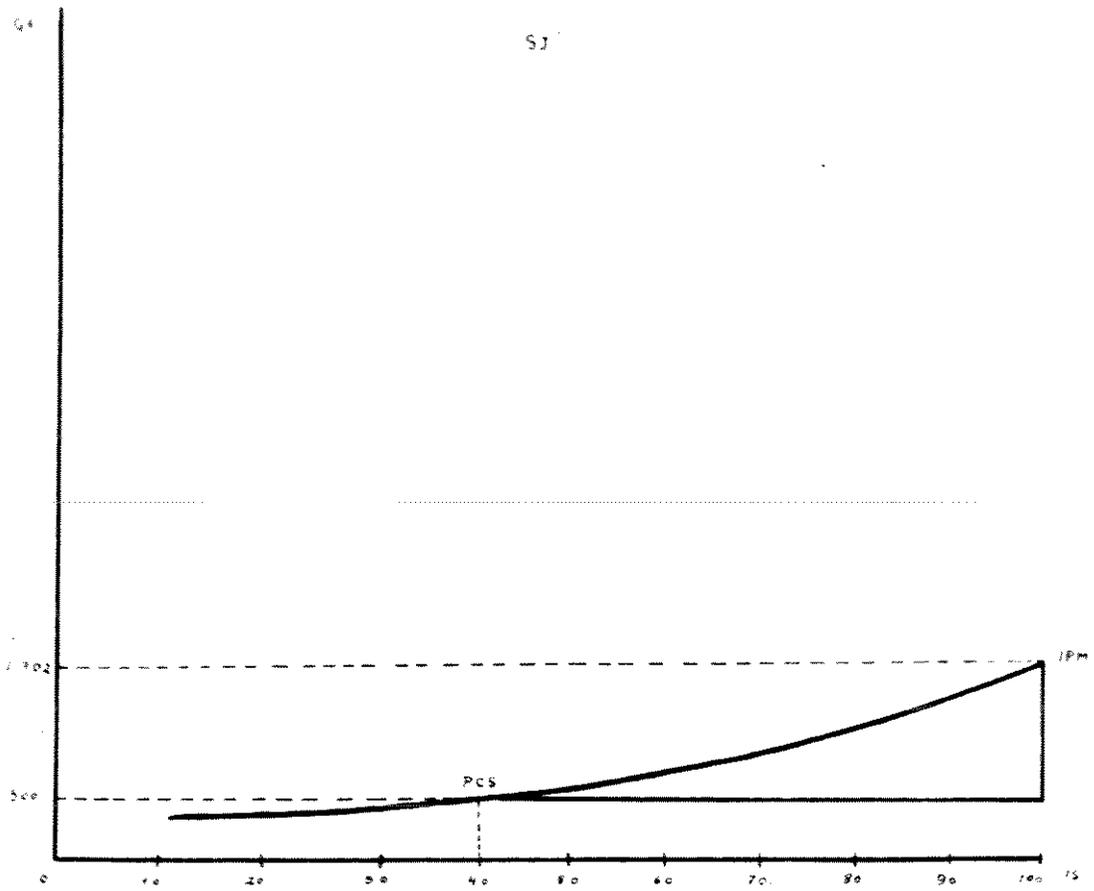


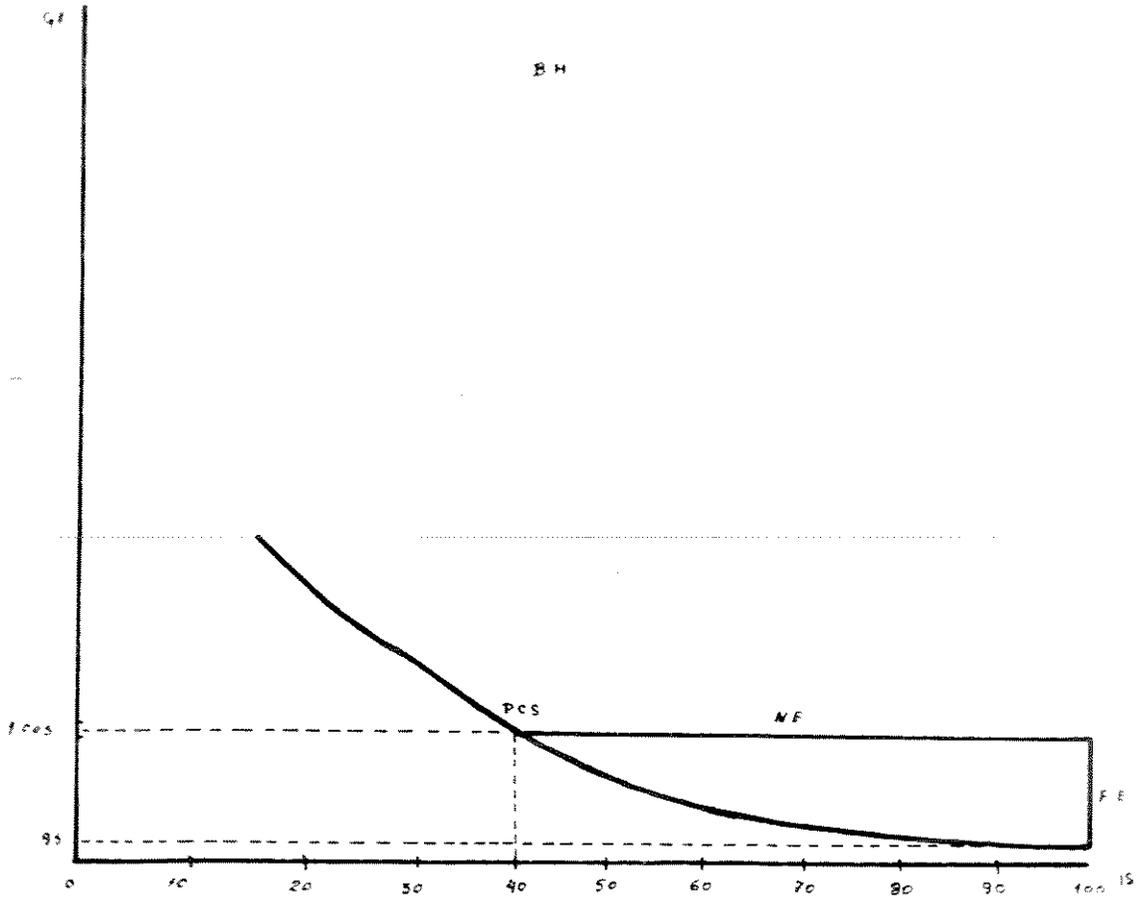
Concluimos pela análise dêste dado que, o *Schistosoma mansoni* de BE é menos adaptado ao hospedeiro utilizado do que o *Schistosoma mansoni* de SJ.

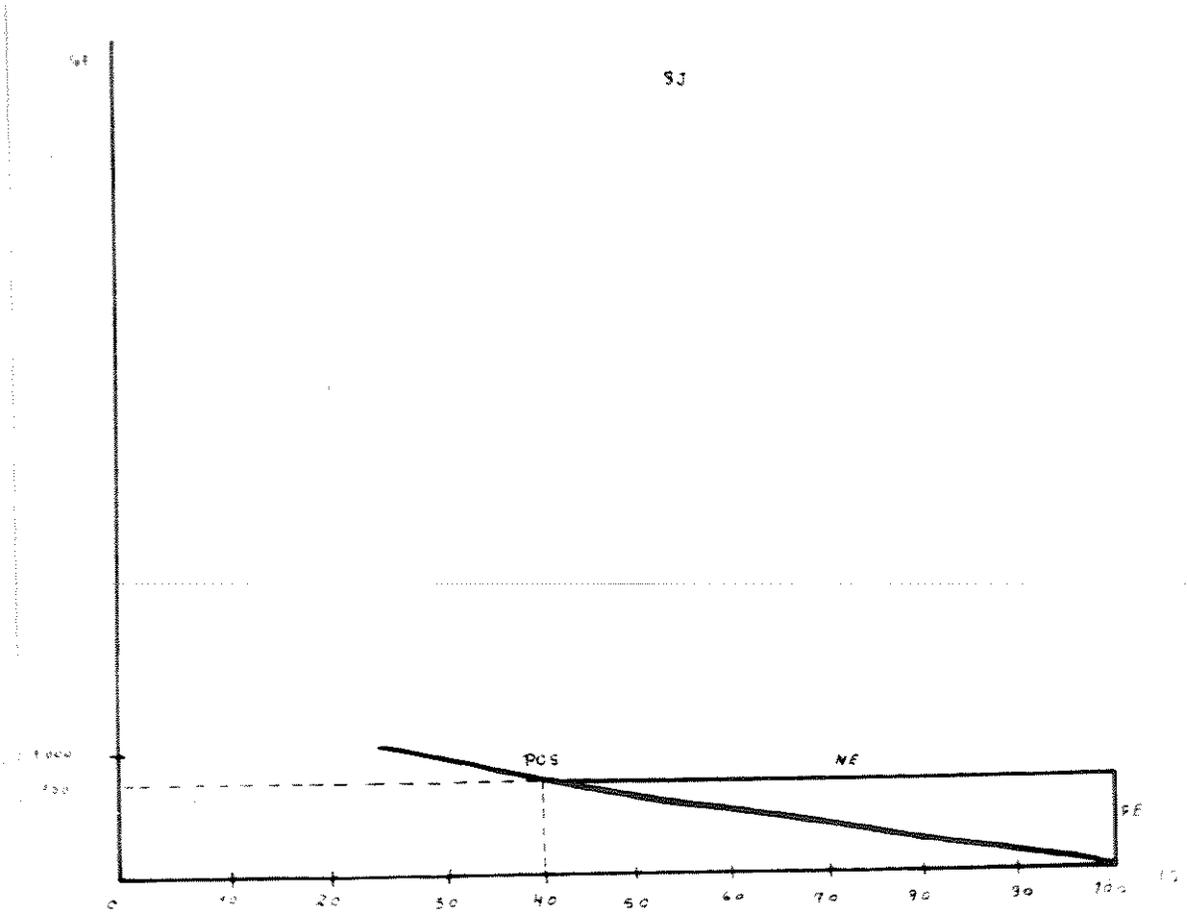
O sentido do termo adaptação aqui usado, não significa uma maior facilidade à infecção, mas sim, uma maior facilidade à interação parasita-hospedeiro.

Em outras palavras, significa que o parasita consegue sobreviver causando um grau de espoliação menor do que o de outro parasita menos adaptado ao hospedeiro.









Somente são encontrados limites comuns de sobrevivência para o parasita e para o hospedeiro abaixo do índice de sobrevivência correspondente ao POP. Por este motivo, só poderemos arbitrar o limite de sobrevivência mínimo abaixo daquele índice.

O ponto crítico de sobrevivência, determinado pelo limite de sobrevivência mínima que foi arbitrado em 40%, compreende para BE:

parasita 500 GE

hospedeiro 1.005 GE

e para SJ:

hospedeiro 750 GE

parasita 500 GE

Conclui-se que o limite mínimo do grau de espoliação necessário à manutenção da espécie do parasita ao nível de 40% de sobrevivência, é o mesmo para as duas linhagens.

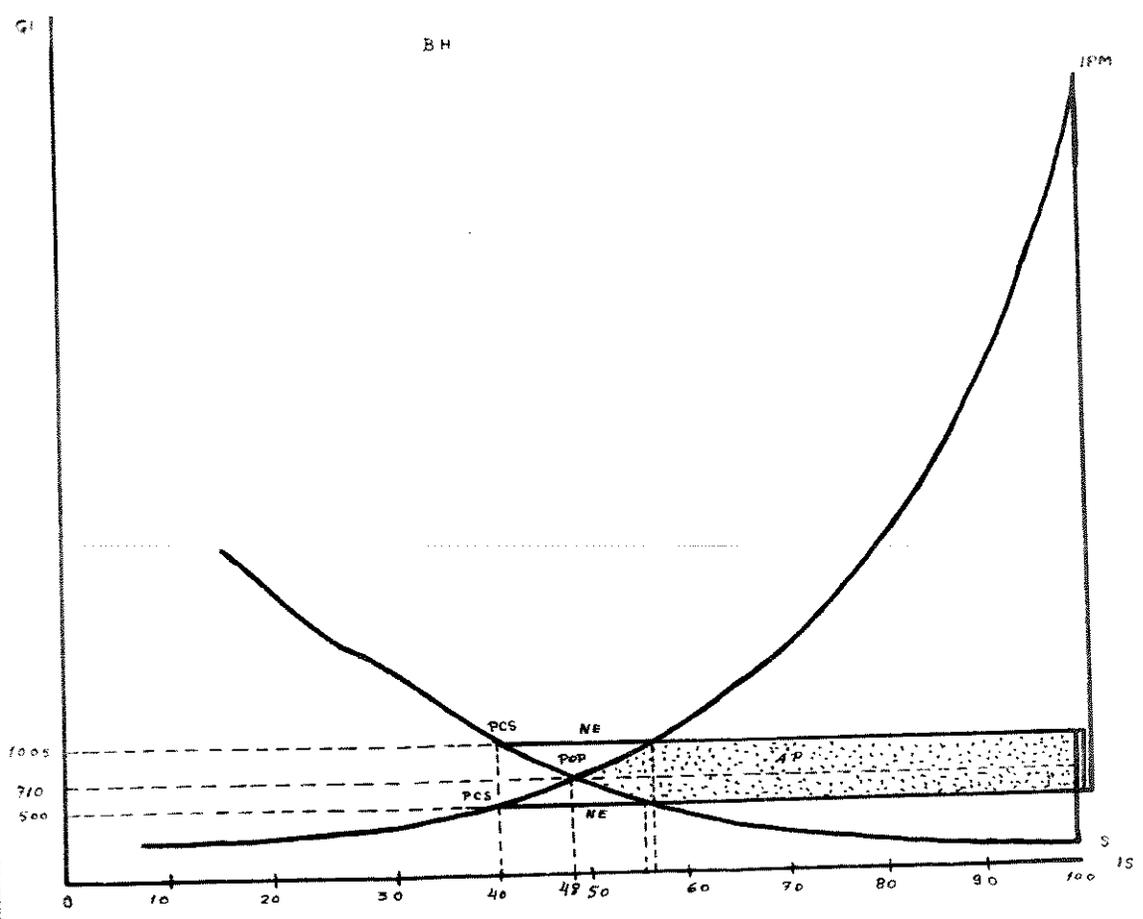
Conclui-se que o limite máximo do grau de espoliação permitido para a manutenção do hospedeiro ao nível de 40% de sobrevivência, é maior para BE do que para SJ.

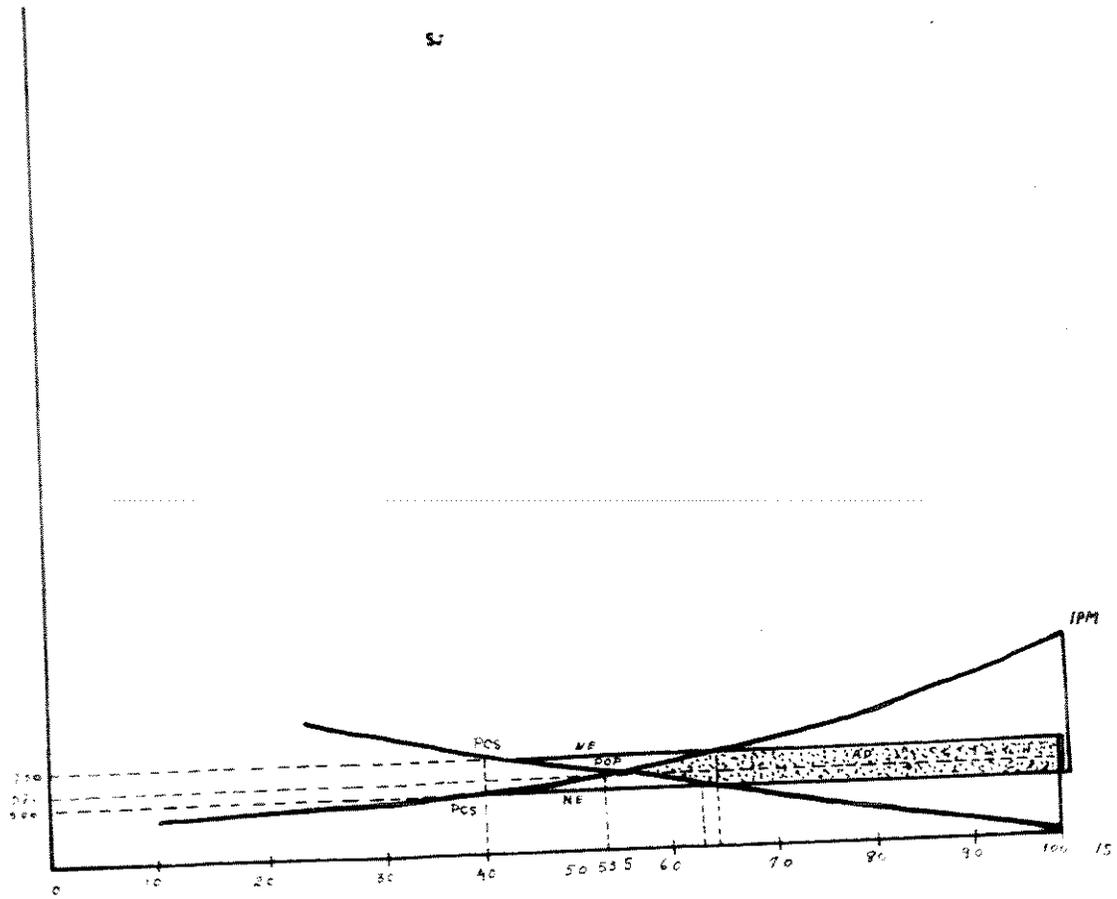
O ponto crítico de sobrevivência determina para o parasita o nível mínimo de espoliação, e para o hospedeiro o nível máximo que possibilita manter a experiência dentro dos limites já referidos.

Projetando-se o nível de espoliação no eixo das abcissas obtem-se a faixa de sobrevivência permitida - nos limites da experiência, que em ambos os casos é a mesma, pois foi fixada arbitrariamente, acima de 40%.

A faixa de espoliação no hospedeiro projetada no eixo das ordenadas, determina para BE uma variação de 95 a 1.005 GE, e para SJ 0 a 750 GE.

A faixa de espoliação do parasita é para BE de 500 a 6.438 e para SJ de 500 a 1.702 GE.





O ponto ótimo de parasitismo na experiência é para BH determinado pelos valores $Y = 710$ e $X = 48$.

Para SJ: $Y = 570$ e $X = 53,5$.

Verificamos que este ponto para BI é determinado por um maior grau de espoliação e por uma menor percentagem de sobrevivência.

Verificamos também que, nas condições estabelecidas na experiência, isto é, ao nível de 40% de sobrevivência, este ponto coloca-se dentro dos limites de sobrevivência estabelecidos neste trabalho para as duas linhagens.

Verifica-se também que para a linhagem BF o ponto ótimo de parasitismo é fornecido pela infecção de aproximadamente 42 cercárias e para a linhagem de SJ de 55 cercárias.

Este ponto ótimo de parasitismo por definição é o ponto em que os graus de espoliação cedidos pelo hospedeiro e ganhos pelo parasita são iguais e em que a percentagem de sobrevivência dos dois é também igual.

A faixa de espoliação possível, nas condições da experiência, projetada no eixo das ordenadas, fornece para BI os valores de 500 a 1.005 GE e para SJ os valores de 500 a 750 GE.

A área de parasitismo possível tem valor para BI de 26.246 GE.I S e para SJ o valor de 12.254 GE.I S.

VII - Conclusões obtidas nas condições da experiência,

1º) A linhagem de *Schistosoma mansoni* de BH é mais patogênica e possui em média 13,78 vezes a capacidade de produzir granulomas hepáticos do que a linhagem de SJ no período de tempo de 60 dias.

2º) O *Schistosoma mansoni* de SJ consegue sobreviver no camundongo de laboratório, provocando um grau de espoliação menor do que o produzido pelo *Schistosoma mansoni* de BE.

3º) O limite mínimo do grau de espoliação necessário a manutenção das linhagens estudadas de *Schistosoma mansoni* é o mesmo dentro das condições estabelecidas.

4º) O limite máximo do grau de espoliação permitido, tendo-se em vista a sobrevivência do hospedeiro, é maior no parasitismo pelo *Schistosoma mansoni* de BH do que no de SJ.

5º) O POP na linhagem de BE é fornecido por um maior grau de espoliação e por um menor índice de sobrevivência do que na linhagem de SJ.

6º) Sugere-se para a manutenção das linhagens em laboratório a quantidade de 42 cercárias de *Schistosoma mansoni* de BE por camundongo e de 55 cercárias de *Schistosoma mansoni* de SJ, utilizando para infecção o método descrito por Magalhães, 1969.

7º) O *Schistosoma mansoni* de BE apresentou um nível de espoliação mais elevado em que não há diminuição do índice de sobrevivência do hospedeiro.

89) Acima de um determinado valor do grau de espoliação, observa-se uma maior resistência nos camundongos infectados com a linhagem de *Schistosoma mansoni* de BF do que nos infectados com a linhagem de SJ. Esta maior resistência é traduzida por um índice de sobrevivência relativamente maior apresentado pelos camundongos infectados com a linhagem mineira.

99) Na faixa de espoliação possível determinada pelo limite de sobrevivência mínima estabelecido, o índice de sobrevivência varia para o parasita de BF de 40 a 56,5 I S e para o de SJ de 40 a 64,5 I S. Sob estas mesmas condições o índice de sobrevivência para o hospedeiro infectado pelo *Schistosoma mansoni* de BF varia de 40 a 55,5 I S e para o de SJ de 40 a 63 I S.

CIT AÇÕES BIBLIOGRÁFI CAS

Brener, Z., 1956 - Observações sôbre a infecção do camundongo pelo *Schistosoma mansoni*. Rev. Bras. Malariol. Doen. Trop., 8(4):565-575.

Brener, Z., 1962 - Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da esquistossomose mansônica. Tese de cátedra. Belo Horizonte.

Brener, Z.; Pellegrino, J. & Oliveira, F. C., 1956 - Terapêutica experimental da esquistossomose mansoni. Aplicação do método de isolamento de granulomas do fígado de camundongos. Rev. Bras. Malariol. Doen. Trop., 8(4): 583-587.

Hill, J., 1956 - Chemoterapeutic studies with laboratory infections of *Schistosoma mansoni*. Ann. Trop. Med. Parasit., 50:39-48.

Kuntz, R.E.; Malakatis, G.M. & Wells, W.H., 1953 - Susceptibility of laboratory animals to infection by the egyptian strain of *Schistosoma mansoni* with emphasis on the albino mouse. Comptes Rendus V Congr. Intern. Med. Trop. Palud., 2:374.

Magalhães, L.A., 1969 - Técnica para a avaliação da viabilidade de penetração de cercárias de *Schistosoma mansoni* em *Mus musculus*. Hospital, 75(5):137-140.

Magalhães, L.A. & Carvalho, J.F., 1969 - Verificação do número de machos e fêmeas de *Schistosoma mansoni* capturados em camundongos infectados por duas cepas do helminto. Aceito para publicação pela Rev. Soc. Bras. Med. Trop.

Moore, D.V.; Yolles, T.K. & Meleney, H., 1949 - A comparison of common laboratory animals as experimental hosts for *Schistosoma mansoni*. J. Parasit., 35:156-170.

Paraense, W.L. & Corrêa, L.R., 1963 - Sobre a ocorrência de duas raças biológicas do *Schistosoma mansoni* no Brasil. Ciên. Cult., 15(3):245-246.

Pellegrino, J. & Brener, Z., 1956 - Method for isolating schistosome granulomas from mouse liver. J. Parasit. 42(6):564.

Piza, J.T.; Ramos, A.S.; Brandão, C.S.H. & Figueiredo, C.G., 1959 - A esquistossomose no Vale do Paraíba (Estado de São Paulo-Brasil). Observações sobre a doença em alguns municípios e a fauna planorbídica da região. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 19:97-143.

Piza, J. T. & Ramos, A.S., 1960 - Os focos autóctones de esquistossomose no Estado de São Paulo. Arq. Hig. Saúde Públ. São Paulo, 25(86):261-271.

Standen, O.D., 1953 - The relationship of sex in *Schistosoma mansoni* to migration within the hepatic port system of experimentally infected mice. Ann. Trop. Med. Parasit. 47:139-145.

Stirewalt, M.A.; Kuntz, R.E. & Evans, A.S., 1951 - The relative susceptibility of the commonly used laboratory mammals to infection by *Schistosoma mansoni*. Am. J. Trop. Med., 31(1):57.

Yolles, T.K.; Moore, D.V.; De Ginsti, D.L.; Ripson, C.A. & Meleney, H.E., 1947 - A technique for the perfusion of laboratory animals for the recovery of schistosomes. J. Parasit., 33: 419-426.

Zhdanov, V., sem data - Epidemiology. Moscow.