

MARIA ANGÉLICA CERONE ROSA-GUITTI



Inscrição  
Out. 1/95

mt  
**ASPECTOS BIOLÓGICOS DA INTERAÇÃO ENTRE  
*Strongyloides venezuelensis* E *Schistosoma mansoni*  
EM CAMUNDONGO SWISS.**

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

**Orientadora:** Profa. Dra. Marlene Tiduko Ueta

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
1995

|  |           |
|--|-----------|
| este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato(a) |           |
| <i>Maria Angélica Cerone Rosa - Guitti</i>                                       | <i>05</i> |
| e aprovada pela Comissão Julgadora.  | <i>07</i> |
|  | <i>95</i> |

*Marlene Tiduko Ueta*

00077816-6

|            |                                     |
|------------|-------------------------------------|
| UNIDADE    | 7bc                                 |
| N.º CHAMA  | A:                                  |
| 7/UNICAMP  |                                     |
| G 949a     |                                     |
| F. 125827  |                                     |
| P.º 433/95 |                                     |
| C          | <input type="checkbox"/>            |
| D          | <input checked="" type="checkbox"/> |
| PREÇO      | 88,11,00                            |
| DATA       | 05/10/95                            |
| N.º CPD    |                                     |

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA CENTRAL - UNICAMP

Guitti, Maria Angélica Cerone Rosa

G949a Aspectos biológicos da interação entre *Strongyloides venezuelensis* e *Schistosoma mansoni* em camundongos Swiss / Maria Angélica Cerone Rosa Guitti. -- Campinas, SP : [s.n.], 1995.

Orientador : Marlene Tiduko Ueta.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Infecção. 2. Camundongo. 3. *Schistosoma mansoni*.  
4. *Strongyloides*. I. Ueta, Marlene Tiduko. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

LOCAL E DATA: Campinas, 05 de Julho de 1995

**BANCA EXAMINADORA:**

**TITULARES:**

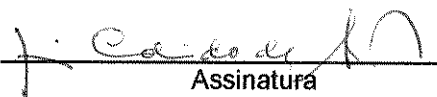
Profa. Dra. MARLENE TIDUKO UETA (Orientador)

  
Assinatura

Prof. Dr. LUIZ AUGUSTO MAGALHÃES

  
Assinatura

Prof. Dr. LUIZ CANDIDO DE SOUZA DIAS

  
Assinatura

**SUPLENTE:**

Profa. Dra. ANA M<sup>a</sup>. A. GUARALDO

\_\_\_\_\_  
Assinatura

**APROVADA**

Aos meus PAIS Carlos e Nilza,  
agradeço por terem feito de mim o que sou,  
por terem compartilhado deste trabalho no  
amor, carinho e compreensão.

Ao meu marido GIL, pelo  
incentivo e paciência nos momentos difíceis e  
a MARINA fruto do nosso amor.

## **AGRADECIMENTOS**

A profa. Dra. Marlene Tidiko Ueta, pela orientação, ensinamentos, dedicação, amizade e participação constante em todas as fases deste trabalho, nos mais variados horários (dia e noite) e dias (normais, sábados, domingos e feriados).

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

A FAEP pelo suporte financeiro.

Ao prof. Dr. Luiz Candido de Souza Dias, prof. Dr. Luiz Augusto Magalhães e a profa. Dra. Selma Gorge pela atenciosa leitura e sugestões dadas na análise prévia.

A prof. Dra. Eliana M<sup>a</sup> Zanotti-Magalhães pela atenção na leitura deste trabalho, bibliografias indicadas e dúvidas esclarecidas.

Aos docentes do Departamento de Parasitologia (UNICAMP), pelos conhecimentos e experiências compartilhados, em especial a profa. Rosângela Junqueira Rocha pela convivência e ensinamentos na iniciação científica.

Ao prof. Dr. José Ferreira de Carvalho pela análise estatística.

Aos funcionários do Departamento de Parasitologia (UNICAMP) pela atenção, pelos auxílios prestados, em especial ao João, Ivo pela ajuda na parte prática, ao Sr. Geraldo e a Cleusa.

Ao Rubens pela amizade, atenção e paciência, principalmente pelo aprendizado quanto a utilização dos programas de computador.

A Patrícia, Verônica, Ângela, Ariana, Luciana e ao Chico pela amizade e convivência.

Aos demais amigos e colegas do Departamento pela troca de experiências, pela convivência e diversões.

Aos meus irmãos Álvaro e Cecília pelos anos de vida e por fazerem parte da minha família.

## ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| 1 - INTRODUÇÃO .....  | 1  |
| 2 - OBJETIVOS .....   | 12 |
| 3.- MATERIAL E MÉTODOS .....  | 13 |
| 3.1 - Planejamento .....  | 13 |
| 3.2 - Animais e Linhagens utilizadas.....   | 16 |
| 3.3 - Obtenção de larvas filarióides de <i>S. venezuelensis</i><br>e cercárias de <i>S. mansoni</i> para infecção dos animais ..... | 16 |
| 3.4 - Infecção dos camundongos .....  | 17 |
| 3.5 - Recuperação dos vermes .....  | 17 |
| 3.6 - Contagem de ovos nas fezes.....   | 18 |
| 3.7 - Morfometria dos vermes .....  | 19 |
| 3.8 - Procedimentos estatísticos.....   | 20 |
| 4 - RESULTADOS .....  | 21 |
| 4.1 - <i>Strongyloides venezuelensis</i> - Análise biológica .....  | 21 |
| 4.2 - <i>Strongyloides venezuelensis</i> - Análise morfométrica .   | 24 |
| 4.3 - <i>Schistosoma mansoni</i> - Análise biológica .....  | 37 |
| 4.4 - <i>Schistosoma mansoni</i> - Análise morfométrica .....   | 41 |
| 4.5 - Interação de <i>Strongyloides venezuelensis</i> e<br><i>Schistosoma mansoni</i> .....   | 52 |
| 5 - DISCUSSÃO .....   | 57 |
| 5.1 - Recuperação das larvas de <i>S. venezuelensis</i> e dos<br>adultos de <i>S. venezuelensis</i> e <i>S. mansoni</i> .....       | 59 |
| 5.2 - Eliminação dos ovos nas fezes dos animais e<br>número de ovos por fêmea de <i>S. venezuelensis</i> e <i>S. mansoni</i> .....  | 64 |
| 5.3 - Morfometria de <i>S. venezuelensis</i> e <i>S. mansoni</i> .....  | 70 |
| 6 - CONCLUSÃO .....   | 72 |
| 7 - RESUMO.....   | 73 |
| 8 - SUMMARY .....   | 74 |
| 9 - BIBLIOGRAFIA.....   | 75 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 - Morfometria das fêmeas de <i>S. venezuelensis</i> ....  | 27 |
| Figura 2 - Morfometria dos adultos de <i>S. mansoni</i> .....  | 28 |
| Figura 3 - Número médio e porcentagem de larvas de<br><i>S. venezuelensis</i> recuperadas do pulmão dos camundongos no<br>2º DAI, nos diferentes grupos experimentais nas três réplicas..... | 29 |
| Figura 4 - Número médio e porcentagem de adultos de<br><i>S. venezuelensis</i> recuperados no 5º, 7º e 10º DAI nos diferentes<br>grupos experimentais .....                                  | 30 |
| Figura 5 - Número médio de ovos por grama de fezes<br>(OPG) de <i>S. venezuelensis</i> observados no 5º, 7º e 10º DAI nos<br>diferentes grupos experimentais .....                           | 31 |
| Figura 6 - Proporção em porcentagem das medidas do<br>esôfago e da vulva em relação ao comprimento total(mm) da<br>fêmea de <i>S.venezuelensis</i> .....                                     | 32 |
| Figura 7 - Número médio de ovos por grama de fezes<br>(OPG) de <i>S. mansoni</i> no 40º, 50º e 60º DAI nos diferentes grupos<br>de infecção .....  | 43 |
| Figura 8 - Machos de <i>Schistosoma mansoni</i> .....  | 44 |



## INDÍCE DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1 - Número médio e porcentagem de fêmeas de <i>S. venezuelensis</i> recuperadas do intestino nos diferentes grupos experimentais .....   | 33 |
| Tabela 2 - Número médio de ovos observados por grama de fezes(OPG) e valor médio de OPG/Fêmea de <i>S. venezuelensis</i> nos diferentes grupos experimentais.....                                 | 34 |
| Tabela 3 - Valor médio de OPG/Fêmea de <i>S. venezuelensis</i> nos diferentes grupos experimentais e dias de infecção (DAI).....  | 34 |
| Tabela 4 - Média das medidas (mm) das fêmeas parasitas de <i>S. venezuelensis</i> nos diferentes grupos experimentais.....  | 35 |
| Tabela 5 - Média das medidas (mm) das fêmeas parasitas de <i>S. venezuelensis</i> dos grupos experimentais nos diferentes dias (DAI) .....  | 36 |
| Tabela 6 - Número médio de machos (M), fêmeas (F), casais (C), média total de fêmeas (F+C), de machos (M+C) e média total de vermes de <i>S. mansoni</i> nos diferentes grupos experimentais..... | 45 |
| Tabela 7 - Número médio de fêmeas, machos e casais de <i>S. mansoni</i> e % de recuperação dos vermes nos diferentes dias de infecção (DAI).....  | 46 |
| Tabela 8 - Número médio de ovos por grama de fezes (OPG) e número médio de ovos por grama de fezes por fêmeas (OPG/Fêmeas ) em cada grupo experimental .....                                      | 47 |
| Tabela 9 - Valor médio de OPG/Fêmea de <i>S. mansoni</i> nos diferentes grupos experimentais e dias .....   | 47 |

Tabela 10 - Número médio de fêmeas e machos de *S. mansoni* examinados, número médio de fêmeas com um ovo no útero, número médio de lobos testiculares nos machos e número médio de machos com lóbulos testiculares deslocados nos diferentes grupos experimentais..... 48

Tabela 11 - Número médio de fêmeas de *S. mansoni* com um ovo no útero, número médio de lobos testiculares nos machos e número médio de machos que apresentaram lóbulos testiculares deslocados nos diferentes grupos experimentais e dias de infecção..... 49

Tabela 12 - Média das medidas (mm):comprimento total (CT), largura (L) e distância entre as ventosas (V) das fêmeas e dos machos de *S. mansoni* nos diferentes grupos experimentais..... 50

Tabela 13 - Média das medidas (mm):comprimento total (CT), largura (L) e distância entre as ventosas (V) das fêmeas e machos de *S. mansoni* nos diferentes dias e grupos experimentais ..... 51

## **INTRODUÇÃO**

## 1 - INTRODUÇÃO

Em várias regiões do mundo onde o parasitismo é endêmico e a prevalência de algumas helmintoses humanas é bastante alta, vêm sendo desenvolvidos estudos sobre epidemiologia e biologia dos parasitos, na tentativa de melhor compreender a dinâmica da transmissão nas várias áreas. As geohelmintíases e as esquistossomíases são as infecções mais comuns no mundo atual (STEPHENSON & HOLLAND, 1987; GUYATT, 1991). *Ascaris lumbricoides* infecta uma quarto da população do mundo, cerca de 800-1300 milhões de pessoas; os ancilostomatídeos infectam um quinto da população do globo, aproximadamente 700-900 milhões de pessoas; *Trichuris trichiura*, atinge mais de 500 milhões de pessoas (CROMPTON et alii, 1989; PETERS & GILLES, 1981); A infecção por *Strongyloides stercoralis* é calculada em mais de 56 milhões de pessoas (PETERS & GILLES, 1981). A esquistossomose é atualmente endêmica em 74 países e a estimativa global é que existam 200 milhões de pessoas infectadas e 500 a 600 milhões de pessoas expostas ao risco de infecção. Essa situação ocorre principalmente em zonas rurais e agrícolas (WHO, 1991). A distribuição das parasitoses, está intimamente relacionada aos hábitos culturais e sócio-econômicos da região. O trabalho desenvolvido pela comunidade muitas vezes facilita o contato com o parasito, o que pode resultar em alta prevalência de determinada parasitose. Esse aspecto foi abordado por GRYSEELS (1991) que estudou a epidemiologia de *Schistosoma mansoni* em Burundi onde a distribuição da infecção na população foi determinada principalmente pelo contato com a água devido ao cultivo de arroz. MARÇAL JÚNIOR et alii (1993) estudaram os fatores de risco para infecção por *S. mansoni* no município de Pedro de Toledo, São Paulo, Brasil e constataram que as atividades

recreativas desenvolvidas na região como nadar, brincar e pescar, devido ao contato com águas naturais, foram responsáveis pela transmissão da esquistossomose. O interesse pela saúde pública intensifica-se principalmente com relação as crianças em idade escolar (NEWELL & NABARRO, 1989; SCHAD, 1991). As precárias condições de moradia, ausência de hábitos de higiene, falta de saneamento básico aliados a má nutrição, tornam o homem mais suscetível às parasitoses, acarretando deficiência no desenvolvimento físico e mental além de provocar altas taxas de mortalidade infantil (STEPHENSON & HOLLAND, 1987). THEINHLAING et alii (1984) estudaram a epidemiologia e a dinâmica de transmissão de *Ascaris lumbricoides* em Okpo, região rural de Burma. Observaram que a prevalência de infecção na mesma casa, aumentava de maneira proporcional ao tamanho da família, sendo maior nas crianças. Em 1988, FORRESTER et alii também relataram alta prevalência de indivíduos intensamente infectados com *Trichuris trichiura* e *Ascaris lumbricoides* na mesma família. Os autores acreditavam que o fato poderia ser explicado pela similaridade genética. Morbidez associada com infecção de geohelminthos é mais comum em indivíduos altamente infectados e estes representam papel importante na transmissão de parasitas através da comunidade. SCHAD & ANDERSON (1985) sugeriram que a heterogenicidade da infecção dentro da comunidade humana, assim como mecanismos genéticos de resistência do hospedeiro, podem ser importantes para determinar agregação parasitária e predisposição para infecção do hospedeiro.

O avanço industrial e tecnológico pode ser um importante suporte no controle das parasitoses intestinais (COOPER, 1991) e muito se tem investigado na área tecnológica, em imunologia, biologia molecular, produção de vacinas e tecnologia laboratorial. Nos países de terceiro

mundo as precárias condições sócio-econômicas e de saúde pública, afetam diretamente a incidência e a prevalência das parasitoses. O clima, principalmente a temperatura conferem também grandes vantagens ao desenvolvimento dos parasitas intestinais (COOK, 1986). Outros aspectos agravantes podem estar presentes como as zoonoses e o poliparasitismo. Nos trópicos, o poliparasitismo pode envolver doenças de importância na saúde pública tal como a malária, esquistossomose, infecções por filárias, tripanosomíases, geohelmintíases e outras. Infecções múltiplas com parasitas intestinais têm sido estudadas mais frequentemente que outros tipos de poliparasitismo talvez pela sua larga distribuição mundial e relativa facilidade com que amostras fecais podem ser obtidas para detalhado exame parasitológico. Porém, pouco se conhece sobre os possíveis efeitos das infecções múltiplas na morbidade, na resposta imune, no uso de medicamentos, na nutrição, na sensibilidade e especificidade dos diagnósticos clínico e laboratorial. Assim o poliparasitismo pode interferir nos programas de controle e treinamento de pessoal. Em algumas partes do mundo, especialmente na África, o poliparasitismo pode envolver múltiplas infecções com agentes semelhantes causando ainda mais dificuldade no diagnóstico e tratamento. Tal fato foi relatado por BUCK et alii (1978a), que observaram na República do Zaire, infecção com cinco diferentes espécies de filárias que são endêmicas e frequentemente descobertas juntas em alguns indivíduos. Na vila de LAKA somente 11% dos residentes estavam livres de infecção, sendo frequente nesta comunidade indivíduos infectados com dois parasitas, representando 38% da população total. As maiores prevalências na vila foram em ordem de frequência, *Onchocerca volvulus*, *Schistosoma mansoni*, *Dipetalonema perstans* e infecção por malária. BUCK et alii (1978b) observaram associação entre *Dipetalonema perstans* e

*Loa loa* e entre *D. perstans* e *D. streptocerca* em indivíduos com infecções múltiplas. Os autores sugeriram que as ocorrências de pessoas com infecções múltiplas não são devidas somente ao acaso e podem ser selecionadas por fatores que determinem a extensão e a distribuição do poliparasitismo na comunidade.

Assim como os estudos epidemiológicos e de campo, os ensaios experimentais de laboratório, apesar de suas limitações, são importantes para elucidar as consequências do parasitismo múltiplo natural no homem e nos animais. CHRISTENSEN et alii (1987) revisaram o assunto abordando os efeitos sinérgicos ou antagônicos dos diferentes tipos de interações.

Interações antagônicas podem provocar alteração de localização, redução no crescimento e fecundidade, prejudicando o estabelecimento da primeira infecção ou aumentando a expulsão dos dois parasitas em competição. A expulsão de vermes do hospedeiro, depende de alguns fatores como a resposta imune específica e as reações inflamatórias não-específicas (MOQBEL,1986). A eliminação de *Strongyloides venezuelensis* em modelo experimental estudado por CORRÊA (1990), coincide com aumento do número de mastócitos e células caliciformes. NAWA & KORENAGA (1983) relataram demora na expulsão de *Nippostrongylus brasiliensis* e *Strongyloides ratti* em ratos concomitantemente infectados, coincidindo com a demora da ativação de mastócitos. A imunidade cruzada não é um mecanismo envolvido na adaptação de parasitas e na limitação de populações de espécies de parasitas em competição (SCHAD,1966). Em geral os protozoários induzem resistência a uma nova infecção por helmintos e as infecções prévias por helmintos induzem supressão a infecções por protozoários. Reação-cruzada entre helmintos intestinais pode ocorrer induzida por

efeitos não-específicos da inflamação intestinal, contudo, cada inflamação intestinal pode originariamente ser iniciada por mecanismos imunologicamente específicos. O desenvolvimento da interação geralmente é mais marcante quando períodos críticos no desenvolvimento de uma infecção, coincidem com o período da máxima inflamação induzida por infecção concomitante. A reação inflamatória está associada a alterações na arquitetura da mucosa, produção de muco e mobilidade intestinal (LARSH, 1975). KONINKX et alii (1988) evidenciaram, por reações histoquímicas, que o aumento no número e a modificação na qualidade do conteúdo das células caliciformes contribuíram para expulsão de *Nippostrongylus brasiliensis* de ratos. Algumas das interações antagônicas entre helmintos intestinais são conduzidas por competição por nutrientes ou por interferência mecânica direta (HOLMES, 1973).

Interações sinérgicas são geralmente representadas por aumento inicial no estabelecimento e demora na expulsão da primeira infecção, com desenvolvimento de resistência para competições homólogas.

Segundo CHRISTENSEN et alii (1987), interações antagônicas e sinérgicas entre parasitas são normalmente demonstradas mais quantitativa do que qualitativamente, por uma modulação no curso da infecção, talvez porque a presença de uma espécie de parasita seja determinada por outra.

Interações parasitárias de *S. mansoni* com outros helmintos têm sido relatados tanto em pacientes humanos como em infecções experimentais. CHAMONE et alii (1986) correlacionaram a intensidade da infecção de *S. mansoni* com a presença de ancilostomatídeo em pacientes que moravam no Vale do Paraíba - SP. Em 1990 os mesmos autores investigaram a relação de *S. mansoni* com outros parasitas como *Ascaris*



*lumbricoides* e *Trichuris trichiura* em pessoas que tinham igual oportunidade de adquirir helmintíase em local endêmico. Observaram que pacientes com *S. mansoni*, associado com duas outras infecções de helmintos, excretavam mais ovos de *S. mansoni* que aqueles com o trematódeo e apenas mais uma infecção.

Muitos dos estudos de poliparasitismo com diferentes espécies de *Schistosoma* foram feitos com o gênero *Schistosoma* em camundongos e hamsters (DEAN, 1983; SMITH et alii, 1976). Para que uma outra espécie de *Schistosoma* provoque redução no estabelecimento dos vermes de *S. mansoni* parece ser necessário uma infecção primária bissexual e um depósito significativo de ovos no tecido (MALEK, 1981; NELSON et alii 1968). A infecção pré-patente de *S. mansoni* em hamsters, diminui o estabelecimento dos vermes de *S. haematobium* (MANSOUR et alii, 1984). A infecção concomitante de *S. mansoni* com *Schistosomatium douthitti* não provocou resistência para ambos competidores (HUNTER et alii, 1961) mas levou a perda da suscetibilidade do camundongo para infecções com *S. haematobium*. MICHAEL et alii (1979) observaram supressão da reação granulomatosa para ovos de *S. mansoni* no fígado de camundongo previamente infectado com *S. haematobium*.

Outros estudos de interações entre espécies de *Schistosoma* foram realizados em macacos (EVELAND et alii, 1969; TAYLOR et alii, 1976; WEBBE et alii, 1979; HSU & HSU, 1968), carneiros e gado (PITCHFORD, 1976,1977; MONRAD et alii, 1981).

Pesadas e repetidas exposições a cercárias de diferentes espécies e linhagens de *Schistosoma*, assim como exposições a cercárias atenuadas radioativamente, podem induzir resistência significante para competição com outras espécies e linhagens de *Schistosoma* (DEAN, 1983). Resistência nestes casos são medidas usando parâmetros parasitológicos

como estabelecimento dos vermes, ovos teciduais (total e por casal) e ovos eliminados nas fezes.

Vários trabalhos foram conduzidos entre espécies de *Schistosoma* com nematódeos e outros trematódeos.

HILLYER (1985) estudando reação cruzada *Fasciola/Schistosoma* observou, em camundongo, resistência a *F. hepatica*. A expulsão espontânea de *Echinostoma revolutum* em camundongo é marcadamente reduzida em animais com quatro semanas de infecção com *S. mansoni* talvez devido a imunossupressão (CHRISTENSEN et alii, 1981; 1985)

Fatores imunes não específicos como aumento da inflamação pelos ovos de *S. mansoni* no fígado e intestino, fibrose e necrose podem contribuir para indução de resistência em infecções com helmintos. TOWNSON et alii (1985) observaram resistência para microfilaria *Onchocerca lienalis* em camundongo abrigando infecção por *S. mansoni*. KOJIMA et alii (1985a) e HILLYER (1985) deram exemplos de resistência para *Schistosoma* induzida por helmintos em camundongos: *A. suum* induziu resistência para *S. douthitti*; *N. brasiliensis* e *F. hepatica* para *S. mansoni*.

BINDSEIL (1970) observou que infecção prévia de *S. mansoni* induz resistência para competição com *Trichinella spiralis* provocando redução no estabelecimento, redução das larvas teciduais e aumento da expulsão do nematódeo. Para *Ascaris suum* a infecção prévia por *S. mansoni* provocou redução das larvas no pulmão.

Interações antagônicas entre *S. mansoni* e protozoários foram estudadas por vários autores.

Infecção com *Toxoplasma gondii* e *Trypanosoma cruzi* pode induzir resistência para o estabelecimento de *S. mansoni* (KLOETZEL et

alii, 1971, 1973). TELLES (1990) em infecção concomitante de *Trypanosoma cruzi* com *S. mansoni* em camundongo, observou atraso na oviposição dos vermes de *S. mansoni* durante a fase aguda de tripanosomíase. GENARO et alii (1982) observou aumento da parasitemia de infecções agudas por *T. cruzi* na fase crônica da esquistossomose em camundongos. Infecção desafiante por *T. gondii* em camundongo abrigando infecção prévia por *S. mansoni* pode resultar em poucos ovos no tecido por casal de verme de *S. mansoni* estabelecidos (KLOETZEL et al, 1977). Infecção prévia com *Plasmodium yoelli*, *Trypanosoma brucei* e *Toxoplasma gondii* levam a imunossupressão para *S. mansoni* em camundongo, refletindo em supressão das reações granulomatosas dos ovos no tecido (ABDEL-WAHAB et alii, 1974; LWIN et alii, 1982).

Os nematódeos mais estudados em situações de poliparasitismo são: *Trichinella spiralis*, *Ascaris suum*, *Nippostrongylus brasiliensis* e as filárias, porém o mesmo não acontece com *Strongyloides*.

MOQBEL & WAKELIN (1979) observaram resistência cruzada recíproca entre *T. spiralis* e *S. ratti* em ratos, baseada na reação-cruzada imunologicamente funcional. Fatores imunes específicos também parecem ser responsáveis pela resistência induzida por *S. ratti* para *N. brasiliensis* em ratos (NAWA et alii, 1982). Interação sinérgica entre helmintos mediada por imunossupressão foi demonstrada por NAWA e KORENAGA, (1983) através da demora na expulsão de ambos *N. brasiliensis* e *S. ratti* em ratos concomitantemente infectados.

Nos últimos anos, *Strongyloides stercoralis* vem sendo muito estudado, principalmente, após o advento da cirurgia de transplante de órgãos e da AIDS. São poucas as informações epidemiológicas sobre a prevalência da estrogiloidíase, talvez pela falta de sensibilidade dos exames de fezes. Testes mais específicos como Elisa e a

imunofluorescência indireta, tem demonstrado maior sensibilidade na detecção de antígenos de *Strongyloides* (DOUCE et alii, 1987). Algumas dificuldades para o estudo epidemiológico de *S. stercoralis*, incluem diagnóstico, o crônico e frequente curso assintomático da infecção, os vários modos de transmissão do parasita, a escassez de conhecimentos sobre aspectos zoonóticos e as dúvidas quanto a heterogeneidade entre as linhagens do parasita. O desenvolvimento da larva rhabditóide para filarióide infectante não depende apenas de condições climáticas, hidrográficas e edáficas, mas também da higiene e do contato com o solo contaminado. Na Europa, os portadores de estrongiloidiase são adultos lavradores, horticultores e jardineiros. Em países tropicais, crianças são infectadas quando expostas a larvas infectantes em solos poluídos com fezes. Apesar disso, a estrongiloidiase, apresenta ainda aspecto não totalmente esclarecido no seu ciclo básico, tanto no que tange a auto-infecção e disseminação generalizada, como na fase de vida livre. *Strongyloides stercoralis* difere de outros nematódeos, podendo completar seu ciclo de vida dentro de hospedeiros através de ciclos de auto-infecções, que explicam a aparente persistência indefinida da infecção em alguns pacientes. Uma alteração nesta equilibrada relação parasita-hospedeiro estabelecida durante a auto-infecção pode resultar em desordenada multiplicação dos vermes com invasão larval de órgãos distintos, levando a morte. Esta disseminação tem sido associada a terapia com corticosteróides e outras condições que afetam a resposta imune (PAWLOWSKI, 1989). No entanto, *S. stercoralis* não se desenvolve bem em animais de laboratório, como ratos e camundongos (GENTA & GROVE, 1989). Algumas linhagens de *S. stercoralis* são conhecidas por infectar primatas, cães e gatos. JASKOSKI et alii (1982) descobriram *S. stercoralis* em amostras de fezes de cães coletadas em área residencial de

Chicago, no entanto, acredita-se ser raro este tipo de transmissão cão-homem (GEORGI & SPRINKLE, 1974;). Pessoas que mantêm contato com macacos, podem mais facilmente se infectar com *S. stercoralis* (PAWLOWSKI, 1989). Muitas investigações têm sido conduzidas usando um modelo animal infectado com outras espécies do gênero *Strongyloides* como por exemplo *S. ratti*. DAWKINS et alii (1980) e DAWKINS (1989) trabalhando com *S. ratti*, parasita de rato, acrescentaram importantes informações para compreensão da estrogiloidíase. *S. ratti* é parasita natural de rato, mas não possui habilidade para auto-infecção em seus hospedeiros. Os camundongos, mais fáceis de manipular em laboratório, são menos susceptíveis para infecção com *S. ratti* que os ratos. HASEGAWA et alii (1988) mais recentemente registraram em Okinawa, Japão, a espécie de *S. venezuelensis*, originariamente descrita por BRUMPT (1934), em ratos na Venezuela. SATO & TOMA (1990) estudaram as linhagens de *S. ratti* e *S. venezuelensis* em varias linhagens de camundongos e demonstraram que apesar do *S. venezuelensis* ser um nematódeo parasita de rato, semelhante em morfologia ao *S. ratti*, ele se desenvolve melhor no camundongo, porque demonstrou alta suscetibilidade e rota de migração comparável a *S. stercoralis*, ao contrário de *S. ratti* que apresenta tropismo para líquido cerebrospinal durante migração no tecidos.

Acreditamos que as pesquisas com espécies de *Strongyloides* em animais de laboratório são de grande utilidade na tentativa de esclarecer controvérsias na biologia do parasita. Não foi encontrado, até o momento, nenhuma referência sobre interação entre *S. mansoni* e espécies do gênero *Strongyloides*. O desenvolvimento do *Strongyloides* em animais submetidos a outro tipo de parasitismo pode trazer novas e importantes

contribuições para compreensão da biologia e da patogenia da  
estrongiloidíase.

## **OBJETIVOS**

## 2 - OBJETIVOS

Analisar aspectos biológicos da interação entre *Strongyloides venezuelensis* e *Schistosoma mansoni*, em camundongo , acompanhando o desenvolvimento e permanência do parasitismo, através dos seguintes parâmetros:

-número de ovos eliminados nas fezes e fecundidade das fêmeas.

-número de larvas e adultos recuperados nas necrópsias.

-comparação da morfometria dos vermes adultos nas infecções concomitantes e respectivos controles.



## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **3 - MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 - Planejamento**

Com a finalidade de destacar diferentes fases de interação entre *Strongyloides venezuelensis* e *Schistosoma mansoni*, este experimento foi composto por três grupos experimentais:

##### **- JUNT**

Os camundongos foram infectados simultaneamente com *S. mansoni* e *S. venezuelensis*. A fase intestinal de *S. venezuelensis* coincide com a fase pulmonar de *S. mansoni*.

##### **- SMSV**

Os camundongos foram infectados com *S. mansoni* e após 35 dias, com *S. venezuelensis*. Quando os vermes de *S. mansoni* estavam estabelecidos no sistema porta-hepático do hospedeiro, e começando a eliminar ovos nas fezes, as fêmeas de *S. venezuelensis* estavam chegando ao intestino delgado.

**- SVSM**

Os camundongos foram infectados previamente com *S. venezuelensis* e após três dias, com *S. mansoni*. Neste caso a infecção de *S. mansoni* coincidiu com a passagem das larvas de *S. venezuelensis* do pulmão para o intestino.

Além desses três grupos com infecção concomitante, foram formados mais dois grupos experimentais (controles): -

**- SVSV**

Os camundongos foram infectados somente com *S. venezuelensis*.

**- SMSM**

Os camundongos foram infectados somente com *S. mansoni*.

O experimento, em blocos aleatorizados, foi composto de três réplicas. Cada réplica foi representada por um bloco, sendo este constituído pelos cinco grupos experimentais. O dia de necrópsia e o grupo experimental de cada animal, foi sorteado aleatoriamente dentro de cada um dos três blocos.

Em cada dia de necrópsia (DAI - dia após infecção), foram sacrificados três camundongos, sendo assim cada grupo experimental foi constituído por 21 animais e cada bloco por 105, totalizando 315 animais. Dos 21 animais de cada grupo experimental, foram sacrificados 12 para

coleta de dados de *S. venezuelensis* (2<sup>o</sup>, 5<sup>o</sup>, 7<sup>o</sup> e 10<sup>o</sup> DAI) e 9 para *S. mansoni* (40<sup>o</sup>, 50<sup>o</sup> e 60<sup>o</sup> DAI).

Os dados investigados nos diferentes grupos experimentais foram os seguintes:

### ***Strongyloides venezuelensis***

- 2<sup>o</sup> DAI: - número de larvas no pulmão.
  
- 5<sup>o</sup>, 7<sup>o</sup> e 10<sup>o</sup> DAI: - número de vermes no intestino.  
- número de ovos eliminados nas fezes.  
- Morfometria dos vermes.

### ***Schistosoma mansoni***

- 40<sup>o</sup>, 50<sup>o</sup> e 60<sup>o</sup> DAI: - número de fêmeas, machos e casais recuperados do sistema porta-hepático.  
- número de ovos eliminados nas fezes.  
- morfometria dos vermes.

### **3.2 - Animais e Linhagens Utilizadas**

Para desenvolvimento deste estudo, foram utilizados camundongos Swiss fêmeas SPF (*Mus musculus*) de 21 a 30 dias de idade, procedentes do Centro de Bioterismo da UNICAMP.

A linhagem de *S. venezuelensis* utilizada para infecção dos animais foi cedida a UNICAMP pela Universidade Federal de Minas Gerais e é mantida em laboratório há alguns anos, por infecções subcutâneas sucessivas em ratos *Rattus norvegicus* linhagem Wistar. A linhagem BH de *S. mansoni*, é mantida em *Biomphalaria glabrata* (variante albina), nascidas e criadas no laboratório de Parasitologia da UNICAMP, com passagens em camundongos Swiss SPF.

### **3.3 - Obtenção de larvas filarióides de *S. venezuelensis* e cercárias de *S. mansoni* para infecção dos animais.**

As larvas filarióides foram obtidas de cultura de fezes de rato em carvão animal granulado e concentradas pelo método de Rugai (RUGAI et alii, 1954) . Foi retirada, por amostragem, uma alíquota de larvas para infecção dos camundongos.

As cercárias de *S. mansoni* foram obtidas pela exposição à luz, por um período de 60 a 90 minutos, de trinta exemplares infectados de *B. glabrata* em um beaker contendo 100 ml de água. A alíquota para inóculo foi obtida também por amostragem.

### **3.4 - Infecção dos camundongos.**

As infecções foram feitas por injeções subcutâneas. Cem cercárias de *S. mansoni* foram injetadas na região cervical dorsal e 1300 larvas filarióides de *S. venezuelensis* na região abdominal próximo à perna esquerda.

### **3.5 - Recuperação dos vermes**

Todos os animais necropsiados, foram mortos por deslocamento cervical.

A percentagem de recuperação dos vermes foi calculada a partir do número de cercárias de *S. mansoni* e larvas filarióides de *S. venezuelensis* utilizados no inóculo dos animais.

#### **a) Larvas de *S. venezuelensis***

Os pulmões dos animais, colocados em placa de Petri com solução salina 0,15 M, foram cortados em fragmentos pequenos e mantidos em estufa a 37° C por trinta minutos. Após o período de incubação, procedeu-se a contagem das larvas sob microscópio estereoscópico.

**b) Adultos de *S. venezuelensis*.**

O intestino delgado dos camundongos foi cortado em três segmentos (duodeno, jejuno e íleo). Estes foram seccionados longitudinalmente e raspados em Placa de Petri contendo solução salina 0,15 M . As placas foram então mantidas em estufa a 37° C por trinta minutos. Após o período de incubação, os vermes foram contados sob microscópio estereoscópico, recolhidos e fixados em TAF (CORRÊA et alii, 1979) para posterior estudo morfométrico.

**c) Adultos de *S. mansoni*.**

Os animais foram submetidos à perfusão do sistema porta-hepático (YOLLES et alii, 1947) com solução salina 0,15 M. Os vermes recuperados da veia porta e das veias mesentéricas, foram contados sob microscópio estereoscópico e fixados em álcool para estudo morfométrico.

**3.6 - Contagem de ovos nas fezes**

Na infecção de *S. venezuelensis* a contagem dos ovos por grama de fezes (OPG) foi feita, individualmente, em cada camundongo pelo método de Cornell-McMaster (GEORGI, 1974) com tempo de flutuação de vinte minutos.

Para *S. mansoni* foi utilizado o método quantitativo de Kato-Katz (KATZ et alii, 1972) com as seguintes modificações: para cada exame inicialmente pesamos, em balança semi-analítica, uma lâmina devidamente identificada e em seguida colocamos sobre esta lâmina, uma

amostra de fezes após passá-las por uma tela de arame (MARTINS & BEAVER, 1968). Novamente pesamos a preparação, e a quantidade, agora definida, de fezes foi então recoberta com papel celofane embebido, previamente, em solução de verde malaquita.

### 3.7 - Morfometria dos vermes

Para morfometria dos vermes de *S. venezuelensis* e *S. mansoni* foram utilizados os vermes obtidos das necropsias de apenas uma réplica.

As fêmeas de *S. venezuelensis* recuperadas nas necrópsias, foram fixadas em TAF, posteriormente montadas em glicerina Jelly, desenhadas com auxílio da câmera clara e as medidas relacionadas abaixo foram tomadas com o Curvímetro (**Figura 1**)

- comprimento total (CT).
- comprimento do esôfago (PE).
- posição do ânus (distância do ânus até extremidade posterior-PA).
- posição da vulva (distância da extremidade anterior até a vulva-PV).
- largura (tomada na altura da vulva-L).

Os vermes de *S. mansoni* foram fixados em álcool 70°GL e posteriormente corados pelo Carmim-clorídrico (SCHELL, 1969). As medidas relacionadas abaixo, foram feitas em câmara clara, utilizando-se mesa digitalizadora acoplada ao microcomputador. O programa utilizado, cedido pelo Prof. Dr. Luiz Cândido de Souza Dias, foi idealizado pelo Prof. Eduardo Buzatto, do Departamento de Computação, do Instituto de



Matemática, Estatística e Ciências da Computação, da UNICAMP (**Figura 2**).

- comprimento total (CT).
- distância entre as ventosas (PV).
- largura (altura dos testículos para os machos-L).  
(altura do ovário para as fêmeas-L)

Além dessas medidas o número de ovos e testículos foram contados para fêmeas e machos de *S. mansoni*.

### **3.8 - Procedimentos estatísticos**

Os procedimentos estatísticos foram executados com auxílio do programa estatístico SAS para microcomputadores (SAS Inc., 1988), utilizando o procedimento GLM.

Foram feitos os seguintes testes estatísticos:

Teste de comparações Múltiplas ( RYAN-EINOT-GABRIEL-WELSCH ) com nível de significância a 5%. - Este teste foi usado para comparar os diferentes experimentos entre si.

Teste T de DUNNETT para comparar os diferentes experimentos com o controle.

Para todos os testes realizados a hipótese testada (Hipótese nula) foi de que não existe diferença entre os grupos experimentais.

## **RESULTADOS**

#### 4 - RESULTADOS:

Para facilidade de interpretação dos resultados, analisaremos, de início, o comportamento de cada parasita separadamente e posteriormente a interação entre ambos.

##### 4.1 - *Strongyloides venezuelensis* - Análise Biológica.

###### a) Recuperação de larvas:

No 2º DAI, as larvas de *S. venezuelensis* estavam em fase de migração pelos pulmões dos animais. Observando a **Figura 3**, podemos notar que todos os grupos experimentais infectados concomitantemente com *Schistosoma mansoni*, apresentaram número inferior de larvas nos pulmões em relação ao grupo controle (SVSV). Essa redução é bem evidente nos animais infectados previamente com *Schistosoma* (grupo SMSV), apresentando em média, praticamente a metade do número de larvas recuperadas (12,2%) em relação ao controle (22,2%). Essa diferença no entanto não se mostrou significativa estatisticamente ( $P=0,1214$ ).

###### b) Recuperação de fêmeas partenogênicas:

No 5º, 7º e 10º DAI, foram recolhidas as fêmeas que chegaram ao intestino. O número médio de adultos de *S. venezuelensis* recuperados do intestino dos animais nos diferentes grupos experimentais, está expresso na **Tabela 1**. Observa-se nesta tabela que em três diferentes grupos experimentais (incluindo o controle SVSV), foram recuperados de 140 a 150 vermes, o que representa 50% a 60%

das larvas presentes nos pulmões e cerca de 11% do total de larvas utilizadas para inóculo. O grupo SMSV mostrou grande redução na recuperação de vermes no intestino, sendo possível obter apenas 37,6 vermes em média. Este valor representa menos que 25% do número de larvas presentes nos pulmões (2º DAI) e 2,9% em relação ao total de larvas inoculadas.

A **Figura 4** mostra o número médio de vermes adultos recuperados nos diferentes grupos experimentais e dias de infecção. No 5º DAI o número de fêmeas recuperadas é maior no grupo controle SVSV, mas no 7º e 10º DAI esse número é menor, exceto quando comparando com SMSV. A análise por grupo experimental, mostra que existe semelhança no comportamento dos grupos SVSM e SMSV em relação ao controle (SVSV). O número de fêmeas recuperadas foi maior no 5º DAI, diminuindo, embora muito pouco, nestes grupos no 7º DAI e acentuadamente no 10º DAI. No grupo JUNT, as fêmeas foram recuperadas em maior número no 7º DAI, com diminuição brusca no 10º DAI. A análise estatística (Análise de Variância) comprova que o 5º e 7º DAI apresentaram maior variação no número de fêmeas recuperadas entre os diferentes grupos experimentais ( $P=0,0067$  e  $P=0,0006$  respectivamente). No 10º DAI a diferença de fêmeas também é significativa ( $P=0,0188$ ), podendo-se observar ainda na **Figura 4**, que neste dia, foram recuperadas maior número de fêmeas nas infecções concomitantes, indicando persistência mais prolongada dos vermes no intestino, exceto no grupo SMSV, com infecção praticamente eliminada.

### **c) Eliminação de ovos nas fezes e número de ovos por fêmea:**

O número médio de ovos por grama de fezes (OPG) eliminados por todas as fêmeas, de cada um dos grupos experimentais, assim como o número de ovos por grama de fezes por fêmea

(OPG/fêmea) estão expressos na **Tabela 2**. Observa-se que as fêmeas dos grupos SVSV (controle) e JUNT, eliminaram pelas fezes, um total médio acima de 25000 OPG. As fêmeas do grupo SMSV, eliminaram menos ovos, embora estejam entre as mais fecundas (218,0 OPG/Fêmea). Assim, comparando os grupos SVSM e JUNT com o controle (SVSV), vê-se que apesar do número total de fêmeas não ter variado muito (**Tabela 1**), observam-se diferenças no número de ovos eliminados pelas fezes, devida a variação nos valores de OPG/Fêmea que ficaram entre 131,2 e 252,8 ovos por grama de fezes por fêmea. Analisando na **Figura 5**, o OPG das fêmeas nos diferentes DAI e grupos de experimentais, constata-se que, apesar do número de ovos ter variado, o padrão de eliminação se mantém, isto é, aumenta muito no 7º DAI e cai acentuadamente no 10º DAI. Observa-se ainda nesta **Figura** que o número de ovos nas fezes aumenta, no mínimo, o dobro nos diferentes grupos quando se compara o 5º e o 7º DAI. Essa diferença é mais extraordinária nos grupos SMSV e JUNT, chegando a ser aproximadamente 6 e 4 vezes maior, respectivamente. O decréscimo de ovos nas fezes no 10º DAI é tão acentuado nos grupos com infecção concomitante como no controle SVSV. Esta diferença chega a ser, no mínimo, quase 5 e 2 vezes menor que no 7º e 5º DAI respectivamente. A diminuição de OPG no 10º DAI é também extremamente acentuada no grupo SMSV quando se registrou queda de quase 37 e 6 vezes menos ovos em relação ao 7º e o 5º DAI, respectivamente. Convém ressaltar que as fêmeas do grupo SVSM apresentaram sempre variações mais discretas no número de OPG nos diferentes dias. Fato que chama atenção também na **Figura 5**, é que no 5º DAI o OPG é maior no controle (SVSV). A análise estatística comprova que o número de ovos eliminados no 5º e 7º DAI pelas fêmeas dos diferentes grupos é significativamente diferente ( $P=0,0172$  e  $P=0,0015$  respectivamente). Já no 10º DAI essa diferença não se mostra significativa ( $P=0,0775$ ). A análise estatística mostra, ainda,

diferença significativa nos OPG do 5<sup>o</sup> DAI ( $P \leq 0,0001$ ) e 7<sup>o</sup> DAI ( $P=0,0027$ ) nas três réplicas efetuadas.

A **Tabela 2** registra o número de ovos por grama de fezes por fêmea (OPG/Fêmea), do total das fêmeas dos diferentes grupos experimentais. Até o momento não dispomos de dados para comprovar realmente maior fecundidade nas fêmeas de SMSV, pois foi o grupo que apresentou menor número de fêmeas recuperadas (**Tabela 1**). Os dados expressos nas **Tabelas 1 e 2**, nos permite deduzir maior valor de OPG/Fêmea no grupo JUNT e menor no grupo SVSM.

A **Tabela 3** mostra o número de ovos por grama de fezes por fêmea nos diferentes dias de infecção dos diferentes grupos. O aumento da fecundidade no 7<sup>o</sup> DAI corresponde, ao período de maior postura das fêmeas e já no 10<sup>o</sup> DAI as poucas fêmeas remanescentes, muito fecundas, devem ser as responsáveis pela presença de ovos nas fezes.

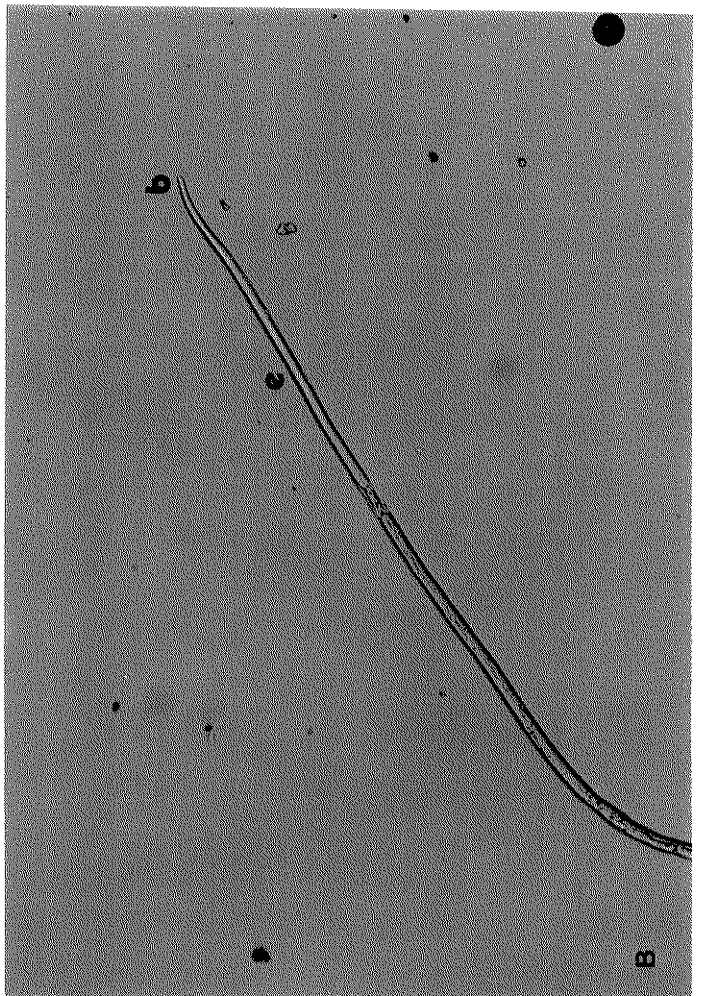
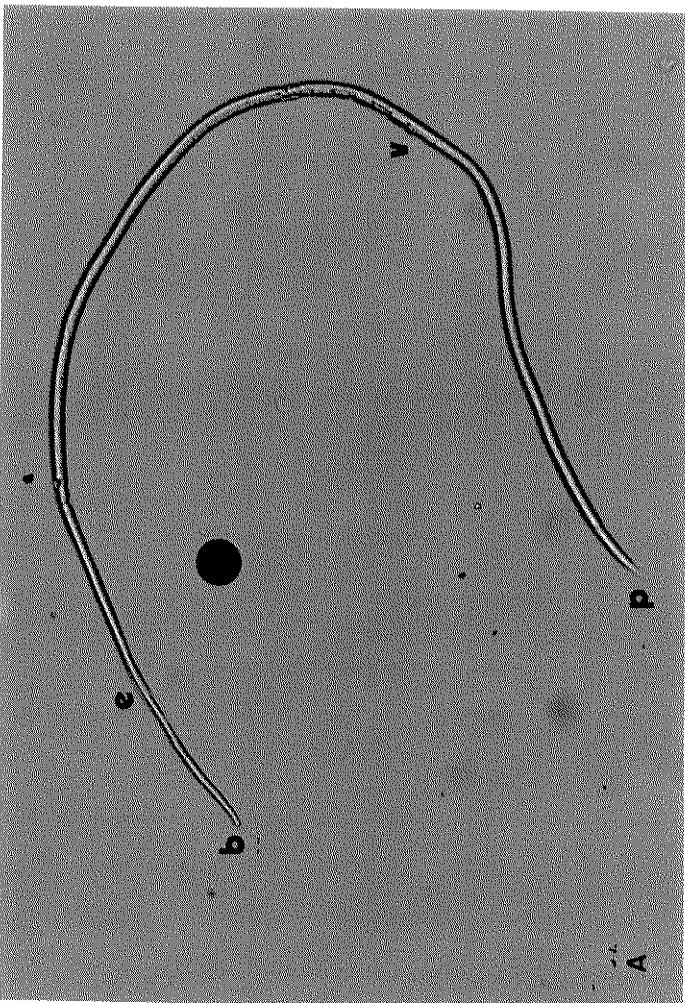
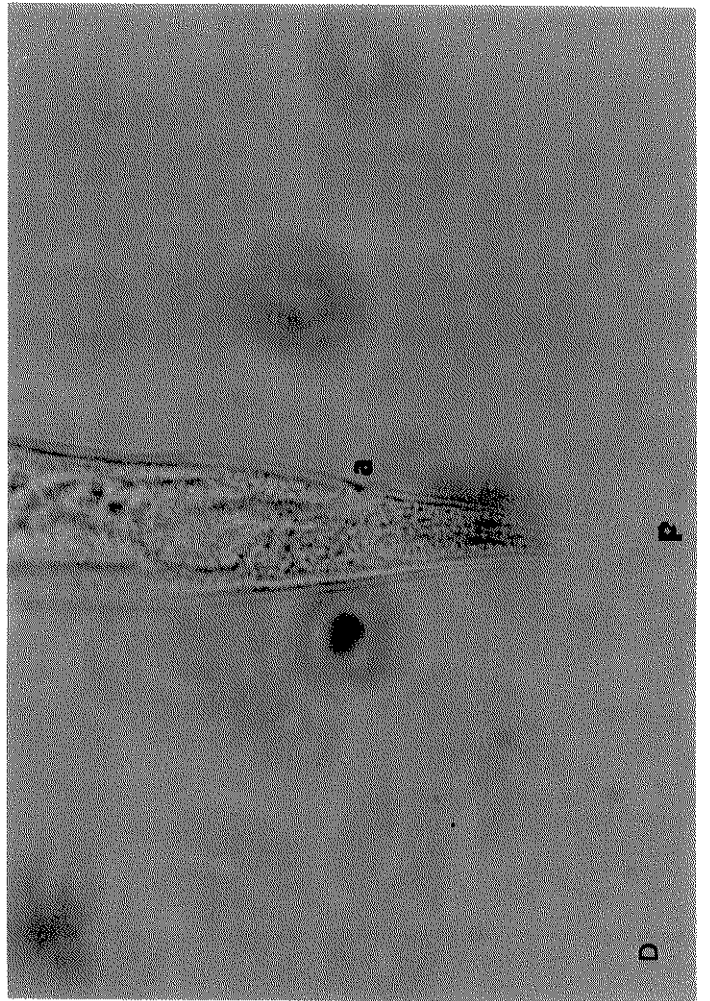
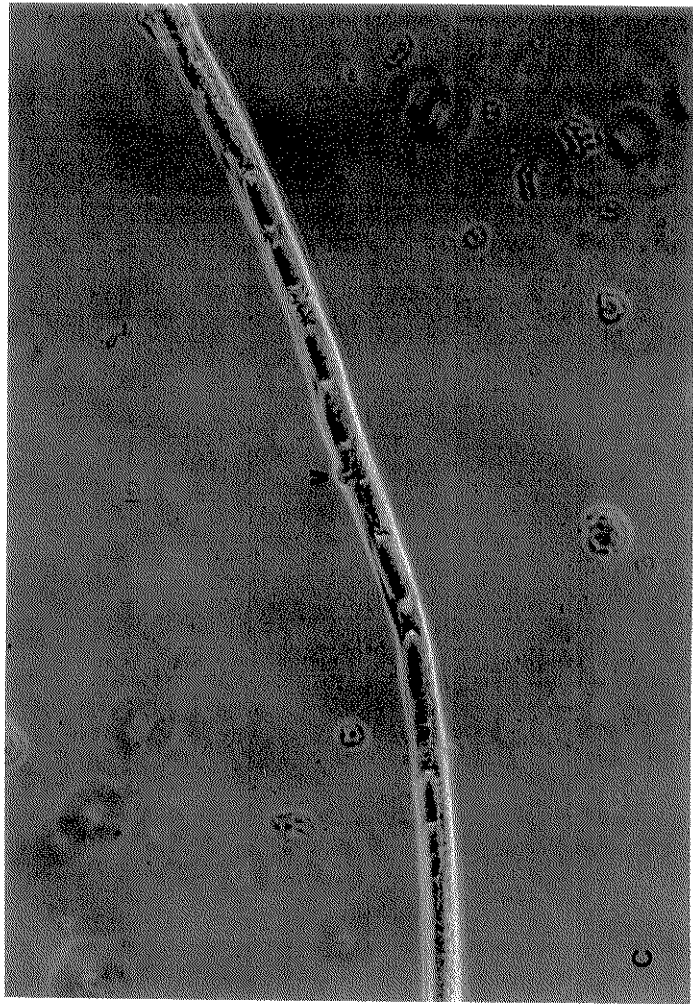
#### **4.2 - *Strongyloides venezuelensis* - Análise Morfométrica:**

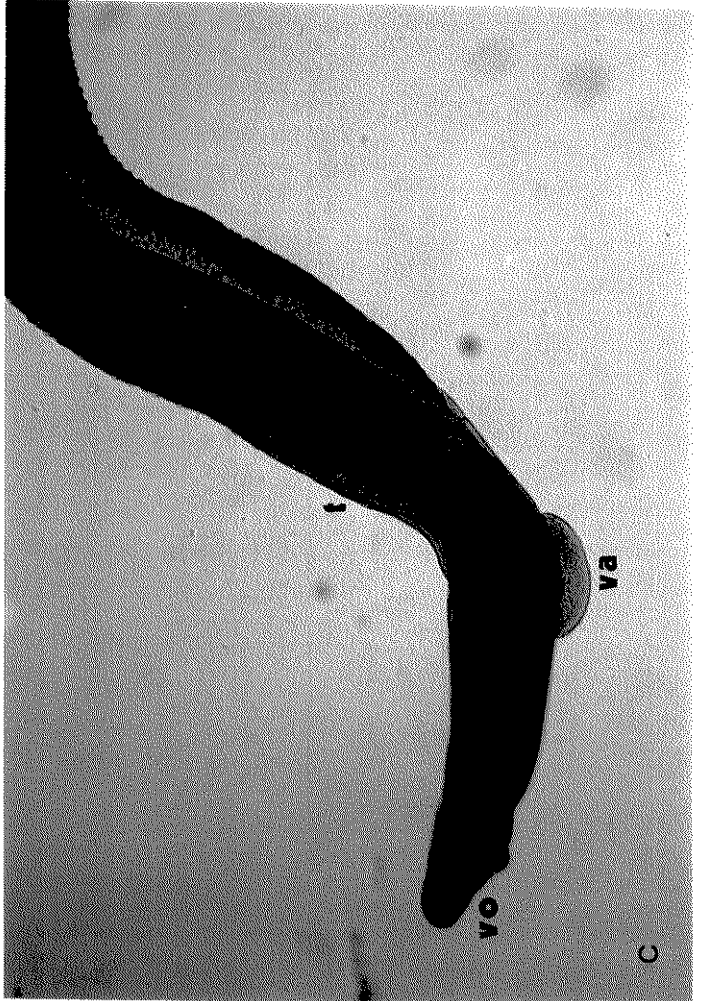
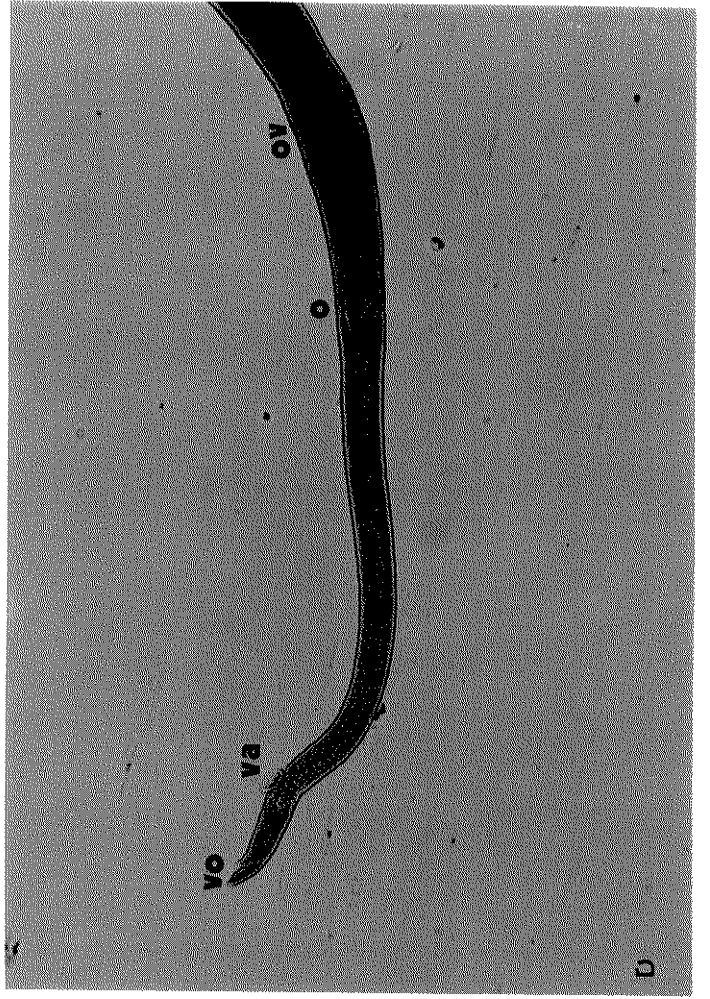
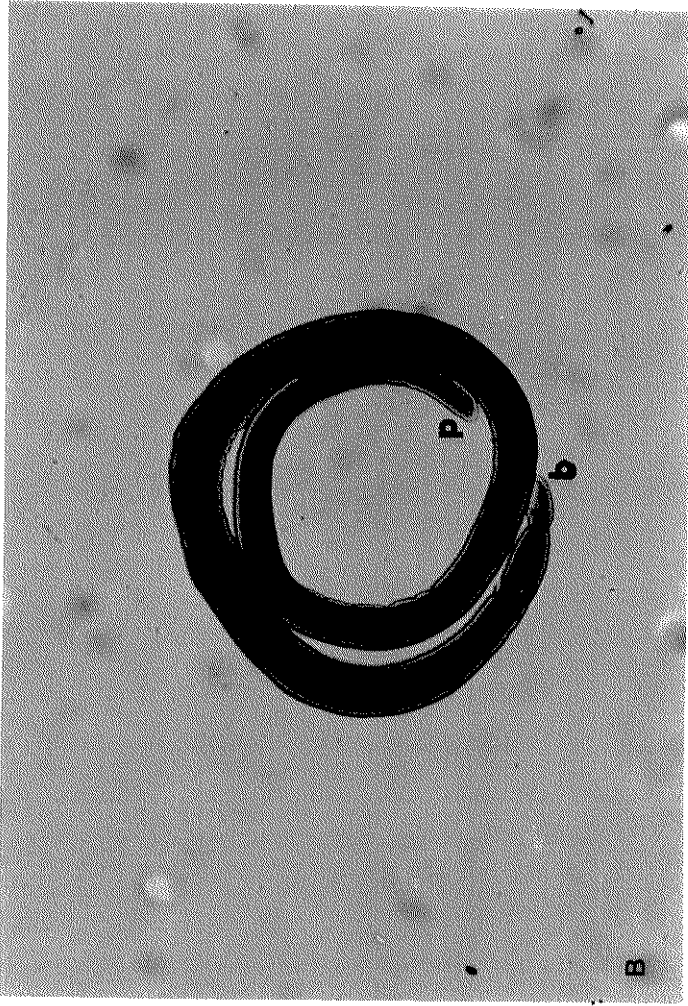
As medidas tomadas das fêmeas nos diferentes DAI dos vários grupos experimentais estão expressas nas **Tabelas 4 e 5**. Estas medidas devem ser vistas com cautela, pois as variações foram muito grandes de um camundongo para outro ( $P \leq 0,0001$ ). No entanto, pode-se fazer algumas considerações em relação as medidas, apesar de não ter sido possível medir as fêmeas do 10<sup>o</sup> DAI nos grupos SVSV e SMSV devido ao número reduzido (quase zero) de vermes. A média geral das medidas tomadas de todas as fêmeas recuperadas durante o experimento, **Tabela 4**, mostra que as fêmeas obtidas de infecções concomitantes são um pouco mais longas que no controle (SVSV). Paralelamente ao comprimento total, aumentaram também os comprimentos do esôfago e da vulva, não chegando, no entanto, a

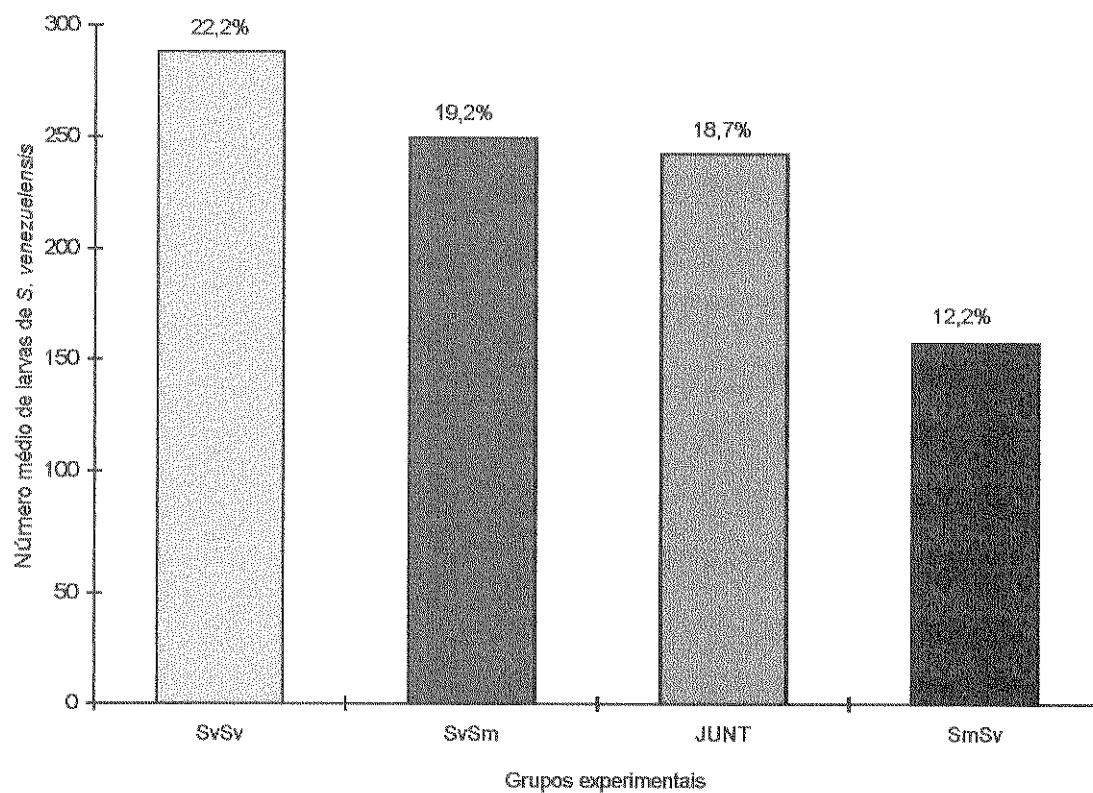
provocar alterações nas proporções destas medidas (**Figura 6**). Assim nas fêmeas de JUNT e SMSV, o esôfago passou a ocupar 25% do comprimento total, enquanto em SVSM e no controle esta proporção foi de 24,2% e 24,1% respectivamente. A alteração na posição da vulva, ou seja na distância entre a parte anterior do verme à vulva, foi ainda menor. Enquanto em SVSM e no controle SVSV, a vulva ocupa 66,1% do comprimento total, a vulva das fêmeas dos grupos JUNT e SMSV ocupa 66,7% do comprimento. As fêmeas do grupo SMSV se apresentaram um pouco mais largas que as fêmeas dos outros grupos ( $P=0,0010$ ). Na **Tabela 5**, pode-se observar que, com exceção do grupo JUNT, as fêmeas aumentaram de comprimento após o 5º DAI, algumas de maneira expressiva, chegando a aumentar até 0,55 mm. No grupo JUNT, as fêmeas ficaram mais compridas no 7º DAI, mas no 10º DAI mostraram-se mais curtas que no 5º DAI. O aumento do comprimento total foi acompanhado pelo aumento do comprimento do esôfago e da distância da vulva. Nos diferentes grupos, inclusive no controle, o esôfago das fêmeas no 5º DAI ocupa de 23 a 24% do comprimento total e no 7º DAI essa proporção aumentou ocupando 25 a 28% do total. Deve-se ressaltar, no entanto, que no grupo SVSM, onde houve maior aumento no comprimento das fêmeas do 5º para o 10º DAI, (0,55 mm), o esôfago continuou ocupando os mesmos 24% do total. Apesar da distância da vulva ter aumentado conforme o total, proporcionalmente, a vulva não mudou de posição, situando-se a cerca de 66 a 67% da região anterior. A posição do ânus não sofre alteração com o aumento do comprimento nas fêmeas de SVSV e SMSV do 5º para o 7º DAI. No grupo SVSM, apesar do aumento contínuo do comprimento do 5º para o 10º DAI, o ânus ficou um pouco menos terminal (apesar de estatisticamente não significante, com  $P=0,1089$ ) e no grupo JUNT, onde as fêmeas de 10º DAI foram mais curtas que as de 5º DAI, o ânus ficou menos terminal, significando, assim, que o aumento se deu na extremidade posterior. Neste grupo JUNT essa diferença na posição do

ânus foi significativa estatisticamente ( $P=0,0002$ ). Na maioria dos grupos, as fêmeas não mostraram variação na largura, apenas as fêmeas de JUNT no 5º e 10º DAI e SMSV no 7º DAI se mostraram mais largas, com 0,05 mm de largura.

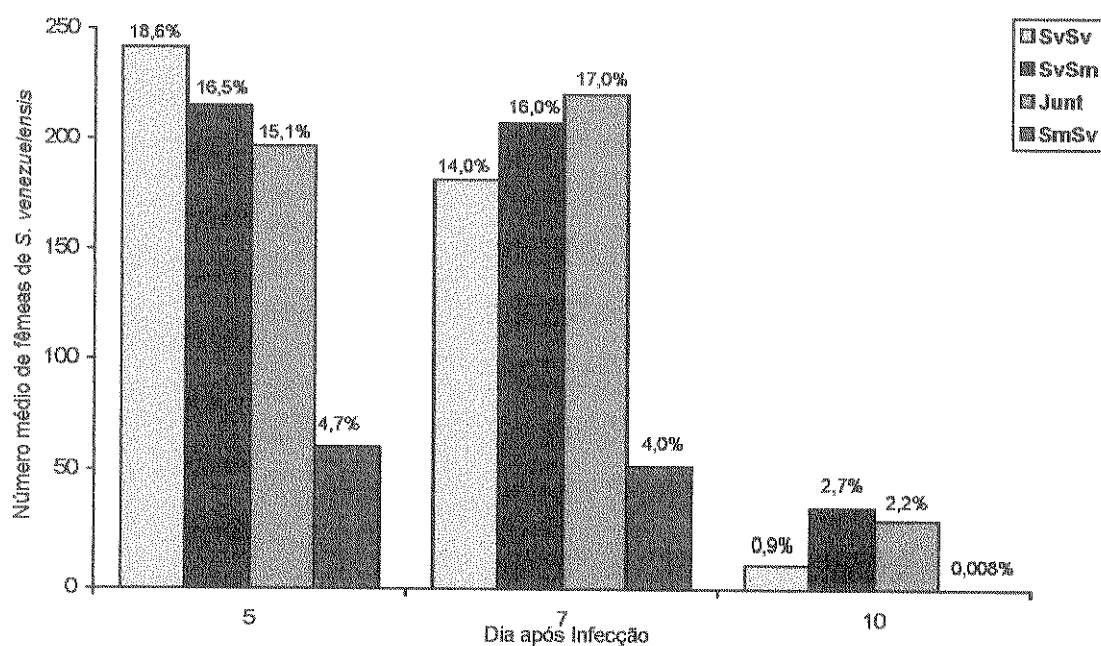




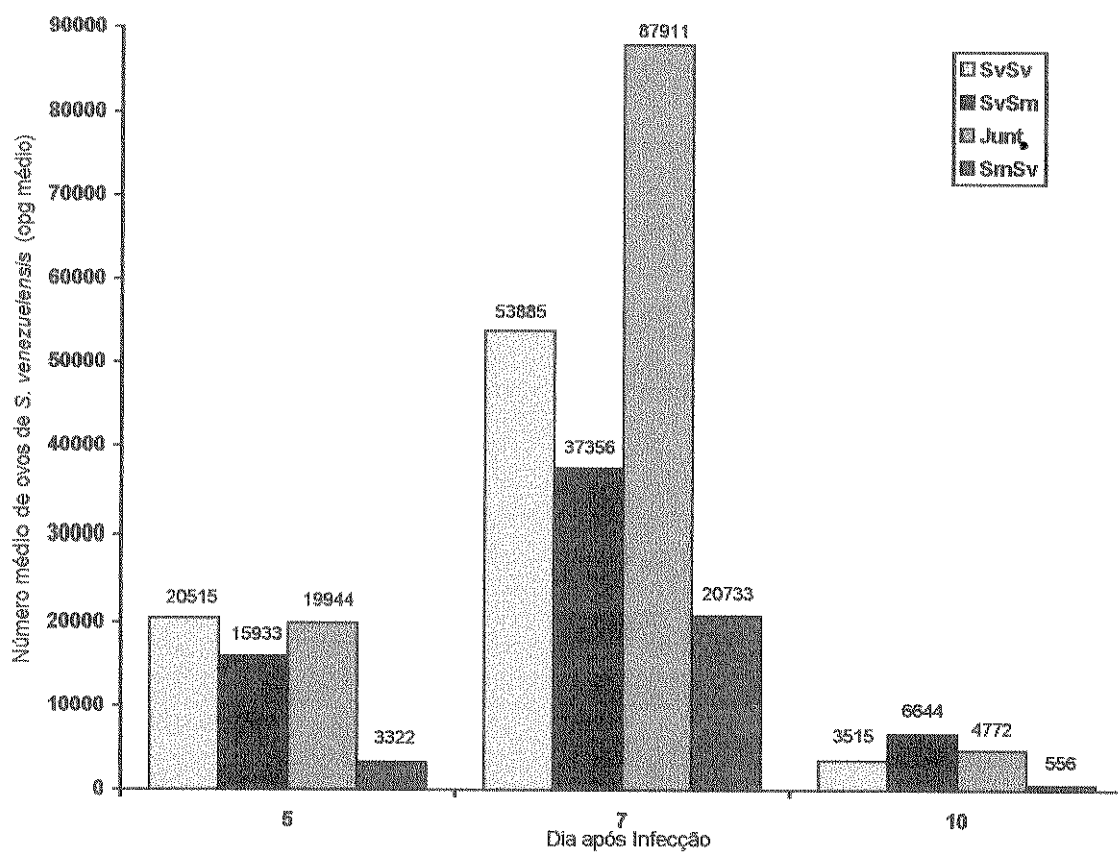




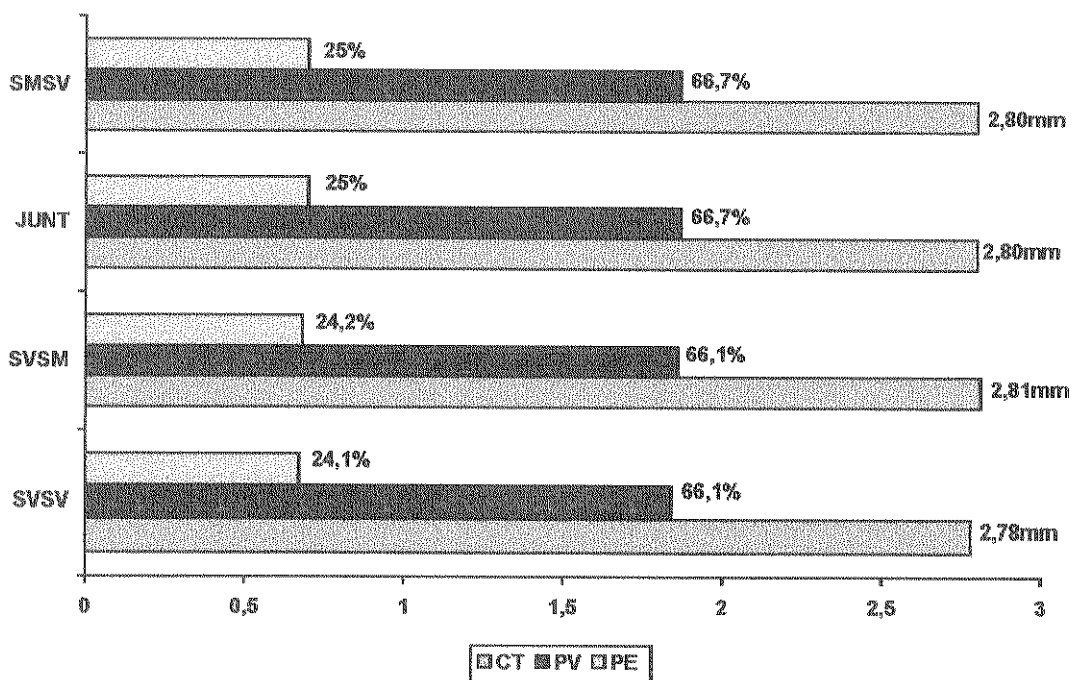
**Figura 3:** Número médio e porcentagem de larvas de *S. venezuelensis* recuperadas do pulmão dos camundongos no 2<sup>o</sup> DAI, nos diferentes grupos experimentais nas três réplicas.



**Figura 4:** Número médio e porcentagem de adultos de *S. venezuelensis* recuperados no 5<sup>o</sup>, 7<sup>o</sup> e 10<sup>o</sup> DAI nos diferentes grupos experimentais. (dados obtidos de camundongos das três réplicas).



**Figura 5:** Número médio de ovos por grama de fezes(OPG) de *S. venezuelensis* observados no 5<sup>o</sup>, 7<sup>o</sup> e 10<sup>o</sup> DAI nos diferentes grupos experimentais. (dados obtidos de camundongos das três réplicas).



**Figura 6:** Proporção em porcentagem das medidas do esôfago e da vulva em relação ao comprimento total (mm) da fêmeas de *S. venezuelensis*. Dados obtidos dos animais de uma réplica.

**Tabela 1:** Número médio e porcentagem de fêmeas de *S. venezuelensis* recuperadas do intestino dos camundongos nos diferentes grupos experimentais (dados obtidos de camundongos das três réplicas).

| Grupos | n <sup>o</sup> de fêmeas recuperadas | % de recuperação |
|--------|--------------------------------------|------------------|
| SVSV   | 144,7±144,3                          | 11,1             |
| SVSM   | 152,3±115,9                          | 11,7             |
| JUNT   | 148,5±113,8                          | 11,4             |
| SMSV   | 37,6±64,9                            | 2,9              |

**Tabela 2:** Número médio de ovos observados por grama de fezes (OPG) e e valor médio de OPG/Fêmea de *S. venezuelensis* nos diferentes grupos experimentais. (dados obtidos de camundongos das três réplicas).

| GRUPOS | n <sup>o</sup> ovos/g/fezes | OPG/  |
|--------|-----------------------------|-------|
|        | (OPG)                       | Fêmea |
| SVSV   | 25972±32729,9               | 179,5 |
| SVSM   | 19978±24048,1               | 131,2 |
| JUNT   | 37543±49843,8               | 252,8 |
| SMSV   | 8204±14482,3                | 218,0 |

**Tabela 3:** Valor médio de OPG/Fêmea de *S. venezuelensis* nos diferentes grupos experimentais e dias de infecção (dados obtidos de camundongos das três réplicas).

| GRUPOS | OPG/Fêmea          |                    |                     |
|--------|--------------------|--------------------|---------------------|
|        | 5 <sup>o</sup> DAI | 7 <sup>o</sup> DAI | 10 <sup>o</sup> DAI |
| SVSV   | 84,9               | 297,1              | 317,5               |
| SVSM   | 74,1               | 180,2              | 192,9               |
| JUNT   | 101,6              | 399,0              | 165,2               |
| SMSV   | 54,8               | 397,9              | 5054,5              |



**Tabela 4:** Média das medidas (mm) das fêmeas parasitas *S. venezuelensis* nos diferentes grupos experimentais (dados obtidos dos animais de uma réplica).

| Grupos | Medidas das fêmeas parasitas de <i>S. venezuelensis</i> (mm) |          |          |          |          |
|--------|--|----------|----------|----------|----------|
|        | PA   | PE       | PV       | CT       | L        |
| SVSV   | 0,05±0,0   | 0,67±0,1 | 1,84±0,2 | 2,78±0,2 | 0,04±0,0 |
| SVSM   | 0,05±0,0   | 0,68±0,1 | 1,86±0,2 | 2,81±0,3 | 0,04±0,1 |
| JUNT   | 0,05±0,0   | 0,70±0,1 | 1,87±0,2 | 2,80±0,2 | 0,04±0,0 |
| SMSV   | 0,05±0,0   | 0,70±0,0 | 1,87±0,1 | 2,80±0,2 | 0,05±0,0 |

**PA** - medida entre ânus e extremidade posterior.

**PE** - medida entre esôfago e extremidade anterior.

**PV** - medida entre vulva e extremidade anterior.

**L** - largura tomada na altura da vulva.

**CT** - comprimento total.

**Tabela 5:** Média das medidas (mm), das fêmeas parasitas *S. venezuelensis* dos grupos experimentais nos diferentes dias de infecção (dados obtidos dos animais de uma réplica).

| DAI             | Grupos | Medidas das fêmeas parasitas de <i>S. venezuelensis</i> (mm) |          |          |          |          | CT |
|-----------------|--------|--|----------|----------|----------|----------|----|
|                 |        | PA   | PE       | PV       | L        | CT       |    |
| 5 <sup>o</sup>  | SVSV   | 0,05±0,0   | 0,64±0,0 | 1,82±0,2 | 0,04±0,0 | 2,77±0,2 |    |
| 5 <sup>o</sup>  | SVSM   | 0,05±0,0   | 0,62±0,0 | 1,70±0,1 | 0,04±0,0 | 2,59±0,1 |    |
| 5 <sup>o</sup>  | JUNT   | 0,06±0,0   | 0,66±0,0 | 1,81±0,2 | 0,05±0,0 | 2,73±0,3 |    |
| 5 <sup>o</sup>  | SMSV   | 0,05±0,0   | 0,66±0,0 | 1,85±0,1 | 0,04±0,0 | 2,75±0,2 |    |
| 7 <sup>o</sup>  | SVSV   | 0,05±0,0   | 0,70±0,0 | 1,86±0,1 | 0,04±0,0 | 2,79±0,2 |    |
| 7 <sup>o</sup>  | SVSM   | 0,05±0,0   | 0,68±0,0 | 1,86±0,1 | 0,04±0,0 | 2,81±0,2 |    |
| 7 <sup>o</sup>  | JUNT   | 0,05±0,0   | 0,72±0,0 | 1,94±0,1 | 0,04±0,0 | 2,90±0,2 |    |
| 7 <sup>o</sup>  | SMSV   | 0,05±0,0   | 0,72±0,0 | 1,88±0,2 | 0,05±0,0 | 2,83±0,2 |    |
| 10 <sup>o</sup> | SVSV   | NO   | NO       | NO       | NO       | NO       |    |
| 10 <sup>o</sup> | SVSM   | 0,05±0,0   | 0,75±0,0 | 2,08±0,2 | 0,04±0,0 | 3,14±0,3 |    |
| 10 <sup>o</sup> | JUNT   | 0,05±0,0   | 0,76±0,0 | 1,80±0,2 | 0,05±0,0 | 2,70±0,2 |    |
| 10 <sup>o</sup> | SMSV   | NO   | NO       | NO       | NO       | NO       |    |

**NO** - não observado

**PA** - medida entre ânus e extremidade posterior.

**PE** - medida entre esôfago e extremidade anterior.

**PV** - medida entre vulva e extremidade anterior.

**L** - largura tomada na altura da vulva.

**CT** - comprimento total.

### 4.3 - *Schistosoma mansoni* - Análise Biológica.

#### a) Recuperação de vermes adultos:

A **Tabela 6**, mostra o número total de vermes recuperados em cada grupo experimental. Apesar da análise estatística ter mostrado diferença significativa na recuperação de fêmeas ( $P \leq 0,001$ ), machos ( $P = 0,0035$ ) e casais ( $P \leq 0,0001$ ) entre as réplicas, pode-se observar que nos grupos com infecção concomitante, exceto SVSM, o número total de vermes recuperados foi maior que no controle. Nesses grupos, notadamente no JUNT, o número de vermes não acasalados foi grande, cerca de 30% do total de vermes recuperados. Em SVSM, o número total de vermes recuperados foi menor, chegando a quase 25% do total inoculado. Como se vê na **Tabela 6** este valor foi bem inferior aos outros dois grupos concomitantes, porém mais próximo do controle (SMSM). No entanto, em SVSM, a maior parte dos vermes recuperados, cerca de 81%, estavam acasalados. Em relação ao número de vermes acasalados do total de recuperados, o grupo SVSM se assemelha ao SMSV, ambos com cerca de 80% de vermes pareados, enquanto essa proporção cai para cerca de 70 a 75% em JUNT e no controle SMSM.

A **Tabela 7** mostra o número de vermes recuperados em cada grupo experimental por dia de observação (DAI). No controle SMSM, o número de vermes recuperados no 50º DAI aumenta quase que duas vezes em relação ao 40º DAI, mas diminui um pouco no 60º DAI, embora ainda apresente um número maior que no 40º DAI. Interessante observar, ainda em SMSM, que o número de casais recuperados que representa aproximadamente 58% do total no 40º DAI, aumenta para cerca de 79 e 81%, respectivamente, no 50º e 60º DAI, enquanto o número de vermes não pareados cai de 42% do total para 21 e 18% respectivamente no 40º, 50º e 60º DAI. Esse mesmo comportamento se observa nos grupos SMSV e

SVSM, ou seja, o número total de vermes aumenta do 40<sup>o</sup> ao 50<sup>o</sup> DAI e cai no 60<sup>o</sup> DAI, mas sempre com aumento da porcentagem de casais em relação ao total de vermes recuperados. Assim, a queda no número de vermes no 60<sup>o</sup> DAI se deve mais a diminuição na porcentagem de vermes machos e fêmeas isoladas. No grupo JUNT, a porcentagem de recuperação total de vermes e a porcentagem de casais, em relação ao total, aumentam simultaneamente com o passar dos dias, do 40<sup>o</sup> ao 60<sup>o</sup> DAI e a porcentagem de vermes isolados, machos e fêmeas, cai, mas se mantém ao nível de 20% do total no 60<sup>o</sup> DAI. Verifica-se, ainda, na **Tabela 7** que a porcentagem de casais formados no 40<sup>o</sup> DAI é menor no grupo controle que nos grupos infectados concomitantemente e que entre os vermes não acasalados, há na grande maioria das vezes, predominância de machos. A análise estatística comprova que existe diferença no número de casais nos diferentes DAI ( $P \leq 0,0001$ ) e grupos experimentais ( $P=0,0017$ ). O número de machos e fêmeas não acasalados nos diferentes grupos não foram estatisticamente diferentes ( $P=0,0512$  e  $P=0,1647$ ).

#### **b) Eliminação de ovos nas fezes e número de ovos por fêmea:**

Na **Tabela 8** estão registrados o número médio de ovos por grama de fezes (OPG) e o número de ovos por grama de fezes por fêmea (consideradas todas as fêmeas acasaladas ou não) dos diferentes grupos experimentais. Destaca-se nesta **Tabela** o número total de 1476 OPG eliminados pelas fêmeas do grupo controle (SMSM), embora não tenha sido este o grupo com maior número de vermes recuperados (**Tabela 6**). Este valor é quase duas vezes maior que o OPG das fêmeas do grupo JUNT (739 OPG) e cerca de três a cinco vezes maior que o OPG das fêmeas dos grupos SMSV e SVSM respectivamente. Se compararmos os dados das **Tabelas 6 e 8**, observamos que apesar dos grupos SMSV e SVSM apresentarem uma recuperação de casais proporcionalmente semelhante em relação ao número

total de vermes os valores de OPG são muito diferentes. Em relação ao número médio de ovos por grama de fezes(OPG), a análise estatística mostrou diferença significativa entre os três dias de observação ( $P=0,0179$ ) mas não entre os grupos experimentais ( $P=0,5930$ ) e as réplicas ( $P=0,0663$ ).

A **Figura 7** ilustra o número médio de ovos eliminados nas fezes, pelas fêmeas de *S. mansoni*, por dia de infecção nos diferentes grupos experimentais. No 40<sup>o</sup> DAI, os grupos com infecção concomitante eliminaram muito mais ovos que o controle. Esta diferença chega a ser 16 vezes maior no grupo JUNT e 6 a 3 vezes maior em SMSV e SVSM respectivamente. No 50<sup>o</sup> DAI, em todos os grupos ocorre o pico de eliminação de ovos, salientando-se o OPG de SMSM, que aumenta cerca de 3050 vezes em relação ao 40<sup>o</sup> DAI, enquanto o aumento ficou entre 69 a 160 vezes nos grupos concomitantes. No 60<sup>o</sup> DAI ocorre uma pequena diminuição nos OPG de todos os grupos, mas ainda assim de 30 a 84 vezes maior que no 40<sup>o</sup> DAI nos grupos concomitantes e 524 vezes maior no controle SMSM. Ainda em relação a eliminação de ovos pelas fêmeas no 40<sup>o</sup> DAI, pode-se observar, pela análise da **Tabela 7** e **Figura 7**, que as fêmeas do grupo JUNT, totalizando 45% dos vermes recuperados neste dia eliminaram maior número de ovos (16 vezes mais) que as fêmeas do controle SMSM. O mesmo aconteceu com as fêmeas dos outros dois grupos concomitantes, SMSV e SVSM, embora nesses grupos as fêmeas representem uma porcentagem de 51,2% e 48,1% do total de vermes recuperados, com eliminação de 6 a 3 vezes mais OPG que no controle SMSM. Analisando os valores de OPG/Fêmea de *S. mansoni* em relação aos DAI, observamos na **Tabela 9**, que o OPG/Fêmea aumenta de modo extraordinário do 40<sup>o</sup> para o 50<sup>o</sup> DAI, chegando a ser quase 1450 vezes maior em SMSM e 53, 123 e 79 vezes maior em JUNT, SMSV e SVSM respectivamente. Do 50<sup>o</sup> para o 60<sup>o</sup> DAI há um decréscimo no valor de OPG/Fêmea de aproximadamente 1,2 a 5,0 vezes, mas, ainda assim 23 a 66 vezes maior que no 40<sup>o</sup> DAI nos grupos concomitantes. Em SMSM, o valor de OPG/fêmea no 60<sup>o</sup> DAI é cerca de 286 vezes maior que no 40<sup>o</sup> DAI.

Observa-se, assim, que as fêmeas de SMSM, apesar de inicialmente discretas, mostraram maior valor de OPG/Fêmea durante o período de observação. Nas infecções concomitantes, ao contrário, cada fêmea eliminou mais ovos no início da infecção, mas mostrou sempre menor valor de OPG/Fêmea que as fêmeas do grupo controle (SMSM) no transcorrer da infecção, isto é, no 50<sup>o</sup> e 60<sup>o</sup> DAI.

### **c) Contagem de ovos nas fêmeas e lobos testiculares nos machos:**

Quando presente, apenas um ovo foi observado no útero das fêmeas (**Figura 2d**). Na **Tabela 10**, estão registradas as médias do número de fêmeas portando um ovo, do número de lobos testiculares presentes no machos e do número de machos com lobos testiculares deslocados recuperados dos animais de apenas uma réplica nos diferentes grupos experimentais. Observamos nesta **Tabela** que poucas fêmeas foram vistas com um ovo e que a média geral foi semelhante entre os grupos JUNT e o controle SMSM, ou seja, 0,8 fêmeas em média apresentaram um ovo no útero nestes grupos. Este valor foi um pouco superior no grupo SVSM (0,9) e inferior no grupo SMSV (0,7). No entanto, se observarmos a média de fêmeas com um ovo nos diferentes dias de infecção (**Tabela 11**), verificamos que esta média aumenta do 40<sup>o</sup> para o 50<sup>o</sup> DAI, diminuindo no 60<sup>o</sup> DAI em todos os grupos, exceto no grupo SVSM onde este pico é observado no 40<sup>o</sup> DAI. A análise estatística não mostrou diferença significativa em relação aos diferentes DAI e grupos experimentais ( $P=0,4037$  e  $P=0,1075$  respectivamente).

Em relação ao número de lobos testiculares dos machos de *S. mansoni*, as **Tabelas 10 e 11** mostram que tanto a média geral por grupo experimental (**Tabela 10**) como a média em cada dia de observação nos diferentes grupos experimentais (**Tabela 11**), variou de 8 a 9. Não ultrapassa, assim, os limites de variação descritos para a espécie. A única

exceção foi a média registrada no 60<sup>o</sup> DAI em SVSM, que foi de 10,7 lobos testiculares, aumentando conseqüentemente a média geral do grupo para 9,5 lobos (**Tabela 10**). A análise estatística, no entanto, mostrou diferença significativa no número de lobos testiculares dos machos obtidos de um animal para outro ( $P=0,0013$ ), mas não em machos dos diferentes grupos ( $P=0,2237$ ) e dias de infecção ( $P=0,1025$ ). Convém ressaltar que em muitos machos foram observadas formações lobulares semelhantes a testículos em localizações deslocadas (**Figura 8**). O maior número médio de machos com formações lobulares deslocadas foi observado no grupo JUNT e no controle SMSM (**Tabelas 10 e 11**). Não foi feito, no entanto, estudo histológico para confirmação de tecido testicular.

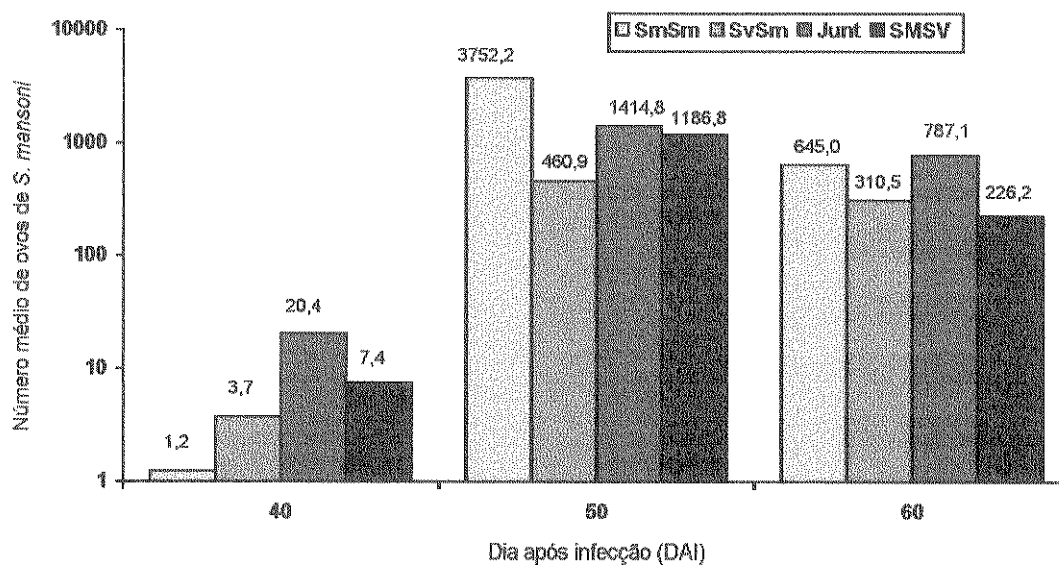
#### 4.4 - *Schistosoma mansoni* - Análise Morfométrica:

Na **Tabela 12** estão registradas as medidas médias dos vermes obtidos de apenas uma réplica nos quatro grupos experimentais. Observa-se nesta **Tabela** que as fêmeas sempre foram mais longas que os machos, medindo aproximadamente 8,0 mm de comprimento por 0,1 mm de largura nos grupos SMSM, JUNT e SMSV. Os machos nestes grupos também apresentaram comprimentos semelhantes entre si, ao redor de 7,0 mm, com largura variando entre 0,3 a 0,4 mm. Apenas os machos de SVSM se mostraram um pouco mais curtos que nos demais grupos. Nas fêmeas a distância entre as ventosas foi de 0,3 mm para todos os grupos e nos machos ao redor de 0,7 mm.

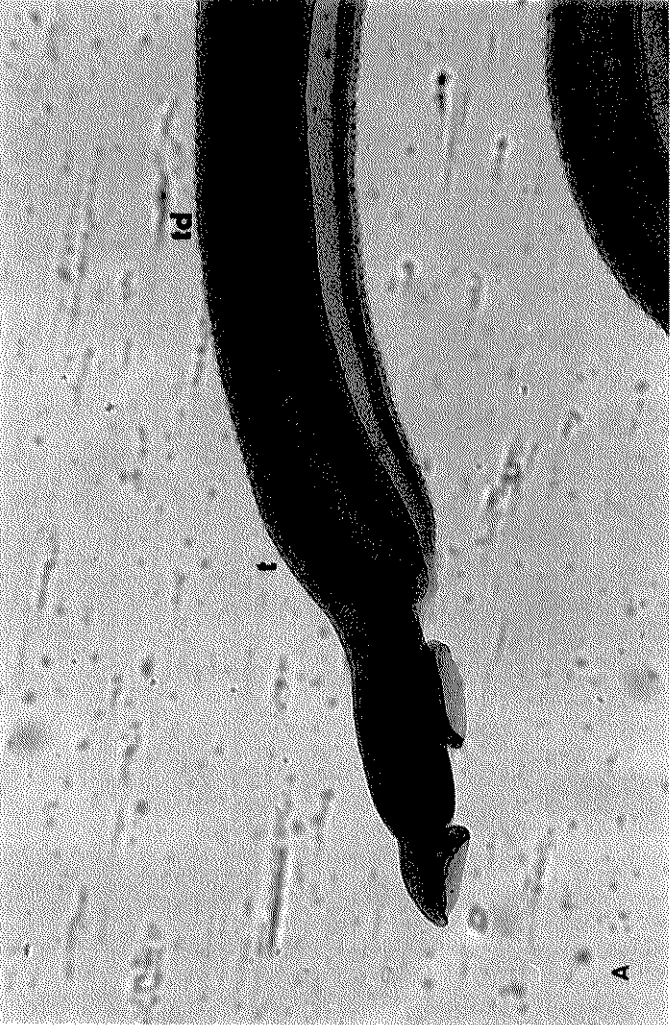
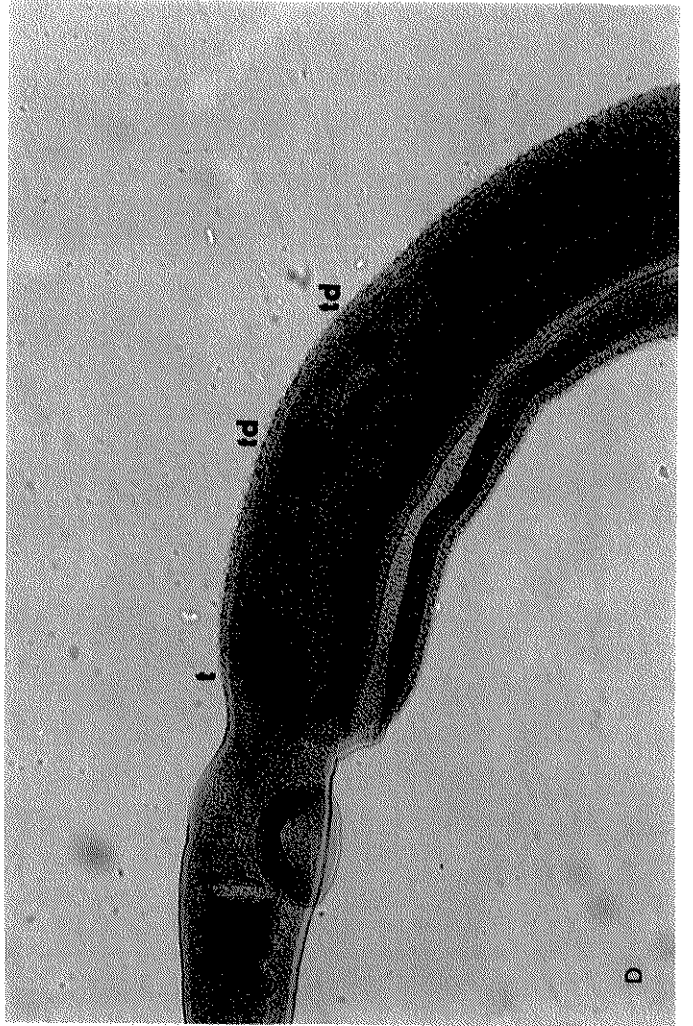
Analisando a **Tabela 13**, onde são mostradas as medidas dos vermes dos diferentes grupos nos vários dias de observação (DAI), verifica-se que os vermes, tanto machos como fêmeas, apresentaram-se de um modo geral, mais longos no 60<sup>o</sup> DAI. A análise estatística mostrou aumento no comprimento dos vermes do 40<sup>o</sup> para o 60<sup>o</sup> DAI ( $P=0,0106$  para os machos e

$P \leq 0,0001$  para as fêmeas). Estas medidas, variaram muito de um camundongo para outro ( $P \leq 0,0001$ ).





**Figura 7:** Número médio de ovos por grama de fezes (OPG) de *S. mansoni* no 40<sup>o</sup> 50<sup>o</sup> e 60<sup>o</sup> DAI nos diferentes grupos de infecção. (dados obtidos de camundongos das três réplicas).



**Tabela 6:** Número médio de machos (M), fêmeas (F), casais (C), média total de fêmeas (F+C), de machos (M+C) e média total de vermes de *S. mansoni* nos diferentes grupos experimentais (dados obtidos de camundongos de três réplicas).

| GRUPOS | Nº de camundongos | Machos<br>(M) | Fêmeas<br>(F) | Casais<br>(C) | Soma das<br>médias (F+C) | Soma das<br>médias (M+C) | Total de<br>vermes<br>(F+C)+(M+C) |
|--------|-------------------|---------------|---------------|---------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------------|
|        |                   |               |               |               |                          |                          |                                   |
| SMSM   | 27                | 4,4±6,8       | 2,4±3,1       | 10,3±10,6     | 12,7                     | 14,7                     | 27,4                              |
| SVSM   | 27                | 2,3±2,0       | 2,3±2,5       | 10,2±8,2      | 12,5                     | 12,5                     | 25,0                              |
| JUNT   | 26                | 6,8±6,0       | 3,7±3,4       | 12,4±8,9      | 16,0                     | 19,2                     | 35,2                              |
| SMSV   | 27                | 4,8±5,2       | 3,2±4,0       | 16,2±12,4     | 19,0                     | 20,9                     | 40,0                              |

**Tabela 7:** Número médio de fêmeas, machos e casais de *S. mansoni* e % de recuperação dos vermes nos diferentes grupos experimentais e dias de infecção (dados obtidos de camundongos das três réplicas).

| DAI             | GRUPOS |           |           |          |           |
|-----------------|--------|-----------|-----------|----------|-----------|
|                 | VERMES | SMSM      | SVSM      | JUNT     | SMSV      |
| 40 <sup>o</sup> | Fêmeas | 2,7±4,1   | 1,9±2,2   | 4,0±4,4  | 5,6±5,0   |
|                 | Machos | 4,6±8,8   | 2,7±2,3   | 6,7±6,6  | 4,7±5,6   |
|                 | Casais | 5,0±5,8   | 7,8±5,3   | 8,1±8,4  | 13,1±9,4  |
|                 | %      | 17,5      | 20,1      | 26,9     | 36,4      |
| 50 <sup>o</sup> | Fêmeas | 2,4±3,1   | 3,3±3,0   | 3,9±3,5  | 2,8±3,0   |
|                 | Machos | 4,9±6,0   | 3,0±2,0   | 7,9±7,1  | 5,6±3,6   |
|                 | Casais | 13,7±12,3 | 12,0±10,1 | 12,1±7,6 | 21,3±15,1 |
|                 | %      | 34,8      | 30,3      | 36,0     | 51,0      |
| 60 <sup>o</sup> | Fêmeas | 1,9±1,6   | 1,7±2,1   | 3,1±1,9  | 0,9±1,1   |
|                 | Machos | 3,6±5,5   | 1,3±1,4   | 5,9±4,4  | 3,9±6,6   |
|                 | Casais | 12,2±10,9 | 10,8±9,0  | 17,4±9,2 | 13,4±11,2 |
|                 | %      | 30,0      | 24,6      | 43,7     | 31,6      |

**Tabela 8:** Número médio de ovos por grama de fezes (OPG), número médio de ovos por grama de fezes por fêmea(OPG/Fêmea) e número de camundongos examinados em cada grupo experimental (dados obtidos de camundongos de três réplicas).

| GRUPOS | N <sup>o</sup> de ovos/g/fezes<br>OPG | OPG/Fêmeas | N <sup>o</sup> de camundongos<br>examinados |
|--------|---------------------------------------|------------|---|
| SMSM   | 1476±6400,5                           | 116,5      | 27  |
| SVSM   | 258±345,6                             | 20,7       | 27  |
| JUNT   | 739±890,1                             | 46,1       | 26  |
| SMSV   | 464±771,4                             | 24,4       | 23  |

**Tabela 9:** Valor médio de OPG/Fêmea de *S. mansoni* nos diferentes grupos experimentais e dias de infecção (DAI). Foram consideradas todas as fêmeas recuperadas em cada dia, acasaladas ou não (dados obtidos de camundongos das três réplicas).

| GRUPOS | OPG/Fêmea           |                     |                     |
|--------|---------------------|---------------------|---------------------|
|        | 40 <sup>o</sup> DAI | 50 <sup>o</sup> DAI | 60 <sup>o</sup> DAI |
| SMSM   | 0,2                 | 231,9               | 45,7                |
| JUNT   | 1,7                 | 88,4                | 38,4                |
| SVSM   | 0,4                 | 30,1                | 24,9                |
| SMSV   | 0,4                 | 49,2                | 15,8                |

**Tabela 10:** Número de fêmeas e machos de *S. mansoni* examinados, número médio de fêmeas com um ovo no útero, número médio de lobos testiculares nos machos e número médio de machos com lóbulos testiculares deslocados nos diferentes grupos experimentais (dados obtidos dos animais de uma réplica).

| GRUPOS | Nº de fêmeas examinadas | nº médio de fêmeas com um ovo | Nº de machos examinados | nº médio de lobos testiculares nos machos | nº médio de machos com lobos testiculares deslocados |
|--------|-------------------------|-------------------------------|-------------------------|---|--|
| SMSM   | 83                      | 0,8±0,4                       | 102                     | 9,0±2,9                                   | 0,15±0,3   |
| SVSM   | 57                      | 0,9±0,4                       | 63                      | 9,5±2,2                                   | 0,03±0,2   |
| JUNT   | 87                      | 0,8±0,4                       | 107                     | 8,7±2,0                                   | 0,13±0,3   |
| SMSV   | 69                      | 0,7±0,4                       | 81                      | 8,8±1,9                                   | 0,02±0,1   |

**Tabela 11:** Número médio de fêmeas de *S. mansoni* com um ovo no útero, número médio de lóbulos testiculares nos machos e número médio de machos que apresentaram lóbulos testiculares deslocados nos diferentes grupos experimentais e dias de infecção (dados obtidos dos animais de uma réplica).

| GRUPOS | DAI             | n <sup>o</sup> médio de fêmeas com um ovo | n <sup>o</sup> médio de lobos testiculares nos machos | n <sup>o</sup> médio de machos com lobos testiculares deslocados |
|--------|-----------------|---|---|--|
| SMSM   | 40 <sup>o</sup> | 0,7±0,4                                   | 9,1±2,7   | 0,33±0,5   |
| SVSM   | 40 <sup>o</sup> | 0,9±0,3                                   | 9,1±2,4   | 0  |
| JUNT   | 40 <sup>o</sup> | 0,7±0,4                                   | 9,0±1,9   | 0,13±0,3   |
| SMSV   | 40 <sup>o</sup> | 0,6±0,5                                   | 8,4±1,9   | 0  |
| SMSM   | 50 <sup>o</sup> | 0,9±0,3                                   | 8,8±2,1   | 0,05±0,2   |
| SVSM   | 50 <sup>o</sup> | 0,8±0,3                                   | 9,2±2,0   | 0  |
| JUNT   | 50 <sup>o</sup> | 0,9±0,3                                   | 8,6±2,2   | 0,14±0,3   |
| SMSV   | 50 <sup>o</sup> | 0,8±0,4                                   | 9,2±2,3   | 0,02±0,2   |
| SMSM   | 60 <sup>o</sup> | 0,8±0,4                                   | 9,2±2,2   | 0,08±0,3   |
| SVSM   | 60 <sup>o</sup> | 0,8±0,4                                   | 10,7±1,8  | 0,12±0,3   |
| JUNT   | 60 <sup>o</sup> | 0,8±0,4                                   | 8,6±1,9   | 0,05±0,2   |
| SMSV   | 60 <sup>o</sup> | 0,7±0,4                                   | 8,5±1,5   | 0,05±0,2   |

**Tabela 12:** Média das medidas em mm: comprimento total(CT), largura(L) e distância entre as ventosas(V) das fêmeas e dos machos de *S. mansoni* nos diferentes grupos experimentais (dados obtidos dos animais de uma réplica).

| GRUPOS | CT      |         | L       |         | V       |         |
|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|        | Fêmeas  | Machos  | Fêmeas  | Machos  | Fêmeas  | Machos  |
| SMSM   | 8,2±1,7 | 7,2±1,2 | 0,1±0,0 | 0,4±0,0 | 0,3±0,0 | 0,7±0,1 |
| SVSM   | 7,7±1,3 | 6,8±0,8 | 0,1±0,0 | 0,4±0,0 | 0,3±0,0 | 0,7±0,1 |
| JUNT   | 8,2±1,2 | 7,1±1,0 | 0,1±0,0 | 0,4±0,0 | 0,3±0,0 | 0,7±0,1 |
| SMSV   | 8,0±1,9 | 7,2±1,2 | 0,1±0,0 | 0,3±0,0 | 0,3±0,0 | 0,8±0,1 |



**Tabela 13:** Média das medidas em mm: comprimento total(CT), largura(L) e distância entre as ventosas(V) das fêmeas e machos de *S. mansoni* nos diferentes dias e grupos experimentais (dados obtidos dos animais de uma réplica).

| GRUPOS | DAI             | CT      |         | L       |         | V       |         |
|--------|-----------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|        |                 | Fêmeas  | Machos  | Fêmeas  | Machos  | Fêmeas  | Machos  |
| SMSM   | 40 <sup>o</sup> | 7,1±1,5 | 6,4±1,2 | 0,1±0,0 | 0,4±0,0 | 0,3±0,0 | 0,7±0,1 |
| SVSM   | 40 <sup>o</sup> | 6,8±1,0 | 6,4±0,8 | 0,1±0,0 | 0,4±0,0 | 0,3±0,1 | 0,7±0,1 |
| JUNT   | 40 <sup>o</sup> | 7,8±1,2 | 7,1±0,9 | 0,1±0,0 | 0,3±0,0 | 0,3±0,0 | 0,7±0,1 |
| SMSV   | 40 <sup>o</sup> | 6,2±1,3 | 6,2±1,1 | 0,1±0,0 | 0,3±0,0 | 0,3±0,0 | 0,6±0,1 |
| SMSM   | 50 <sup>o</sup> | 8,4±1,4 | 7,3±1,2 | 0,1±0,0 | 0,4±0,0 | 0,3±0,0 | 0,7±0,1 |
| SVSM   | 50 <sup>o</sup> | 8,0±1,0 | 7,3±0,9 | 0,2±0,0 | 0,4±0,0 | 0,3±0,0 | 0,7±0,1 |
| JUNT   | 50 <sup>o</sup> | 8,8±1,3 | 7,0±1,1 | 0,1±0,0 | 0,4±0,0 | 0,3±0,0 | 0,7±0,1 |
| SMSV   | 50 <sup>o</sup> | 8,4±1,2 | 7,5±1,0 | 0,1±0,0 | 0,4±0,0 | 0,3±0,0 | 0,7±0,1 |
| SMSM   | 60 <sup>o</sup> | 8,6±1,5 | 7,5±0,9 | 0,1±0,0 | 0,4±0,0 | 0,3±0,0 | 0,7±0,1 |
| SVSM   | 60 <sup>o</sup> | 8,6±1,2 | 7,0±0,6 | 0,2±0,1 | 0,4±0,0 | 0,3±0,0 | 0,7±0,1 |
| JUNT   | 60 <sup>o</sup> | 8,2±1,0 | 7,4±0,8 | 0,1±0,0 | 0,4±0,0 | 0,3±0,0 | 0,7±0,1 |
| SMSV   | 60 <sup>o</sup> | 9,7±1,4 | 7,7±0,9 | 0,1±0,0 | 0,4±0,0 | 0,3±0,0 | 0,7±0,1 |

#### **4.5 - Interação de *Strongyloides venezuelensis* e *Schistosoma mansoni*:**

No grupo experimental SMSV, a infecção prévia por *S. mansoni*, já entrando em fase de plena maturação, pareceu inibir sensivelmente o desenvolvimento de *S. venezuelensis*, reduzindo a recuperação de vermes e provocando eliminação precoce. Já o desenvolvimento do *Schistosoma* foi favorecido, pois observou-se aumento na carga de vermes. Neste grupo pudemos destacar dois momentos na interação dos parasitas:

- A maturação dos vermes de *S. mansoni* no sistema porta-hepático do hospedeiro coincidiu com a migração das larvas de *S. venezuelensis* até os pulmões. Observou-se uma sensível diminuição na recuperação de larvas de *S. venezuelensis* nos pulmões.

A formação de casais de *S. mansoni* foi influenciada pela infecção de *S. venezuelensis*, que provocou aumento na recuperação de vermes. O início do aparecimento de ovos de *S. mansoni* coincidiu com o início da eliminação de ovos de *S. venezuelensis* pelas fezes, afetando a recuperação e o número de ovos de *S. venezuelensis*.

No grupo SVSM, a infecção posterior por *S. mansoni* favoreceu o desenvolvimento de *S. venezuelensis* que persistiu por mais tempo no hospedeiro, além de ter permitido maior recuperação de vermes. As fêmeas de *S. venezuelensis* neste grupo apresentaram-se maiores que nos demais grupos experimentais. O desenvolvimento de *S. mansoni* foi prejudicado pela infecção prévia por *S. venezuelensis*. Notou-se uma diminuição na carga de vermes, sendo as fêmeas e os machos menores que nos demais grupos. Podemos destacar o seguinte momento como ponto crítico na interação dos parasitas:

- Quando as larvas de *S. venezuelensis* estão migrando dos pulmões ao intestino, os esquistossômulos de *S. mansoni* estão iniciando o ciclo pulmonar. Este fato pareceu favorecer o estabelecimento das fêmeas de *S. venezuelensis*. Quando os adultos de *S. mansoni* chegaram ao sistema porta-hepático, acasalam-se e começam eliminar ovos, a infecção de *S. venezuelensis* já foi eliminada, mas, apesar disso, ocorreu uma menor recuperação e diminuição no tamanho dos vermes adultos de *S. mansoni*.

No grupo JUNT, podemos dizer que houve uma interação sinérgica. Ambos parasitas se beneficiaram da competição, com aumento da carga de vermes, sendo que a infecção por *S. venezuelensis* persistiu por mais tempo que o controle (SVSV). A fase pulmonar pareceu ser neste grupo, o ponto mais importante da interação.

- O ciclo pulmonar dos parasitas se processou de forma subsequente. Primeiro ocorreu o ciclo pulmonar de *S. venezuelensis* e em seguida o ciclo pulmonar de *S. mansoni*.

**EM RESUMO:****- SMSV:**

- S. venezuelensis:***
- diminui recuperação de larvas nos pulmões.
  - diminui recuperação de fêmeas no intestino.
  - diminui eliminação de ovos nas fezes.
  - aumenta o valor de OPG/Fêmea.
  - a infecção é eliminada precocemente.

- S. mansoni:***
- aumenta a carga de vermes:
    - fêmeas: diminui
    - machos: aumenta
    - casais: aumenta
  - diminui eliminação de ovos nas fezes.
  - diminui o valor de OPG/Fêmea.

**- SVSM:*****S. venezuelensis:***

- aumenta a recuperação de fêmeas no intestino.
- diminui a eliminação de ovos nas fezes.
- diminui o valor de OPG/Fêmea.
- a infecção persiste por mais tempo.
- as fêmeas são menores.

***S. mansoni:***

- diminui a carga de vermes:
  - fêmeas: diminui
  - machos: diminui
  - casais: diminui
- diminui eliminação de ovos nas fezes.
- diminui o valor de OPG/Fêmea.
- as fêmeas e os machos são menores.
- ocorre maior número de fêmeas com ovo.
- ocorre maior número de testículos nos machos.

- **JUNT:**

***S. venezuelensis:***

- aumenta recuperação de fêmeas no intestino.
- aumenta eliminação de ovos nas fezes.
- aumenta o valor de OPG/Fêmea.
- infecção persiste por mais tempo.

***S. mansoni:***

- aumenta carga de vermes:
  - fêmeas: aumenta
  - machos: aumenta
  - casais: aumenta
- diminui eliminação de ovos nas fezes.
- diminui o valor de OPG/Fêmea.

## **DISCUSSÃO**

## 5 - DISCUSSÃO:

Muitos indivíduos em área endêmica de *S. mansoni*, têm ou tiveram amplas oportunidades de adquirir vários helmintos intestinais. CORREIA-OLIVEIRA et alii (1988) observaram reação-cruzada com *S. mansoni* no soro de pacientes infectados com cestódeos e em alguns casos com *A. lumbricoides*. ROSSI et alii (1993) observaram reação-cruzada com antígenos de *S. mansoni* em pacientes soropositivos para *S. stercoralis*, na região de Campinas/SP. Devido a ampla distribuição mundial, tanto da estrogiloidíase como da esquistossomose é possível observar na natureza muitos indivíduos portando ambos parasitas. Apesar disso, não foi encontrado na literatura dos últimos anos, nenhum relato sobre infecção experimental concomitante entre espécies de *Strongyloides* e *Schistosoma*.

Poliparasitismo pode ser estudado sob vários aspectos, sendo a interação dos parasitas monitorada por parâmetros parasitológicos, clínico-patológicos, imunológicos, genéticos, etc.

Este trabalho baseou-se em parâmetros parasitológicos, fornecendo dados quantitativos sobre a interação de *S. mansoni* com *S. venezuelensis*. Esta interação foi estudada em três grupos experimentais, de maneira a obter uma infecção simultânea e alternada de ambos parasitas.

Em comum com a larva filarióide de *S. venezuelensis*, a cercária de *S. mansoni* infecta o homem por penetração ativa pela pele e segue semelhante rota no estágio inicial de migração. Em nosso trabalho, não foi possível obter uma boa infecção de *S. venezuelensis* através da imersão da cauda dos camundongos em tubos de ensaio, contendo larvas filarióides. Esta metodologia, por nós desenvolvida,



necessita ainda de aperfeiçoamento. Sendo assim escolhemos a injeção subcutânea para padronizar a infecção de ambos parasitas. TEIXEIRA et alii (1993) estudaram os mecanismos da resposta inflamatória induzida pela injeção subcutânea de extrato de cercária de *S. mansoni* na pele de cobaias. Observaram que durante o processo de penetração a cercária secreta vários produtos de sua glândula acetabular e também sofre alterações no seu tegumento. Seu glicocálix de superfície, que é um poderoso ativador de complemento C10 e assim potencialmente letal para o parasita, é perdido. Sua secreção glândular contém várias enzimas capazes de degradar diferentes componentes da sua matriz. Isto pode salvar a cercária e facilitar sua entrada no sistema sanguíneo. Em diferentes espécies de animais, incluindo o homem, a reação inflamatória é vista como resposta da penetração da cercária, mas os autores acreditam que a reação inflamatória pode aumentar a destruição do tecido e facilitar a movimentação e penetração do parasita. No grupo JUNT do nosso trabalho com infecção simultânea de *S. mansoni* e *S. venezuelensis*, este processo pode ter sido mais intenso, visto que as larvas filarióides de *S. venezuelensis* e as cercárias de *S. mansoni* são inoculadas simultaneamente, ainda que em regiões diferentes. A migração das larvas e o ciclo pulmonar dos parasitas se processaram de maneira subsequente, iniciando com as larvas de *S. venezuelensis*. Talvez pelo contínuo e diferenciado estímulo antigênico, durante a migração para os pulmões o organismo do hospedeiro não consiga uma reação imunológica eficiente. Assim neste grupo, ambos parasitas se beneficiaram da competição, sendo esta uma interação sinérgica.

Nos outros dois grupos experimentais (SVSM e SMSV), a infecção que se processou primeiro se beneficiou da competição, provocando antagonismo para o parasita inoculado posteriormente. Como este comportamento independe de qual parasita tenha sido injetado previamente, poderíamos supor que a infecção posterior atue

como uma infecção secundária ou reinfecção, no que diz respeito a reação imunológica do hospedeiro. Nestes dois grupos experimentais, quando é feita a infecção posterior de um dos parasitas, a fase pulmonar do parasita envolvido na infecção prévia já se processou dando condições ao sistema imunológico do hospedeiro para definir sua estratégia de defesa. Através destes resultados, poderíamos supor que a fase pulmonar é o ponto crítico da interação, com maior influência na resposta imunológica do hospedeiro. TIMOTHY et alii (1992) sugeriram que resistência a reinfecção de *S. mansoni* em camundongo, induzida por vacinação com cercárias irradiadas, deve estar relacionada as formas migratórias ou imaturas do trematódeo, ambas encontradas na pele e pulmões do hospedeiro. Os autores trabalhando com infecção concomitante de *Schistosoma* com *Necator americanus*, sugeriram que a pele e os pulmões seriam os sítios de resistência para competição com *N. americanus*, sendo que resistência pode ser induzida por ambas espécies.

### **5.1 - Recuperação das larvas de *S. venezuelensis* e dos adultos de *S. venezuelensis* e *Schistosoma mansoni*:**

No grupo experimental JUNT o atraso na chegada das larvas de *S. venezuelensis* aos pulmões em relação ao controle SVSV, pode ser devido a reação imunológica-cruzada causada pela migração de ambos parasitas. As larvas de *S. venezuelensis* poderiam também chegar e sair assincronicamente dos pulmões em diferentes dias, o que poderia explicar a menor recuperação de fêmeas no 5<sup>o</sup> DAI e o pico de recuperação no 7<sup>o</sup> DAI superior aos demais grupos experimentais. WILKINSON et alii (1990) observaram intenso fluido edematoso alveolar no 5<sup>o</sup> dia após infecção com *N. americanus* em camundongo BALB. Por volta do 9<sup>o</sup> DAI ambos camundongos com infecção primária e

secundária de *N. americanus*, apresentaram vermes nos alvéolos e particularmente nos animais imunes, estes foram rodeados por células inflamatórias com ocasionais células gigantes. Fatos similares na resposta pulmonar foram previamente observados na infecção com *S. ratti* e *N. brasiliensis*. A reação pulmonar provocada pelo fato do ciclo pulmonar dos parasitas ter se processado subsequentemente pode ser responsável pela interação sinérgica, refletida no aumento da carga de vermes adultos de ambos os parasitas. Esse aumento foi uniforme para *S. mansoni* neste experimento, pois referiu-se ao número de machos, fêmeas e casais.

No grupo experimental SMSV, a infecção prévia de *S. mansoni* provocou efeito antagônico para *S. venezuelensis* infectado posteriormente. Este antagonismo é evidenciado pela sensível diminuição na carga de vermes de *S. venezuelensis*. TIMOTHY et alii (1992), observaram um aumento relativo de IgG para antígenos de larvas filarióides em camundongos infectados com *Necator americanus*. Este aumento foi potencializado pela exposição prévia a *S. mansoni*. Contudo a imunidade funcional, não foi detectada para ambos parasitas, após competição. Em nosso experimento observamos que o número de larvas de *S. venezuelensis* recuperadas dos pulmões se reduz a metade em relação ao controle SVSV. MOQBEL & WAKELIN (1981) observaram que durante infecção primária de *S. ratti* em ratos a resposta imunológica é operada contra o estágio intestinal e durante a infecção secundária as manifestações de imunidade intestinal são aceleradas. DAWKINS et alii (1980) não observaram reação inflamatória pulmonar ao redor das larvas de *S. ratti* em camundogo com infecção primária, mas na reinfecção foi evidenciado intenso infiltrado inflamatório. Inicialmente o infiltrado foi composto por células polimorfonucleares e depois por células mononucleares. As larvas observadas dentro dos granulomas foram desintegradas e não foi possível identificá-las após três dias de infecção. Talvez em nosso

experimento, a exposição prévia ao *S. mansoni*, tenha sido responsável por uma resposta imunológica mais efetiva do hospedeiro contra *S. venezuelensis*. Sendo assim, grande parte dos vermes seriam eliminados na fase pulmonar, o que explicaria a pequena recuperação de larvas nos pulmões e conseqüentemente de fêmeas no intestino dos animais. Outra hipótese que explicaria este efeito antagônico, seria o fato das fêmeas de *S. venezuelensis* chegarem ao intestino do camundongo (5<sup>o</sup> e 7<sup>o</sup> DAI) quando as fêmeas acasaladas de *S. mansoni* já estariam eliminando ovos (40<sup>o</sup> e 42<sup>o</sup> DAI). ANDREASSEN et alii (1990) demonstraram que a inflamação intestinal induzida pelos ovos de *S. mansoni* foi responsável pelo efeito antagônico da infecção concomitante de *S. mansoni* com *Hymenolepis diminuta* e *H. microstoma*. Talvez a inflamação causada pela passagem dos ovos de *S. mansoni* pelo intestino, prejudique o estabelecimento das fêmeas de *S. venezuelensis*. A passagem das larvas de *S. venezuelensis* pelos pulmões, provavelmente não foi afetada pela formação de granulomas ao redor de ovos de *S. mansoni*, pois as larvas filarióides estariam nos pulmões no 37<sup>o</sup> DAI do ciclo do *S. mansoni*, quando parece pouco provável, já existirem granulomas de *S. mansoni* nos pulmões. Estes devem aparecer por volta do 50<sup>o</sup> a 60<sup>o</sup> DAI (ZANOTTI et alii, 1983). *S. mansoni* neste grupo experimental (SMSV) sofreu efeito sinérgico, aumentando a carga de vermes em relação aos demais grupos experimentais, porém este aumento ao contrário do grupo JUNT, não foi uniforme, sendo evidente para número de casais e fêmeas. Neste grupo, até o 35<sup>o</sup> DAI, o desenvolvimento de *S. mansoni* ocorre normalmente, sem interferência do outro parasita. A infecção de *S. venezuelensis* é feita no 35<sup>o</sup> DAI, quando já está concluída a migração pulmonar dos vermes. Nesta fase os esquistossômulos que saíram dos pulmões, estão a caminho do fígado, migrando pelo sangue. DEAN et alii (1984) observaram, por autorradiografia, focos de vermes em outros tecidos que não a epiderme, pulmão ou fígado. MILLER & WILSON

(1978) relataram a migração vascular dos esquistossômulos após penetrarem na pele. Esta detecção de esquistossômulos através do corpo do camundongo infectado faz verdadeira a teoria que estes seriam destruídos possivelmente na circulação quando caminham para o sistema porta-hepático. BARBOSA et alii (1978) observaram assincronismo na chegada dos vermes de *S. mansoni* ao sistema porta-hepático de camundongos. A resposta imunológica desenvolvida pelo hospedeiro para infecção de *S. venezuelensis*, poderia afetar a migração dos esquistossômulos. Estes que estariam migrando para o fígado ao invés de mortos ou eliminados pelo organismo do hospedeiro, seriam canalizados para o fígado, aumentando a recuperação de vermes adultos no sistema porta-hepático. Os esquistossômulos poderiam ainda perfurar a pleura, o diafragma e chegariam ao fígado perfurando a cápsula de Glisson (BRUCE et alii, 1974). Estas várias hipóteses nos levam a sugerir que de acordo com a situação enfrentada pelo parasita, dentro das condições imunológicas apresentadas pelo organismo do hospedeiro, os esquistossômulos poderiam adotar diferentes rotas de migração, na tentativa de driblar o ataque imunológico do hospedeiro.

Dos experimentos com infecção concomitante, o SVSM obteve a maior recuperação de larvas de *S. venezuelensis* nos pulmões. Pode-se dizer que a maior parte das larvas filarióides fazem sua migração pulmonar sem interferência da infecção com *S. mansoni*. Quando foi feito o inóculo das cercárias, as larvas de *S. venezuelensis* estavam no terceiro dia de migração, sendo que a maior parte provavelmente já teria passado pelos pulmões no 2º DAI. Na infecção controle de *S. venezuelensis* (SVSV) o maior número de larvas foi observado no intestino do camundongo no 5º DAI. Neste experimento, assim como nos demais com infecção concomitante, as larvas de *S. venezuelensis* chegaram ao intestino mais lentamente, sendo o maior número recuperado no 7º DAI. A infecção posterior de *S. mansoni* neste experimento aumentou levemente a recuperação média de fêmeas no

intestino dos camundongos. Podemos dizer que a infecção prévia de *S. venezuelensis* provocou antagonismo para *S. mansoni*, afetando a carga de vermes recuperada, mais evidentemente em relação aos machos. Sempre se acreditou na destruição de grande parte das cercárias de *S. mansoni* após a penetração da pele (CLEGG & SMITHERS, 1968; SMITHERS & CAMMAGE, 1980), ou durante seu percurso até os pulmões. DEAN & MANGOLD (1992) demonstraram, em camundongo, que 50% das cercárias são eliminadas na fase pulmonar, quando passariam pelos alvéolos e seriam deglutidas, sendo eliminadas vivas, pelo trato digestivo. Estes mesmos autores acreditam que o comportamento semelhante aos nematódeos, inclusive ao *S. venezuelensis* não é regra entre os hospedeiros estudados em laboratório, sendo observado em camundongo C57. Eliminação de grande parte dos *Schistosoma* foi observada na pele de camundongo CBA/Ca imunizados com linhagem porto-riquenha de *S. mansoni* (MILLER et alii, 1980; McLAREN et alii, 1987). Os ratos e as cobaias vacinadas, diferem do camundongo quanto ao sítio de eliminação mediada por imunidade. Em ratos, além da pele, essa eliminação parece ocorrer nos pulmões ou na rota de migração para o fígado. A cobaia (*Cavia porcellus*) apresenta a capacidade adicional de matar vermes de *Schistosoma* no fígado (McLAREN et alii, 1985; McLAREN et alii, 1986). Deve-se enfatizar, contudo, que os sítios implicados por estes experimentos como tendo a capacidade para eliminação dos parasitas mediada pela imunidade não são necessariamente os sítios de atritos que ocorrem em circunstâncias normais. No grupo experimental SVSM, a infecção prévia de *S. venezuelensis* desenvolveu seu ciclo pulmonar antes dos esquistossômulos chegarem aos pulmões, este fato talvez promova a eliminação dos esquistossômulos ainda na fase pulmonar.

No grupo controle de *S. venezuelensis* (SVSV) observamos uma queda abrupta do número de vermes recuperados no 10º DAI

(**Figura 4**), mas quando ocorre competição deste parasita com *S. mansoni* essa queda apesar de continuar ocorrendo foi menor, exceto para o grupo SMSV onde a infecção de *S. venezuelensis* foi praticamente eliminada no 10<sup>o</sup> DAI. Essa persistência no 10<sup>o</sup> DAI, pode ser consequência da interação dos parasitas, como observamos ainda nesta **Figura 4**. A maior parte das fêmeas de *S. venezuelensis* nas infecções concomitantes chegaram mais tarde ao intestino, deslocando o pico de recuperação para o 7<sup>o</sup> DAI. Este atraso pode ser observado já na fase pulmonar (**Figura 3**).

## **5.2 - Eliminação de ovos nas fezes dos animais e número de ovos por fêmea de *S. venezuelensis* e *S. mansoni*:**

No grupo experimental JUNT, observou um aumento na eliminação de ovos de *S. venezuelensis* nas fezes dos animais. As fêmeas deste grupo chegaram em menor número ao intestino dos camundongos no 5<sup>o</sup> DAI do que as do grupo SVSM, apresentando o maior pico de recuperação no 7<sup>o</sup> DAI. No entanto, o número de ovos eliminados por grama de fezes foi sempre superior a SVSM nestes dois dias, especialmente no 7<sup>o</sup> DAI. As fêmeas do grupo SVSM, apesar do menor valor de OPG/Fêmea, não mostraram grande oscilação de OPG, mesmo no 10<sup>o</sup> DAI quando a redução do número de ovos, apesar de grande, foi menor que nos demais grupos, inclusive em relação ao controle (SVSV). A infecção simultânea (JUNT) pareceu interferir fisiologicamente nas fêmeas de *S. venezuelensis*, pois apesar da recuperação de vermes ser semelhante ao SVSV, o valor de OPG/Fêmea foi maior (**Tabelas 1 e 2**). Neste grupo os valores de OPG e OPG/Fêmea de *S. mansoni* foram maiores em relação aos outros grupos concomitantes, mas abaixo do observado no controle (SMSM). Ainda assim o valor de OPG foi a metade do observado em SMSM. Apesar dos

vermes de *S. mansoni* desses grupos SMSM e JUNT terem apresentado valores semelhantes na porcentagem de casais recuperados, cerca de 70 a 74%, o OPG foi muito diferente (**Tabela 8**). Isto talvez possa ser explicado pelo menor número de vermes não pareados encontrados em SMSM a partir do 50º DAI (**Tabela 7**), embora o número total de fêmeas recuperadas tenha sido menor em SMSM.

No grupo experimental SVSM observou-se o menor valor de OPG/Fêmea de *S. venezuelensis*. Este fato deve ser efeito da interação com *S. mansoni*, visto que não houve diferença na recuperação geral de *S. venezuelensis* entre os diferentes grupos exceto no SMSV. Para *S. mansoni* o menor valor de OPG e OPG/Fêmea também foi observado neste grupo. Este fato ocorre provavelmente devido a interação dos parasitas, pois a recuperação de fêmeas foi semelhante ao controle (**Tabela 6**). Os vermes de SVSM, apesar de apresentarem o mesmo comportamento em relação a SMSM e a SMSV, ou seja, o número de casais e a porcentagem de vermes recuperados aumentaram do 40º para o 50º DAI e diminuíram no 60º DAI (**Tabela 7**), o OPG foi muito diferente entre eles. Nas **Tabelas 6 e 10** observamos que as fêmeas de *S. mansoni* nos grupos SMSM e SVSM apresentando semelhança no número total de fêmeas recuperadas, diferiram um pouco na média de fêmeas contendo um ovo no útero (0,8 0,9 respectivamente) e no número médio de OPG (**Tabela 8**). Assim, pode-se supor que a interação entre os parasitas tenha influenciado na fisiologia, se não no OPG/Fêmea, pelo menos na eliminação de ovos de *S. mansoni* pelas fezes.

No grupo SMSV o menor valor de OPG das fêmeas de *S. venezuelensis* foi devido ao pequeno número de fêmeas presentes na infecção, o que se pode verificar pela **Figura 3 e Tabela 1**, onde se nota menor número de larvas recuperadas nos pulmões e destas larvas uma pequena parcela chegou ao intestino. Apesar do pequeno número de fêmeas de *S. venezuelensis* no intestino no 7º e principalmente no 10º



DAI, a oviposição por fêmea foi muito intensa em relação aos demais grupos. Este parece mais um efeito biológico natural do que uma interferência propriamente dita da interação dos parasitas. Em relação a *S. mansoni*, comparando o grupo SMSV e JUNT, parece que o JUNT sofreu menor influência da interação, pois embora o número total de vermes seja semelhante nos dois grupos, o OPG/Fêmea e o valor de OPG são inferiores em SMSV (**Tabela 8**). O grupo JUNT foi o único onde o número de casais e a porcentagem de recuperação de vermes aumentaram de forma crescente do 40º ao 60º DAI (**Tabela 7**). Analisando as **Tabelas 8 e 10**, verificamos que apesar dos grupos com infecção concomitante apresentarem menor valor de OPG e OPG/Fêmea em relação ao controle (SMSM), a média de fêmeas com um ovo no útero foi semelhante ao grupo JUNT e superior no grupo SVSM. No grupo SMSV onde houve maior recuperação de vermes, com maior número de fêmeas e casais (**Tabela 6**), observamos a menor média de fêmeas com ovo no útero. Analisando o número total de fêmeas de *S. mansoni*, acasaladas ou não, nota-se no grupo controle SMSM que 7,8 fêmeas, representando 44,5% do total de vermes recuperados no 40º DAI, (**Tabela 7**), eliminaram 1,2 OPG (**Figura 7**) e no 50º DAI, um número um pouco maior de fêmeas, 46,4% do total de recuperados, foi responsável pela eliminação de 3752,2 OPG, cerca de 3051 vezes maior. No 40º DAI, a interação dos parasitas provocou uma eliminação maior de ovos pelas fezes, explicado em parte pela fecundidade possivelmente mais precoce e maior das fêmeas nas infecções concomitantes (**Tabela 9**). O número de OPG e o OPG/Fêmea de *S. mansoni* foram em média inferiores nas infecções concomitantes em relação ao controle SMSM (**Tabela 8**). Apesar dos grupos JUNT e SMSV apresentarem maior carga total de vermes, inclusive casais, não superaram o controle SMSM quanto ao OPG/Fêmea e a eliminação de ovos nas fezes. Talvez uma proporção maior de ovos nas infecções concomitantes fique retido no fígado ou outros órgãos em reações

granulomatosas, visto que consideramos em nossa análise apenas os ovos eliminados nas fezes. Porém a passagem de ovos de *S. mansoni* nas fezes, nem sempre é claramente um bom indicador de depósito de ovos no tecido. CHEEVER et alii (1994a e b), associaram o aumento da intensidade de infecção a diminuição da fibrose hepática. O número de ovos por casal no tecido de humanos infectados diminui com o aumento da intensidade de infecção, mas o número de ovos por casal eliminados nas fezes não altera significativamente com a intensidade de infecção. Segundo os autores, alguns casais de *S. mansoni* são inférteis e isto costuma ser visto como um processo gradual, que contribui para a variabilidade. Observaram também que a fecundidade permanece constante com o tempo e casais inférteis foram mais frequentes em camundongos com infecção crônica de *S. mansoni*, indicando que não foi um prolongado período de diminuição da fecundidade. Estes autores acreditam que diferenças genéticas dos vermes, parecem ser a mais provável causa da variação na fecundidade, mas o ambiente ou a soma das condições e circunstâncias do organismo, tal como a inaparente infecção intercorrente, parece também afetar os vermes.

Os valores de OPG/Fêmea de *S. venezuelensis*, notadamente no 10º DAI, devem ser encarados com certa reserva, pois não se pode esquecer a possibilidade de ovos eliminados terem ficado retidos na mucosa intestinal e serem eliminados mais tarde, quando já havia poucas fêmeas no intestino. ABE et alii (1993) observaram que os vermes de *S. rattii* eliminados do intestino delgado foram retidos no ceco por alguns dias antes de serem expelidos. A retenção de *S. rattii* no ceco seria um evento biológico, mas não um simples mecanismo no trânsito das fezes. Acredita-se que os vermes se desloquem para evitar a resposta imune do hospedeiro. O ceco é uma região anatômicamente sem vilosidades. Esta diferença pode levar a diferentes respostas imunológicas entre o delgado e o ceco. A interleucina (IL-3) induz expulsão do verme presente no intestino delgado, mas não no ceco.

Um infiltrado de eosinófilos coincide com o pico de carga de vermes no ceco e possivelmente estas células são responsáveis pela expulsão dos vermes do ceco. A possível importância da IL-3 depende da hiperplasia de mastócitos da mucosa na expulsão de espécies de *Strongyloides*. Mastócitos da mucosa são considerados efetores seletivos da expulsão de espécies de *Strongyloides*, pois para outras espécies como *N. brasiliensis* outras células são requeridas, como por exemplo as células caliciformes da mucosa do jejuno. A hiperplasia dessas células assim como a alteração na quantidade e qualidade de muco produzido, coincidem com a expulsão de *N. brasiliensis* em ratos (ISHIKAWA et alii, 1994). Os eosinófilos tem uma importante papel na imunologia das parasitoses, são células potentes capazes de secretar, gerando muitos produtos tóxicos e alguns deste produtos secretados têm sido descobertos associados a formas crônicas de esquistossomose. A eosinofilia tem um importante papel na morte de cercárias e esquistossômulos de *S. mansoni* in vitro, em hospedeiro vacinado ou imune (TEIXEIRA et alii, 1993 e LAWSON et alii, 1993).

Em nossos grupos experimentais foi o número de ovos que mais variações apresentaram e que se mostraram estatisticamente diferentes nas três réplicas, no 5º e 7º DAI. Essa grande diferença, talvez seja da própria biologia do parasita com eliminação irregular de ovos, mas também pode, em parte, ser atribuída aos erros inerentes aos métodos quantitativos de análise, principalmente quando se trabalha com quantidades muito pequenas de fezes. NOYA et alii (1992) demonstraram que para levantamento epidemiológico o método de KATO-KATZ se mostrou menos sensível que outros métodos imunológicos. Observaram que pacientes que excretavam menos de 100 ovos por grama de fezes não eram detectados pelo método quantitativo de KATO-KATZ, e sim pelos métodos imunológicos de ELISA-SEA; COPT e APIA. Desses métodos imunológicos os mais eficientes foram o COPT e o APIA, pois o ELISA-SEA apresentou reação-

cruzada com outros parasitas intestinais. CHIEFFI et alii (1981), observaram ao avaliarem a eficácia do método de KATO-KATZ no diagnóstico da esquistossomose, ocorrência de postura irregular em fêmeas de *S. mansoni* e conseqüentemente eliminação inconstante de ovos pelas fezes. Também sugerem que a distribuição irregular dos ovos do parasita nas amostras fecais, alteraria o resultado de técnicas de exame quantitativo.

CHAIA et alii (1968), fizeram um estudo comparativo dos métodos quantitativos de Kato, de Bell e de Barbosa, com fezes de pacientes infectados por *S. mansoni* e concluíram que os ovos já vêm naturalmente homogeneizados nas fezes e que o método de Kato é o mais eficiente. Os trabalhos de MARTINS & BEAVER (1968), CHAIA et al (1968), KATZ et al (1970) e BORDA & PELLEGRINO (1971a) demonstraram que as contagens seriadas do número de ovos de *S. mansoni* por grama de fezes, efetuadas na mesma amostra, foram, geralmente, uniformes quando avaliadas pelos coeficientes de variação. CASTILHO et alii (1984), fizeram estudo comparativo dos métodos de KATO-KATZ, McMASTER e STOLL-HAUSHEER e demonstraram que o método de KATO-KATZ, mostrou-se eficiente para detectar ovos pesados e o método de McMASTER, apesar do uso mais restrito a área veterinária, mostrou-se eficiente para detectar ovos leves, em infecções experimentais.

### 5.3 - Morfometria de *S. venezuelensis* e *S. mansoni*:

As medidas de *S. venezuelensis*, mesmo as proporcionalmente tomadas isoladamente, não são características seguras para identificar espécies ou linhagens de *Strongyloides*. As variações apresentadas pelas fêmeas do nosso experimento foram pequenas, na maioria dos casos, e não representam o aspecto mais evidente da interação. Acreditamos inclusive, que não se possa creditar a essas variações à interação entre os parasitas, devido a grande variação observada dentro de um mesmo grupo. Em cada um dos camundongos, as condições fisiológicas ou imunológicas, ainda não muito bem esclarecidas, podem estar desempenhando papel importante nas variações morfológicas.

As medidas médias de *S. mansoni* não mostraram variações significativas entre os grupos controles e os de infecção concomitante, significando que a interação dos parasitas não alterou as dimensões dos adultos de *S. mansoni*.

A variação nas medidas dos exemplares de *S. mansoni* e no número de lobos testiculares do macho parecem mais variações individuais, dependentes do camundongo, do que propriamente da interação dos parasitas, pois o crescimento dos vermes no decorrer da infecção ocorreu tanto no controle como nas infecções concomitantes. Fato curioso foi observado nas **Tabelas 10 e 12** em que vermes machos do SVSM, com menor comprimento médio apresentaram maior número médio de lobos testiculares. A análise de variância mostrou relação do comprimento dos machos com o número de lobos testiculares ( $P=0,0001$ ). ZANOTTI et alii (1982a), também observaram correlação entre o comprimento dos machos de *S. mansoni* e o número de testículos, porém esta observação foi feita em infecções unissexuais experimentalmente produzidas em camundongos.. Observamos formações lobulares deslocadas, (**Figura 8**) chegando em alguns casos,

a formação de grande lobo no terço médio dos machos (**Figura 8c**), que poderia ser confundido com ovário (VOGEL, 1947; SHORT, 1948 e RUIZ & COELHO, 1952), porém acreditamos, apesar de não ter sido feita confirmação histológica, tratar-se de lobos testiculares, uma vez que ZANOTTI et alii (1982b) descreveram como testículos, formações semelhantes encontradas em exemplares machos da mesma linhagem usada por nós. O deslocamento de lóbulos testiculares foram observados nos machos tanto do grupo controle (SMSM) como nos grupos concomitantes.

## **CONCLUSÃO**

## 6 - CONCLUSÃO

- quando a infecção dos parasitas foi feita simultaneamente (JUNT), o efeito sinérgico foi mais evidente em *S. venezuelensis*. Houve aumento na eliminação de ovos de *S. venezuelensis* nas fezes e maior recuperação de vermes adultos nos dois parasitas.

- quando se alternou a infecção prévia de um dos parasitas observou-se que o parasita inoculado previamente foi favorecido, com aumento da carga de vermes, apresentando no entanto, diminuição dos ovos eliminados nas fezes e diminuição no valor de OPG/Fêmea. O parasita inoculado posteriormente mostrou menor recuperação de adultos e OPG, evidenciando uma interação antagônica.

- a interação de *S. venezuelensis* e *S. mansoni* afeta a fisiologia das fêmeas de ambos parasitas, pois as fêmeas de *S. mansoni* apresentaram OPG/Fêmea e OPG sempre inferior ao controle (SMSM) e as fêmeas de *S. venezuelensis* apresentaram alteração nos valores de OPG/Fêmea e OPG que, no entanto, variaram de uma infecção concomitante para outra.

- a competição com *S. mansoni* diminuiu a recuperação de larvas de *S. venezuelensis* nos pulmões em todos os grupos com infecção concomitante.

- quanto à morfometria dos vermes adultos, acreditamos que a interação dos parasitas não afetou a morfologia destes. As variações observadas foram pequenas, não significativas, e não alteraram as proporções entre as medidas.



**RESUMO**

## 7 - RESUMO:

Este trabalho sobre poliparasitismo, baseou-se em parâmetros parasitológicos, fornecendo dados quantitativos sobre a interação de *Schistosoma mansoni* com *Strongyloides venezuelensis*. Foram formados três grupos experimentais, replicados três vezes, de maneira a obter uma infecção simultânea (grupo JUNT) e outras duas alternando a infecção prévia de um dos parasitas (grupos SVSM e SMSV). Mais dois grupos foram formados, um com infecção de *S. venezuelensis* (SVSV) e outro com infecção de *S. mansoni* (SMSM). Os cinco grupos experimentais foram compostos de 21 animais cada um, sendo cada réplica constituída por 105, totalizando 315 camundongos. Em cada um dos grupos foram avaliados os seguintes parâmetros: número de ovos eliminados nas fezes e fecundidade das fêmeas; número de larvas e adultos recuperados nas necropsias; morfometria dos vermes adultos. As infecções foram feitas por injeções subcutâneas em camundongos Swiss fêmeas, SPF, de aproximadamente com 30 dias de idade, com 100 cercárias de *S. mansoni* e 1300 larvas filarióides de *S. venezuelensi*. As larvas de *S. venezuelensis* foram recuperadas dos pulmões dos animais necropsiados no 2º DAI (dia após infecção), após fragmentação e incubação em estufa a 37º C. As fêmeas partenogenéticas foram recuperadas dos animais necropsiados no 5º, 7º e 10º DAI, após incubação, em estufa a 37º C, do intestino delgado seccionado longitudinalmente e raspado em solução salina. A contagem dos ovos foi feita pelo método de Cornell McMaster. Os adultos de *S. mansoni* foram recuperados dos animais necropsiados no 40º, 50º e 60º DAI, através da perfusão do sistema porta-hepático e a contagem dos ovos eliminados nas fezes foi feita pelo método de Kato-Katz. Os vermes adultos de *S. venezuelensis* foram fixados em TAF e os de *S. mansoni* em álcool para estudo morfométrico. Estes vermes foram desenhados em câmara clara e medidos com auxílio de curvímeter e mesa digitalizadora acoplada a microcomputador. No grupo com infecção simultânea (JUNT), observamos uma interação sinérgica. Houve aumento na recuperação de fêmeas de *S. venezuelensis*, que apresentam maior fecundidade e maior eliminação de ovos nas fezes, além da infecção persistir por mais tempo. A carga de vermes de *S. mansoni*, também aumenta, apesar da diminuição na fecundidade das fêmeas e na eliminação de ovos. Nos grupos onde se alternou a infecção prévia de *S. venezuelensis* e *S. mansoni*, (SVSM e SMSV) o parasita inoculado, posteriormente, sofreu efeito desfavorável, com diminuição tanto da carga de vermes como da eliminação de ovos nas fezes. Nestes grupos as fêmeas de *S. venezuelensis* se mostraram mais fecundas que as *S. mansoni* e foram eliminadas precocemente. O parasita inoculado previamente apresentou aumento na carga de vermes, mas diminuição na fecundidade das fêmeas e na eliminação de ovos nas fezes. Quanto a morfometria dos vermes adultos, as variações das medidas observadas foram pequenas, não caracterizando efeito da interação entre parasitas.

## **SUMMARY**

## 8 - SUMMARY

This work is based on parasitological parameters, giving quantitative data about interaction between *Schistosoma mansoni* and *Strongyloides venezuelensis* focusing on poliparasitism. Three experimental groups were formed, replicated three times, in order to obtain a simultaneous infection (group JUNT). Other two groups alternating the previous infection of one of the parasites (SVSM and SMSV groups). Two more groups were formed, one with *S. venezuelensis* (SVSV) infection and other with *S. mansoni* (SMSM) infection. Five experimental groups were composed of 21 animals each, being each replicated composed of 105 individuals, totalizing 315 mice. In each groups, the following parameters were evaluated: number of eggs eliminated in faeces and female fecundity; number of larva and adults recovered in necropsies; morphometry of adult worms. Swiss female mice SPF with approximately 30 days were infected by subcutaneous injection with 100 cercaria of *S. mansoni* and 1300 filariform larvae of *S. venezuelensis*. *S. venezuelensis* larvae were recovered from lungs of necropsied animals in 2<sup>nd</sup> DAI (day after infections), after fragmentation and incubation in incubator, 37° C. The parthenogenetic female were recovered from small intestine sectioned longitudinally of necropsied animals at the 5<sup>th</sup>, 7<sup>th</sup>, 10<sup>th</sup> DAI, after incubation, at 37° C, and scraped in saline solution. The score of eggs eliminated in faeces was done by Kato-Katz method. For morphometric study, the adult worms of *S. venezuelensis* were fixed in TAF and of *S. mansoni* in alcohol. These worms were drawn in camera lucida and measured with curvimeter and digitizing table coupled to a microcomputer. In group with simultaneous infection (JUNT), we observed a synergetic interaction. There was a increase recuperation of *S. venezuelensis* females which showed high fecundity and high rate of egg elimination in addition to the fact that the infection persists for a long time. The worms burden of *S. mansoni* also increased, in spite a decrease of female fecundity and egg elimination. In those groups were an alternation took place the parasite of inoculated latter suffered an unfavourable effect, with decrease both in worm burden and in egg elimination. In these groups, *S. venezuelensis* females were more fertile than *S. mansoni* females and they were precociously eliminated. The parasite previously inoculated showed a increase in worms burden, but a decrease in female fecundity and in egg elimination. In relation to morphometry of adults worms, the observed measurement variations were small, therefore not characterizing interaction effect between the parasites.

## **BIBLIOGRAFIA**

## 9 - BIBLIOGRAFIA

- ABE, T.; YOSHIMURA, K.; NAWA, Y. Transient retention of *S. ratti* in the caecal mucosa during infection in mice. **Immunol. Cell Biology.** v. 71, p. 71-74, 1993.
- ABDEL-WAHAB, MF.; POWERS, KG.; MAHMOUD, SS.; GOOD, WC. Suppression of schistosome granuloma formation by malaria in mice. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 23, p. 915-918, 1974.
- ANDREASSEN, J.; ODAIBO, A. B.; CHRISTENSEN, N. O. Antagonistic effects of *Schistosoma mansoni* on superimposed *Hymenolepis diminuta* and *H. microstoma* infections in mice. **J. Helminthol.** v. 64, p. 337-339, 1990.
- BARBOSA, M. A.; PELLEGRINO, J.; COELHO, P. M. Z.; SAMPAIO, I. B. M. Quantitative aspects of the migration and evolutive asynchronism of *Schistosoma mansoni* in mice. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.** v. 20, n. 3, p. 121-132, maio-junho, 1978.
- BINDSEIL, E. Immunity to *Ascaris suum*. 4. - The effect of different stimulations upon challenge with *Ascaris suum* in mice. **Acta Pathol. Microbiol. Scand.** v. 78, p. 191-195, 1970.
- BORDA, C. E. & PELLEGRINO, J. An improved stool thick-smear technique for quantitative diagnosis of *S. mansoni* infection. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.** v. 13, p. 71-75, 1971a.
- BRUCE, J. I.; PEZZLO, F.; YAJIMA, Y.; McCARTHY, J. E. *Schistosoma mansoni*: Pulmonary phase of schistosomula migration studied by electron microscopy. **Exp. Parasitol.** v. 35, p. 150-160, 1974.
- BUCK, AA.; ANDERSON, RI.; MACRAE, AA.; FAIN, A. Epidemiology of poly-parasitism. I. Ocorrence, frequency and distribution of multiple infections in rural communities in Chad, Peru, Afghanistan and Zaire. **Trop. Med. Parasitol.** v. 29, p. 61-70, 1978a.
- BUCK, AA.; ANDERSON, RI.; MACRAE, AA.; FAIN, A. Epidemiology of poly-parasitism. II. Types of combinations, relative frequency and associations of multiple infections. **Trop. Med. Parasitol.** v. 29, p. 137-144, 1978b.

- CASTILHO, V. L. P.; GUIZELINI, E.; TURRI, E. S.; CAMPOS, R.; NETO, V. A.; MOREIRA, A. A. B.; PINTO, P. L. S. Exame parasitológico quantitativo das fezes: estudo comparativo entre os métodos de McMaster, Stoll-Hausheer e Kato-Katz. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 17, OUT-DEZ, p. 209-212, 1984.
- CHAIA, G.; CHAIA, A. B. P.; McAULLIFE, J.; KATZ, N.; GASPER, D. Coprological diagnosis of schistosomiasis. II - Comparative study of quantitative methods. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.** v. 10, p. 349-353, 1968.
- CHAMONE, M.; MARQUES, C. A.; OLIVEIRA, L. A. - Does ancylostomiasis favour the intensity of *S. mansoni* infections ? **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 80, n. 6, p. 1005-1006, 1986.
- CHAMONE, M.; MARQUES, C. A.; ATUNCAR, G. S.; PEREIRA, A. L. A.; PEREIRA, L. H. Are there interactions between schistosoma and intestinal nematodes ? **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 84, n. 4, p. 557-558, 1990.
- CHEEVER, A. W.; MOSIMANN, J. E.; DEB, S.; CHEEVER, E. A.; DURVALL, R. Natural history of *S. mansoni* infection in mice: egg production, eggs passage in the feces, and contribution of host and parasite death to changes in worm numbers. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 50, n. 3, p. 269-280, 1994a.
- CHEEVER, A. W.; MACEDONIA, J. G.; MOSIMANN, J. E.; CHEEVER, E. A. Kinetics of egg production and egg excretion by *S. mansoni* and *S. japonicum* in mice infected with a single pair of worms. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 50, n. 3, 1994b.
- CHIEFFI, P. P.; MARQUES, R. M.; SIQUEIRA, J. G. V. "Avaliação da eficácia do método de Kato-Katz no diagnóstico parasitológico da esquistossomose mansônica." **Rev. Inst. Adolfo Lutz.** v. 41, n. 1, p. 23-30, 1981.
- CHRISTENSEN, N. O.; NYDAL, R.; FRANDBSEN, F.; NANSEN, P. Homologous immunotolerance and decrease resistance to *S. mansoni* in *Echinostoma revolutum* - infected mice. **J. of Parasitol.** v. 67, n. 2, p. 164-166, 1981.
- CHRISTENSEN, N. O.; KNUDSEN, J.; FAGBEMI, B.; NANSEN, P. Impairment of primary expulsion of *Echinostoma revolutum* in mice concurrently infected with *S. mansoni*. **J. of Helminthol.** v. 59, p. 333-335, 1985.

- CHRISTENSEN, N. O.; NANSEN, P.; FAGBEMI, B.; MONRAD, J. Heterologous antagonistic and synergistic interaction between helminths and between helminths and protozoans in concurrent experimental infections of mammalian hosts. **Parasitol. Res.** v. 73, p. 387-410, 1987.
- CLEGG, J. A. & SMITHERS, S. R. Death of schistosome cercariae during penetration of the skin. II. Penetration of mammalian skin by *Schistosoma mansoni*. **Parasitol.** v. 58, p. 111-28, 1968.
- COOK, G. C. - Gastrointestinal helminths infections: the clinical significance of gastrointestinal helminths - a review. **Trans. R. Soc. Trop. Med. and Hyg.**, v. 80, n. 5, p. 675-685, 1986.
- COOPER, E. - Intestinal parasitoses and the modern description of diseases of poverty. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 85, n. 2, p. 168-170, 1991.
- CORREA, D. A. N. "Aspectos da biologia do *Strongyloides venezuelensis*, Brumpt, 1934 e de *Strongyloides* isolados de roedores silvestres em infecções de camundongos Swiss". São Paulo. 167pp. Dissertação de Mestrado - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 1990.
- CORRÊA, L. L.; SILVA, M. I. P. G.; SILVA, R. M.; DIAS, D. M. D. *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*: diagnóstico diferencial das larvas infectantes e prevalência em amostras fecais provenientes da grande São Paulo. **Rev. Inst. Adolfo Lutz.** v. 39, p. 145-153, 1979.
- CORREA-OLIVEIRA, R.; DUSSE, L. M. S.; VIANA, I. R. C.; COLLEY, D. G.; CARVALHO, O. S.; GAZZINELLI, G. Human antibody responses against schistosomal antigens. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 38, n. 2, p. 348-355, 1988.
- CROMPTON, D. W. T.; NESHEIM, N. C.; PAWLOWSKI, Z. S. *Ascaris* and prevention and control, London: Taylor & Francis, 1989.
- DAWKINS, H. J. S.; GROVE, D. I.; DUNSMORE, J. D.; MITCHELL, G. F. - *Strongyloides ratti*: Susceptibility to infection and resistance to reinfection in strains of mice as assessed by excretion of larvae. **Int. J. Parasitol.** v. 10, p. 125-129, 1980.



- DAWKINS, H. J. S. - *Strongyloides ratti* infection in rodents: value and limitations as a model for human Strongyloidiasis. In: GROVE, D. I. - Strongyloidiasis a major roundworm infection of man. Taylor & Francis, vii+336pp, 1989.
- DEAN, D. A. A Review: Schistosoma and Related Genera: Acquired Resistance in Mice. **Exp. Parasitol.** v. 55, p. 1-104, 1983.
- DEAN, D. A.; MANGOLD, B. L.; GEORGI, J. R.; JACCOBSON, R. H. Comparison of *Schistosoma mansoni* patterns in normal and irradiated cercaria - immunized mice by means of autoradiographic analysis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 33, n. 1, p. 89-96, 1984.
- DEAN, D. A. & MANGOLD, B. L. Evidence that both normal and immune elimination of *S. mansoni* take place at the lung stage of migration prior to parasite death. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 47, n. 2, p. 238-248, 1992.
- DOUCE, R. W.; BROWN, A. E.; KHAMBOONRUANG, C.; WALZER, P. D.; GENTA, R. M. "Seroepidemiology of Strongyloidiasis in a Thai village". **Int. J. Parasitol.** v. 17, n. 7, p. 1343-1348, 1987.
- EVELAND, L. K.; HSÜ, SYL.; HSÜ, HF. Cross immunity of *Schistosoma japonicum*, *S. mansoni* and *S. bovis* in rhesus monkeys. **J. Parasitol.** v. 55, p. 279-288, 1969.
- FORRESTER, J. E.; SCOTT, M. E.; BUNDY, D. A. P.; GOLDEN, M. N. H. - Clustering of *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* infections in households. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 82, n. 2, p. 282-288, 1988.
- GENARO, O.; BRENER, Z. & COELHO, P. M. Z. *Schistosoma mansoni*: Immunodepression of hepatic schistosome granuloma formation in mice infected by *Trypanosoma cruzi*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 19, n. 1, p. 35, 1986.
- GENTA, R. M.; GROVE, D. I. - *Strongyloides stercoralis* infection in animals. In: GROVE, D. I. - Strongyloidiasis a major roundworm infection of man. Taylor & Francis, vii+336pp, 1989.
- GEORGI, J. R. & SPRINKLE, C. L. A case of human strongyloidiasis apparently contracted from asymptomatic colony dogs. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 23, p. 899-901, 1974.

- GRYSEELS, B. - The epidemiology of schistosomiasis in Burundi and its consequences for control. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 85, n. 5, p. 626-633, 1991.
- GUYATT, H. L. & BUNDY, D. A. P. Estimating prevalence of community morbidity due to intestinal helminths: prevalence of infection as an indicator of the prevalence of disease. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 85, p.778-782, 1991.
- HASEGAWA, H.; ORIDO, Y. ; SATO, Y.: OTSURU, M. *Strongyloides venezuelensis* Brumpt., 1934 (Nematoda: Strongyloididae) collected from *Rattus norvegicus* in Naha, Okinawa, Japan. **Jan. J. Parasitol.** v. 37, p. 429-434, 1988.
- HILLYER, G. U. Induction of immunity in mice to *Fasciola hepatica* with the *Fasciola/Schistosoma* cross-reactive defined immunity antigen. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 34, p. 1127-1131, 1985.
- HOLMES, JC. Site selection by parasitic helminths: interspecific interactions, site segregation, and their importance to the development of helminth communities. **Can. J. Zool.** v. 51, p. 333-347, 1973.
- HSÜ, SYL.; HSÜ, HF. A chimpanzee naturally infected with *Schistosoma mansoni*: its resistance against a challenge infections of *S. japonicum*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 62, p. 901, 1968.
- HUNTER, G. W.; WEINMANN, C. J.; HOFFMANN, R. G. Studies on Schistosomiasis. XVII Non-Reciprocal Acquired Resistance between *S. mansoni* and *Schistosomatium douthitti* in Mice. **Exp. Parasitol.** v. 11, p. 133-140, 1961.
- ISHIKAWA, N.; HORII, Y.; OINUMA, T.; SUGANUMA, T.; NAWA, Y. Goblet cell mucins as the selective barrier for the intestinal helminths: T-cell-independent alteration of goblet cell mucins by immunologically "damaged" *N. brasiliensis* worms and its significance on the challenge infection with homologous and heterologous parasites. **Immunol.** v. 81, p. 480-486, 1994.
- JASKOSKI, B.; BARR, V.; BORGES, M. Intestinal parasites of well-cared-for-dogs: an area revisited. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 31, p. 1107-1110, 1982.

- KATZ, N.; COELHO, P. M.; PELLEGRINO, J. Evaluation of Kato's quantitative method through the recovery of *S. mansoni* eggs added to human feces. **J. Parasitol.** v. 56, p. 1032-1033, 1970.
- KATZ, N.; CHAVES, A. & PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick smear technique in *schistosomiasis mansoni*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.** v. 14, p. 397-450, 1972.
- KLOETZEL, K.; FALEIROS, J. J.; MENDES, S. R. "Concurrent infection of white mice with *T. cruzi* and *S. mansoni*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 65, n. 4, p. 530-531, 1971.
- KLOETZEL, K.; FALEIROS, J. J.; MENDES, S. R.; STANLEY, C. T.; ARIAS, H. S. "Concomitant infection of albino mice by *T. cruzi* and *S. mansoni*. Parasitological parameters." **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 67, n. 5, p. 652-658, 1973.
- KLOETZEL, K.; CHIEFFI, P. P.; FALEIROS, J. J.; MERLUZZI FILHO, T. J. Mortality and other parameters of concomitant infections in albino mice: the *Schistosoma-Toxoplasma* model. **Trop. Geog. Med.** v. 29, p. 407-410, 1977.
- KOJIMA, S.; YAMAMOTO, N.; KANAZAWA, T.; OVARY, Z. Monoclonal IgE-dependent eosinophil cytotoxicity to haptenated schistosmula of *Schistosoma japonicum*: enhancement of the cytotoxicity and expression of gc receptors for IgE by *Nippostrongylus brasiliensis* infection. **J. Immunol.** v. 134, p. 2719-2722, 1985a.
- KONINKX, J. M. V. M.; MIRCK, M. H.; HENDRIKS, H. G. C. J. M.; MOUWEN, J. M. V. M.; VAN DIK, J. E. - *Nippostrongylus brasiliensis*: Histochemical Changes in the Composition of Mucins in Goblet Cells during infection in Rats. **Exp. Parasitol.** v. 65, n. 1, p. 84-90, 1988.
- LARSH, J. E. Parasitological Review: Allergia inflammation A Review. **Exp. Parasitol.** v. 37, p. 251-266, 1975.
- LAWSON, B. W. L.; BICKLE, Q. D.; TAYLOR, M. G. Mechanisms involved in the loss of antibody-schistosomula of *S. mansoni* in vitro. **Parasitol.** v. 106, p. 463-469, 1993.
- LWIN, M.; LAST, C.; TARGETT GATT, DOENHOFF, M. J. Infection of mice concurrently with *Schistosoma mansoni* and rodent malaras: contrasting effects of patent *S. mansoni* infections on *Plasmodium chabaudi*, *P. yohii* and *P. berghei*. **Ann. Trop. Med. Parasitol.** v. 76, p. 265-273, 1982.

- MAHMOUD, A. A. F.; STRICKLAND, G. T.; WARREN, K. S. Toxoplasmosis and the host-parasite relationship in murine schistosomiasis mansoni. **J. Infect. Dis.** v. 135, p. 408-413, 1977.
- MALEK, E. A. "Heterologous Immunity Against *S. mansoni* in Mice by Administration of *Heterobilharzia americana*". **Parasitol. Res. Z. Parasitenkunde.** v. 65, n. 2, p. 137-142, 1981.
- MANSOUR, N. S.; SOLIMAN, G. N.; EL-ASSAL, F. M. "Studies on experimental mixed infections of *S. mansoni* and *S. haematobium* in hamsters". **Parasitol. Res. Z. Parasitenkunde.** v. 70, n. 3, p. 345-357, 1984.
- MARÇAL JÚNIOR, O.; HOTTA, L. K.; PATUCCI, R. M. J.; GLASSER, C. M.; DIAS, L. C. S. *Schistosomiasis mansoni* in an area of low transmission. II. Risk factors for infection. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.** v. 35, n. 4, p. 331-335, julho-agosto, 1993.
- MARTIN, L. K. & BEAVER, P. C. Evaluation of Kato thick-smear technique for quantitative diagnosis of helminth infections. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 17, p. 382-391, 1968.
- McLAREN, D. J.; PEARCE, E. J.; SMITHERS, S. R. Site potential for challenge attrition in mice, rats and guinea pigs vaccinated with irradiated cercaria of *Schistosoma mansoni*. **Parasite Immunol.** v. 7, p. 29-44, 1985.
- McLAREN, D. J.; ROGERS, M. V. *Schistosoma mansoni*: liver phase challenge attrition is a stage-dependent phenomenon in guinea-pigs vaccinated with highly irradiated cercariae. **Parasite Immunol.** v. 8, p. 307-318, 1986.
- McLAREN, D. J.; STRATH, M.; SMITHERS, S. R. *Schistosoma mansoni*: evidence that immunity in vaccinated and chronically infected CBA/Ca mice is sensitive to treatment with a monoclonal antibody that depletes cutaneous effector cells. **Parasite Immunol.** v. 9, p. 667-682, 1987.
- MICHAEL, AI.; AWADALLA, HN.; FARAG, HF. Granuloma size in the liver of mice with *Schistosoma haematobium* infection and *Schistosoma mansoni* challenge. **Trop. Med. Parasitol.** v. 30, p. 62-64, 1979.

- MILLER, P. & WILSON, R. A. Migration of the schistosomula of *Schistosoma mansoni* from skin to lungs. **Parasitol.** v. 77, p. 281-302, 1978.
- MILLER, K. L. & SMITHERS, S. R. *Schistosoma mansoni*: the attrition of a challenge infection in mice immunised with highly irradiated live cercariae. **Exp. Parasitol.** v. 50, p. 212, 1980.
- MONRAD, J.; CHRISTENSEN, N. O.; NANSEN, P.; FRANDBSEN, F. Resistance to *F. hepatica* in sheep harbouring primary *S. bovis* infections. **J. Helminthol.** v. 55, p. 261-271, 1981.
- MOQBEL, R. & WAKELIN, D. Trichinella spiralis and S. ratti Immune Interaction in Adult Rats. **Exp. Parasitol.** v. 47, n. 65-72, 1979.
- MOQBEL, R. & WAKELIN, D. Immunity to *S. ratti* in rats. 1 - Adoptive transfer with mesenteric lymphnode cells. **Parasite Immunol.** v. 3, p. 181-189, 1981.
- MOQBEL, R. - helminth - induced intestinal inflammation. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 80, p. 719-727, 1986.
- NAWA, Y.; MIMORI, T.; KORENAGA, M.; TADA, I. Stage-specific cross-resistance between *Nippostrongylus brasiliensis* and *Strongyloides ratti* (Nematoda) in rats. **J. Parasitol.** v. 68, p. 804-808, 1982.
- NAWA, Y. & KORENAGA, M. "Mast and goblet Cell Responses in the Small intestine of Rats concurrently infected with *N. brasiliensis* and *S. ratti*". **J. Parasitol.** v. 69, n. 6, p. 1168-1170, 1983.
- NELSON, G. S.; AMIN, M. A.; SAOUD, M. F. A.; TEESDALE, C. Studies on heterologous immunity in schistosomiasis: 1. Heterologous schistosome immunity in mice. **Bull WHO.** v. 38, p. 9-17, 1968.
- NEWELL, K. W. & NABARRO, D. - Reduced infant mortality: a societal indicator, an emotional imperative, or a health objective? **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 83, n. 1, p. 33-35, 1989.
- NOYA, B. A.; NOYA, O.; BALZAN, C.; CESARI, I. M. New approaches for the control and eradication of SCHISTOSOMIASIS in Venezuela. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** Rio de Janeiro, v. 87, suppl. IV, p. 227-231, 1992.

- PAWLOWSKI, Z. S. Epidemiology prevention and control. **In:** GROVE, D. I. Strongyloidiasis a major roundworm infection of man. Taylor & Francis, vii+336pp, 1989.
- PETERS. W. & GILLES, H. M. A Colours of Tropical Medicine and Parasitology. 2a. ed. London: Wolfe Medical Publications Ltda, 1981 -p.
- PITCHFORD, R. J. Preliminary observations on the distribution, definitive hosts and possible relation with other schistosomes, of *S. margrebowiei*, Le Roux, 1933 and *S. leiperi*, Le Roux, 1955. **J. Helminthol.** v. 50, p. 111-123, 1976.
- PITCHFORD, R. J.; WOLSTENHOLME, B. Further observations on the relationship and distribution of *S. margrebowiei* and *S. leiperi* in central southern Africa. **J. Helminthol.** v. 51, p. 327-336, 1977.
- ROSSI, C. L.; PARTEL, C. D.; TEIXEIRA, A. L. S.; TAKAHASHI, E. E. H.; BARROS-MAZON, S. D.; SILVA, L. J. D. Strongyloidiasis in Campinas city region (BRAZIL). **Trop. Geog. Med.** v. 45, n. 4, p. 189-190, 1993.
- RUGAI, E.; MATTOS, T.; BRISOLA, A. P. Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes - modificação do método de Baermann. **Rev. Inst. Adolfo Lutz.** v. 41, p. 5-8, 1954.
- RUIZ, J. M.; COELHO, E. SCHISTOSSOMOSE EXPERIMENTAL 2. Hermafroditismo do *Schistosoma mansoni* verificado em cobaia. **Mem. Inst. BUTANTAN.** V 24, P. 115-26, 1952.
- SAS INSTITUTE INC. **SAS<sup>®</sup>/ STAT User's guide**. Release 6.03 edition. Cary, NC. 1028p., 1988.
- SATO, Y. & TOMA, H. - Strongyloides venezuelensis infections in mice. **Inter. J. Parasitol.** v. 20, n. 1, p. 57-62, 1990.
- SCHAD, G. A. - Immunity, Competition, and natural regulation of helminth populations. **Am. Naturalist.** v. 100, n. 913, p. 359-363, 1966.
- SCHAD, G. A. & ANDERSON, R. M. - Predisposition to Hookworm infection in Human. **Science.** v. 228, p. 1537 -1540, 1985.
- SCHAD, G. A. - Hooked on Hookworm: 25 years of attachment. **J. Parasitol.** v. 77, n. 2, p. 177-186, 1991.

- SCHELL, S. C. Manual de Laboratório em Parasitologia. Editorial Academia, León, 1969.
- SHORT, R. B. Hermaphrodites in a Puerto Rican strain of *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.** v. 34, p. 240-2, 1948.
- SMITH, M. A.; CLEGG, J. A.; and WEBBE, G. Cross-immunity to *S. mansoni* and *S. haematobium* in the hamster. **Parasitol.** v. 73, p. 53-64, 1976.
- SMITHERS, S. R. & GAMMAGE. The recovery of *Schistosoma mansoni* from the skin, lung and hepatic portal system of naive mice and mice previously exposed to *S. mansoni*. Evidence for two phases of parasite attrition in immune mice. **Parasitol.** v. 80, p. 289, 1980.
- STEPHENSON, L. & HOLLAND, C. The impacts of helminth infections on human nutrition - Schistosomes and soil-transmitted helminths. London: Taylor & Francis, p. 233, 1987.
- TAYLOR, M. G.; JAMES, E. R.; NELSON, G. S.; BICKLE, Q.; ANDREWS, B. J.; DOBINSON, A. R. and WEBBE, G. Immunisation of baboons against *S. mansoni* using irradiated *S. mansoni* cercariae and *Schistosomula* and non-irradiated *S. rodhaini* cercariae. **J. Helminthol.** v. 50, p. 215-221, 1976.
- TEIXEIRA, M. M.; DOENHOFF, M. J.; McNEICE, C.; TIMOTHY, J. W.; HELLEWELL, P. G. Mechanisms of the inflammatory response induced by extracts of *S. mansoni* larvae in Guinea pig skin. **J. Immunol.** v. 151, n. 10, p. 5525-5534, 1993.
- TELLES, E. S. Aspectos imunológicos na infecção múltipla por *Trypanosoma cruzi* e *Schistosoma mansoni* em camundongos (CBA x C57 b1/10)F1. Campinas, SP, 1990 [ Tese de Mestrado-Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas ].
- THEIN-HLAING; THAN-SAW; HTAY-HTAY-AYE; MYINT-LWIN; THEIN - MAUNG- MYINT. - Epidemiology and transmission dynamics of *Ascaris lumbricoides* in Okpo village, rural Burma. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 78, n. 4, p.497-504, 1984.
- TIMOTHY, L. M.; LOULSON, P. S.; BEHNKE, J. M.; WILSON, R. A. Cross-reactivity between *Necator americanus* and *Schistosoma mansoni* in mice. **Int. J. Parasitol.** v. 22, n. 8, p. 1143-1149, 1992.

- TOWNSON, S.; NELSON, G. S.; BIANCO, A. E. Immunity to *Onchocerca linealis* microfilariae in mice: II. Effects of sensitization with a range of heterologous species. **J. Helminthol.** v. 59, p. 337-346, 1985.
- VOGEL, H. Hermaphrodites of *Schistosoma mansoni*. **Ann. Trop. Med. Parasit.** v. 41, p. 266-77, 1947.
- WILKINSON, M. J.; WELLS, C.; BEHNKE, J. M. *Necator americanus* in mouse: histopathological changes associated with the passage of larvae through the lungs of mice exposed to primary and secondary infection. **Parasitol. Res.** v. 76, p. 386-392, 1990.
- WEBBE, G.; JAMES, C.; NELSON, G. S.; ISMAIL, M. M.; SHAW, J. R. "Cross resistance between *S. haematobium* and *S. mansoni* in the baboon". **Trans. R. Trop. Med. Hyg.** v. 73, n. 1, p. 42-54, 1979.
- WHO - **The control of schistosomiasis**, 2<sup>o</sup> report of the WHO Expert Committee, Gênova, 1991.
- YOLLES, T. K.; MOORE, P. V.; DEGENSII, D. L.; RIPSON, C. A. & MELENEY, H. E. A technique for the perfusion of laboratory animals for the recovery of schistosomes. **J. Parasitol.** v. 33, p. 419, 1947.
- ZANOTTI, E. M.; MAGALHÃES, L. A.; PIEDRABUENA, A. E. Morfologia e desenvolvimento de *Schistosoma mansoni*, 1907 em infecções unissexuais experimentalmente produzidas no camundongo. **Rev. Saúde Publ.** São Paulo, v. 16, p. 114-119, 1982a.
- ZANOTTI, E. M.; MAGALHÃES, L. A.; PIEDRABUENA, A. E. - Localização de *Schistosoma mansoni* no plexo porta de *Mus musculus* experimentalmente infectados por um só sexo do trematódeo. **Rev. Saúde Publ., S. Paulo.** v. 16, p. 220-32, 1982b.
- ZANOTTI, E. M.; MAGALHÃES, L. A.; PIEDRABUENA, A. E. Avaliação da patogenicidade decorrente da infecção pelo *Schistosoma mansoni* SAMBON, 1907, agente de infecções unissexuais em *Mus musculus*. **Rev. Saúde Publ. São Paulo.** v. 17, p. 394-405, 1983.