

Este exemplar corresponde a redação final de Tese
defendida pela candidata Luciene de Seto e aprovada pela
Comissão Julgadora

Luciene de Seto

Campinas 27/10/90



COMPORTAMENTO DOS AMEBÓCITOS CIRCULANTES DE MOLUSCOS PLANORBÍDEOS
FRENTE AO PARASITISMO POR LARVAS DE *Schistosoma mansoni*, A
INOCULAÇÃO DE TINTA NANQUIM OU A FRATURA DA CONCHA.

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia, Depto de Microbiologia
e Imunologia da Universidade
Estadual de Campinas, para a
obtenção do grau de Mestre em
Ciências, na área de Imunologia.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Augusto Magalhães

Campinas / SP

1990

Se73c

13292/BC

BIBLIOTECA CENTRAL

Este trabalho foi realizado no
Departamento de Parasitologia do
Instituto de Biologia da Universidade
Estadual de Campinas.

* Não é esta aí, a natureza que eu quis,
Que tomba indefesa, perdendo a beleza,
Trazendo a tristeza, na terra que eu quis.

Não é esta aí a Terra que eu quis,
Desfeita em pedaços por grandes ricos,
Por mãos criminosas do homem que eu fiz.

Não é este aí, o homem que eu quis,
Que vive oprimido, que anda perdido,
Que cai abatido no mundo que eu fiz.

Será que eu falhei? - Me digam vocês!
Será que eu pus muita água no mar?
Será que é o calor do meu sol a queimar?

Se é assim, perdão, eu erre!

Agora eu lhes digo o mundo que eu quis:
As estrelas não brigam, o sol não se afasta,
O mar não sobra na terra que eu fiz.

Agora eu lhes digo a terra que eu quis:
Sem ódio, sem guerra, sem tanta injustiça,
Que ferem meu filho, o homem que eu fiz.

Agora eu lhes digo o homem que quis:
Um homem liberto, fraterno e aberto,
Fazendo da vida um canto feliz.

Será que eu falhei, sendo bom demais?
Será que o Amor, a Justiça e a Paz
Não valem mais nada neste mundo meu?

Se acaso é assim, perdão, eu erre! "

Benedito Prado

DEDICO ESSA TESE

A todos aqueles que lutam pela melhoria
do saneamento básico, da saúde e da
educação no Brasil.

DE MODO ESPECIAL

Aos meus pais, pelo constante apoio e
incentivo.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Augusto Magalhães, pela sua orientação científica e amizade.

Ao Prof. Dr. Marcos Garcia Costa, pelo seu apoio e amizade e principalmente pela sua dedicação e luta pelo recredenciamento do Curso de Pós-Graduação em Imunologia.

As Prof^{as} Dr^{as} Elliana Maria Zanotti Magalhães, Ana Maria Guaraldo e Verônica Sierpe Geraldo pela disponibilidade e prontidão tanto na resolução dos problemas técnicos como nas discussões sobre o trabalho.

A Prof^a Dr^a Marlene T. Ueta, pelas críticas apresentadas, e pelo interesse demonstrado na discussão do trabalho.

A Prof^a Dr^a Leonilda, pela análise crítica e discussão do trabalho.

A todos os funcionários do Departamento de Parasitologia, que direta ou indiretamente colaboraram na realização deste trabalho, por sua disponibilidade e boa vontade durante todas as vezes em que foram solicitados.

Ao Departamento de Parasitologia, pela acolhida e pelo ambiente agradável e propício para a realização de um trabalho de pesquisa.

SUMARIO

	DESCRIÇÃO	página
LISTA DE FIGURAS.....		I - III
1) INTRODUÇÃO.....		1
1.1) CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE OS MOLUSCOS PLANORBÍDEOS.....		1
1.2) COMENTÁRIOS SOBRE A EPIDEMIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONICA.....		2
1.3) DEFINIÇÃO, ORIGEM E FUNÇÃO DOS AMEBOCITOS CIRCULANTES.....		5
1.4) TIPOS DE CELULAS, RECEPTORES E IMPORTANCIA BIOLÓGICA.....		6
1.5) RESISTENCIA E SUSCEPTIBILIDADE A INFECÇÃO POR <i>S.</i> <i>mansoni</i>		11
1.6) FAGOCITOSE E DEGRANULAÇÃO.....		16
1.7) FATORES HUMORAIS.....		22
1.8) CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS (REPARO TECIDUAL).....		25
1.9) OBJETIVOS.....		27
2) MATERIAL E METODOS.....		29
2.1) RESUMO DO PLANO EXPERIMENTAL.....		29
2.2) GRUPOS EXPERIMENTAIS.....		30
2.3) MOLUSCOS E LINHAGENS DE <i>Schistosoma mansoni</i>		31
2.4) OBTENÇÃO DE MIRACÍDIOS DAS LINHAGENS BH e SJ DE <i>Schistosoma mansoni</i> E INFECÇÃO DE MOLUSCOS <i>B. glabrata</i> e <i>B. tenagophila</i>		32
2.5) OBTENÇÃO DA HEMOLINFA DE <i>B. glabrata</i> E <i>B.</i> <i>tenagophila</i>		33
2.6) CONTAGEM DE AMEBOCITOS CIRCULANTES NA HEMOLINFA DE <i>Blomphalaria glabrata</i> E <i>Blomphalaria</i> <i>tenagophila</i> :.....		33
2.7) INOCULAÇÃO DE TINTA NANQUIM EM <i>Blomphalaria</i> <i>glabrata</i> E <i>Blomphalaria tenagophila</i> :.....		34

2.8)	INJEÇÃO SIMULADA EM <i>Biomphalaria glabrata</i> E <i>Biomphalaria tenagophila</i> :	34
2.9)	FRATURA DA CONCHA DE <i>Biomphalaria glabrata</i> e <i>Biomphalaria tenagophila</i> :	35
2.10)	EXAME HISTOPATOLÓGICO DOS MOLUSCOS <i>Biomphalaria glabrata</i> E <i>Biomphalaria tenagophila</i> :	35
2.11)	MICROSCOPIA DE FASE.....	36
2.12)	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
3)	RESULTADOS.....	38
3.1)	AVALIAÇÃO CINÉTICA DO NÚMERO DE AMEBOCITOS CIRCULANTES EM <i>Biomphalaria glabrata</i> E <i>Biomphalaria tenagophila</i>	38
3.2)	CORTES HISTOLÓGICOS.....	49
3.3)	MICROSCOPIA DE FASE.....	57
4)	DISCUSSÃO E CONCLUSÕES.....	65
4.1)	AVALIAÇÃO CINÉTICA DO NÚMERO DE AMEBOCITOS CIRCULANTES EM <i>B. glabrata</i> E <i>B. tenagophila</i>	65
4.1.1)	INFECÇÃO PELO <i>Schistosoma mansoni</i>	65
4.1.2)	REACÇÃO A FRATURA DA CONCHA:.....	67
4.1.3)	REACÇÃO DOS MOLUSCOS PLANORBÍDEOS A INOCULAÇÃO DE TINTA NANQUIM:.....	68
4.1.4)	REACÇÃO DOS MOLUSCOS PLANORBÍDEOS A INJEÇÃO SIMULADA.....	69
4.1.5)	CONCLUSÃO GERAL:.....	69
4.2)	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DAS REACÇÕES TECIDUAIS AO <i>Schistosoma mansoni</i> EM MOLUSCOS PLANORBÍDEOS.....	69
4.3)	MORFOLOGIA DOS AMEBOCITOS CIRCULANTES DE <i>B. glabrata</i> E <i>B. tenagophila</i> :	73
4.4)	RESUMO E CONCLUSÕES.....	76
5)	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
	ERRATA.....	101
	APÊNDICE - TABELAS.....	A1 - A55

LISTA DE FIGURAS

	página
Figura 1.....	41
Dinâmica dos amebócitos circulantes de <i>B. glabrata</i> submetidas à infecção pelo <i>S. mansoni</i> .	
Figura 2.....	42
Dinâmica dos amebócitos circulantes de <i>B. glabrata</i> submetidas à fratura da concha.	
Figura 3.....	43
Dinâmica dos amebócitos circulantes de <i>B. glabrata</i> inoculados com tinta Nanquim.	
Figura 4.....	44
Dinâmica dos amebócitos circulantes de <i>B. glabrata</i> submetidas à injeção simulada de tinta Nanquim.	
Figura 5.....	45
Dinâmica dos amebócitos circulantes de <i>B. tenagophila</i> submetidas à infecção pelo <i>S. mansoni</i> .	
Figura 6.....	46
Dinâmica dos amebócitos circulantes de <i>B. tenagophila</i> submetidas à fratura da concha.	
Figura 7.....	47
Dinâmica dos amebócitos circulantes de <i>B. tenagophila</i> inoculados com tinta Nanquim.	
Figura 8.....	48
Dinâmica dos amebócitos circulantes de <i>B. tenagophila</i> submetidas à injeção simulada de tinta Nanquim.	
Figura 9.....	51
Corte histológico de <i>B. glabrata</i> 2 horas após a infecção pelo <i>S. mansoni</i> .	
Figura 10.....	51
Corte histológico de <i>B. glabrata</i> 2 horas após a infecção pelo <i>S. mansoni</i> .	
Figura 11.....	52
Corte histológico de <i>B. glabrata</i> 10 horas após a infecção pelo <i>S. mansoni</i> .	

Figura 12.....	52
Corte histológico de <i>B. glabrata</i> 18 horas após a infecção pelo <i>S. mansoni</i> .	
Figura 13.....	53
Corte histológico de <i>B. glabrata</i> 24 horas após a infecção pelo <i>S. mansoni</i> .	
Figura 14.....	54
Corte histológico de <i>B. tenagophila</i> 30 minutos após a infecção pelo <i>S. mansoni</i> .	
Figura 15.....	54
Corte histológico de <i>B. tenagophila</i> 2 horas após a infecção pelo <i>S. mansoni</i> .	
Figura 16.....	55
Corte histológico de <i>B. tenagophila</i> 10 horas após a infecção pelo <i>S. mansoni</i> .	
Figura 17.....	55
Corte histológico de <i>B. tenagophila</i> 18 horas após a infecção pelo <i>S. mansoni</i> .	
Figura 18.....	56
Corte histológico de <i>B. tenagophila</i> 24 horas após a infecção pelo <i>S. mansoni</i> .	
Figura 19.....	59
Morfologia dos amebócitos circulantes de <i>B. glabrata</i> não submetidos à infecção pelo <i>S. mansoni</i> , 1:24 minutos após o contato com a lâmina. (microscopia de fase).	
Figura 20.....	59
Morfologia dos amebócitos circulantes de <i>B. glabrata</i> não submetidos à infecção pelo <i>S. mansoni</i> , 5 minutos após o contato com a lâmina. (microscopia de fase).	
Figura 21.....	60
Morfologia dos amebócitos circulantes de <i>B. glabrata</i> não submetidos à infecção pelo <i>S. mansoni</i> , 8:35 minutos após o contato com a lâmina. (microscopia de fase).	
Figura 22.....	60
Morfologia dos amebócitos circulantes de <i>B. glabrata</i> submetidos à infecção pelo <i>S. mansoni</i> , 1:40 minutos após o contato com a lâmina. (microscopia de fase).	
Figura 23.....	61
Morfologia dos amebócitos circulantes de <i>B. glabrata</i> submetidos à infecção pelo <i>S. mansoni</i> , 5 minutos após o contato com a lâmina. (microscopia de fase).	

Figura 24.....	61
Morfologia dos amebócitos circulantes de <i>B. glabrata</i> submetidos à infecção pelo <i>S. mansoni</i> , 8:45 minutos após o contato com a lâmina. (microscopia de fase).	
Figura 25.....	62
Morfologia dos amebócitos circulantes de <i>B. tenagophila</i> submetidos à infecção pelo <i>S. mansoni</i> , 9:37 minutos após o contato com a lâmina. (microscopia de fase).	
Figura 26.....	63
Morfologia dos amebócitos circulantes de <i>B. tenagophila</i> submetidos à infecção pelo <i>S. mansoni</i> , 12 minutos após o contato com a lâmina. (microscopia de fase).	
Figura 27.....	63
Morfologia dos amebócitos circulantes de <i>B. tenagophila</i> submetidos à infecção pelo <i>S. mansoni</i> , 22 minutos após o contato com a lâmina. (microscopia de fase).	
Figura 28.....	64
Morfologia dos amebócitos circulantes de <i>B. tenagophila</i> não submetidos à infecção pelo <i>S. mansoni</i> , 10:55 minutos após o contato com a lâmina. (microscopia de fase).	
Figura 29.....	64
Morfologia dos amebócitos circulantes de <i>B. tenagophila</i> não submetidos à infecção pelo <i>S. mansoni</i> , 12 minutos após o contato com a lâmina. (microscopia de fase).	

1) INTRODUÇÃO

1.1) CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE OS MOLUSCOS PLANORBÍDEOS

Os moluscos hospedeiros intermediários do *S. mansoni* pertencem à classe *Gastropoda*, à ordem *Pulmonata*, e à família *Planorbidae*. Na grande maioria dos planorbídeos, a concha é um cone enrolado em um mesmo plano ao redor de seu próprio ápice. Essa conformação plano-espiralada é resultante de modificações adaptativas sofridas pelo animal.

Nas bionfalárias, bem como em todos os moluscos pulmonados aquáticos típicos, há predominância da respiração atmosférica, adquirida pela adaptação de moluscos branquiados aquáticos ao ambiente terrestre, com perda de brânquias e desenvolvimento de uma cavidade pulmonar. Admite-se que alguns moluscos terrestres tenham regressado ao ambiente aquático, aí mantendo a respiração atmosférica. Entre os descendentes desses moluscos estão os planorbídeos. Além da cavidade pulmonar, o sistema respiratório das bionfalárias inclui as pseudobrânquias. Estes órgãos são altamente vascularizados e são considerados como sede da respiração aquática, não tendo qualquer relação com o aparelho branquial, que desapareceu ao longo da evolução dos pulmonados.

O coração das bionfalárias consta de uma aurícula, que recebe a hemolinfa da veia pulmonar e de um ventrículo, que o impele através da aorta. A aorta se divide em troncos arteriais,

os quais levam a hemolinfa para as vísceras e região céfalo-podal. As contrações da parede do corpo dos moluscos, alterando sua forma, auxiliam na redistribuição da hemolinfa e estimulam sua circulação.

O sangue ou hemolinfa dos moluscos é composto de células em suspensão e de plasma rico em água, cloreto de sódio e bicarbonatos e com reação alcalina (Fischer, 1950). No plasma há um pigmento vermelho denominado hemoglobina, contendo ferro, que permite a utilização do oxigênio dissolvido à baixa tensão, o que torna possível a vida do animal em meios pobres de oxigênio (Lobato Paraense in Sales da Cunha, 1970).

1.2) COMENTARIOS SOBRE A EPIDEMIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONICA

A esquistossomose mansoni é contraída pelo contato com águas que contêm cercárias livres do helminto, através da penetração pela pele. Normalmente são encontradas em águas paradas, poluídas pelas fezes de indivíduos doentes, que permanecem no local na maioria das vezes pela falta de interesse do poder público de investir em saneamento básico e na orientação da população para a construção de latrinas e fossas higiênicas. A esquistossomose, bem como diversas endemias parasitárias pode ser considerada uma doença politico-sócio-econômica, sendo sua ocorrência predominantemente rural, porém na zona urbana a taxa

de aquisição da doença vem se tornando significativa em diversas regiões do Brasil, tais como Belo Horizonte, Aracaju, Macelô, Salvador. O estado de São Paulo recebe constantemente portadores da esquistossomose mansônica de outros estados brasileiros onde a parasitose é endêmica, ou seja, do Nordeste, Minas Gerais e Paraná. A ocorrência da doença é significativa nas seguintes regiões do estado de São Paulo: Vale do Rio Paraíba do Sul, Grande São Paulo, Baixada Santista, Vale do Rio Ribeira do Iguape e Vale do Rio Paranapanema (Coda et. al., 1959; Piza & Ramos, 1960; Almeida Machado, 1982; SUGEN, 1982).

Além dos fatores ambientes e sócio-econômicos, outros fatores podem influir na disseminação e na gravidade da esquistossomose, tais como: a idade, a imunidade do hospedeiro intermediário e do hospedeiro vertebrado, o índice de transmissão da esquistossomose em um determinado local, a linhagem do parasita, sendo que o sexo e a cor não são fatores importantes na aquisição da moléstia. Quanto à idade, a esquistossomose é uma doença predominantemente juvenil, geralmente no adulto é resultante de infecções adquiridas quando jovem. A imunidade dos caramujos hospedeiros de *S. mansoni* é determinante para que haja ou não a conclusão do ciclo de vida do parasita e a imunidade do hospedeiro vertebrado é fundamental para estabelecer o grau de patogenicidade do parasita e da doença. A imunidade de ambos os hospedeiros está sob a influência da constituição genética.

A prevalência da esquistossomose em um determinado local é obtida pelo levantamento das crianças que se mostram infectadas entre três e dez anos, nascidas no local, do qual nunca se afastaram. O alto índice de transmissão pode ser

combatido e diminuído com uma profilaxia adequada, seja pela eliminação de focos próximos de áreas residenciais, pela educação sanitária, orientando as mães sobre o perigo de banhar seus filhos em águas infestadas, orientando e organizando a juventude para que se conscientizem e conscientizem os outros sobre o perigo que representa para a sua saúde o hábito de se banhar em águas paradas e poluídas, orientando também os pais, para que com a ajuda dos órgãos oficiais de controle sanitário, eles mesmo possam fazer o tratamento dos focos peridomiciliares, seja através de moluscocidas ou através da construção de fossas sanitárias, ou que reivindiquem através da organização de núcleos ambientes, a melhoria das condições sanitárias do local, através do tratamento eficiente de água e esgoto.

A responsabilidade de conscientizar a população deveria ser uma das principais metas do governo, desde que pudessemos contar com homens sérios e com pelo menos algum senso de patriotismo. No entanto, parece ser mais cômodo manter essa situação como está, sem abalar as estruturas firmes e sólidas do domínio econômico, e da desigualdade social. Acima de tudo, a tarefa de educadores, cabe a cada um de nós, que acredita na possibilidade de uma transformação e ama seu país, que crê que igualdade social não é só uma ideologia, e que o equilíbrio poderá ser atingido quando cada um fizer pelo menos a sua parte, de cidadãos brasileiros que somos.

1.3) DEFINIÇÃO, ORIGEM E FUNÇÃO DOS AMEBÓCITOS CIRCULANTES

Amebócitos ou hemócitos são células sanguíneas circulantes de invertebrados e de ação fundamental nas funções de defesa, tais como fagocitose ou encapsulação, liberação de substâncias citotóxicas, transporte de cálcio nas situações de reparo tecidual, produção de fator coagulante da hemolinfa (Wagge, 1951; Cheng, 1979; Bayne, 1979 e 1980; Abdul Salam & Michelson, 1980; Sminia et al., 1987).

Segundo Wagge et al., 1955, nos moluscos, os amebócitos seriam originados principalmente no tecido conectivo e camadas epiteliais. Segundo Jeong et al., 1983, os amebócitos seriam originados por um órgão denominado APO (Amebocyte Producing Organ), que é formado por uma espécie de tecido conectivo, localizado na região peropericardial dos moluscos (Fig. 1). Quando este órgão é submetido a diferentes tipos de estímulos, segundo Sullivan et al., 1984, são encontrados dois tipos de resposta, em *B. glabrata*:

1) Quando submetido a material particulado ou solúvel vivos ou mortos, o APO não sofreu alteração significativa, como pode ser verificado pelo índice mitótico.

2) Quando submetido a infecção com parasitas trematódeos verificou-se um aumento da produção de amebócitos pelo órgão.

Segundo Matricón - Gondran et al., 1986, o estado de atividade deste órgão pode ser resultante de interferências dos parasitas trematódeos com o sistema de defesa do caramujo, ou

seja, os parasitas produziriam fatores promotores da divisão celular, que é suspensa com a eliminação do parasita, ou o parasita poderia ser capaz de bloquear a diferenciação celular ou as funções das células maduras. A segunda alternativa foi utilizada para tentar justificar a diversidade da resposta encontrada entre moluscos resistentes e susceptíveis à infecção. Em alguns casos os moluscos susceptíveis apresentaram hipertrofia do APO mas parece ter havido inibição da diferenciação celular.

Os fatores promotores da divisão celular ainda não foram caracterizados bioquimicamente, mas pode-se pensar na possibilidade de estarem contidos entre as frações proteicas isoladas da hemolinfa de *B. glabrata* por Herberts et al., 1986, após ter submetido moluscos resistentes e susceptíveis à infecção por *Schistosoma mansoni*.

1.4) TIPOS DE CELULAS, RECEPTORES E IMPORTANCIA BIOLÓGICA

Segundo Thomas Cheng et al., 1975, existem duas categorias de amebócitos na hemolinfa de *Biomphalaria glabrata*: os granulócitos e os hialinócitos, chamados respectivamente em nosso trabalho de "estrelados" e "não estrelados", devido à sua aparência de célula estrelada, semelhante às células nervosas, e a "não estrelada", sem prolongamentos citoplasmáticos evidentes ao microscópio óptico.

Segundo Jeong et al., 1976, os granulócitos são os

tipos de células mais encontradas em *B. glabrata*, e são altamente fagocíticos "in vitro".

Segundo Sminia et al., 1987, apesar do grande conteúdo de grânulos citoplasmáticos estocados nos lisossomos conferir à célula uma aparência granular, os autores não estão de acordo com a denominação "granulócitos", talvez por induzir a associação direta com os granulócitos de vertebrados.

Gradientes de Percoll descontínuo vem sendo utilizados para a separação de amebócitos de moluscos (ostras), através de sua densidade, por ultracentrifugação (Cheng et al., 1980; Bachere et al., 1987), e posterior identificação dos receptores de superfície das células separadas.

A ontogenia dessas células não está totalmente definida. Não se sabe ao certo se os dois tipos de células já identificados teriam uma origem comum, se uma se transformaria na outra, se as diferenças morfológicas corresponderiam às fases de diferenciação celular, induzida pelo contato com antígenos, ou se as modificações ocorridas teriam influência do microambiente. Morona et al., 1984, estudando a evolução morfológica "in vitro" de amebócitos de *B. glabrata* por microscopia eletrônica de varredura, observou que após o contato com o substrato (laminula de vidro) as modificações morfológicas ocorreriam em quatro etapas, que provavelmente representariam os estágios ontogenéticos dos granulócitos em seu papel na defesa celular contra corpos estranhos.

A identificação dos amebócitos pode ser feita através do reconhecimento de seus receptores de superfície, bem como através de critérios funcionais e morfológicos.

Apesar da aparência de uma população de células homogênea, quando são utilizados critérios morfológicos baseados na habilidade dos amebócitos de aderirem às superfícies de vidro ou plásticas e se espalharem, evidências experimentais tem demonstrado a existência de uma heterogeneidade funcional relacionada à presença de diferentes tipos de receptores de superfície, como por exemplo os receptores de lectina (Renwranz et al., 1977a, em *Helix pomatia*; Schoenberg & Cheng, 1980; Yoshino, 1981; Joky et al., 1983, em *B. glabrata*; e as propriedades de formação de roseta E (eritrócitos) (Renwranz & Cheng, 1977b, em *Helix pomatia*); Van der Knaap & Loker, 1990.

Anticorpos monoclonais vem sendo usados para a identificação de receptores, e podem eventualmente serem utilizados para isolar subpopulações de células funcionalmente diferentes. Yoshino et al., 1985, identificou um epitopo, denominado BGH-1, em hemócitos de *B. glabrata* através de anticorpos monoclonais, verificando que o mesmo estaria relacionado ao funcionamento da célula. Células com epitopo BGH-1 (BGH-1+) apresentaram menor atividade fagocítica e de fosfatase ácida que as células com ausência do epitopo BGH-1 (BGH-1-). Resultados semelhantes foram encontrados por Dikkeboon et. al., 1988, em *Lymnaea stagnalis*, com a utilização de anticorpos monoclonais.

Para a obtenção de informações mais detalhadas sobre o funcionamento das subpopulações de hemócitos, seria ideal a utilização combinada de técnicas imunocitoquímicas usando anticorpos monoclonais com outros métodos de marcação (Ex.:

Ligação de lectina) e testes funcionais (Fagocitose, encapsulação, atividade enzimática), além de métodos de separação de células adequados, como o gradiente utilizado por Bachère et al., 1986.

A importância do estudo dos determinantes de superfície dos amebócitos não está somente na identificação e caracterização dessas células, mas também na interação desses receptores com corpos estranhos. Segundo Sminia et al., 1987, existem fortes evidências de que as interações amebócito - corpo estranho são mediadas por receptores, significando que elas dependem de reações entre componentes de membrana específicos nos hemócitos e nas estruturas moleculares estranhas; tais interações levariam a uma série de eventos intracelulares.

Muitos autores têm demonstrado que amebócitos de moluscos apresentam sítios de ligação de lectina, além de outros determinantes (Schoenberg & Cheng, 1980; Yoshino, 1981, Renwranz & Cheng, 1977a; Sminia et al., 1981). A única exceção, em moluscos, foi encontrada em *Aplysia fasciata* (Gabblinck, 1980).

Segundo Sminia & van der Knaap, 1986, a superfície dos hemócitos de moluscos contém moléculas de lectina que ligam glicocojugados estranhos, e sítios de ligação para lectinas opsonizantes ou aglutinantes humorais. Para estudar a natureza dos sítios de ligação, lectinas heterólogas e autólogas tem sido usadas. Segundo Sminia & van der Knaap, 1987, as lectinas heterólogas, originadas primariamente de plantas, são usadas para estudar: 1) a composição de carboidrato de superfície; sítios de ligação para lectinas com especificidade conhecida foram estudadas por Renwranz et al., 1985; Sminia et al., 1981;

Yoshino, 1983; 2) a plasticidade de membrana, Yoshino, 1982 e Yoshino & Davis, 1983, tem demonstrado os fenômenos de redistribuição, capping, patching e interiorização do receptor ocupado, porém os processos intracelulares merecem maior investigação; 3) O possível papel das lectinas na interação entre hemócitos e corpo estranho, onde as lectinas heterólogas são usadas como modelo; Mullainadhan & Renwranz, 1986, estudaram o reconhecimento de corpos estranhos dependente de lectina pelos hemócitos de *Mytilus edulis*, através de testes de inibição de açúcar, demonstrando que lectinas podem formar pontes entre carboidratos, unindo a célula com a partícula estranha.

Lectinas autólogas estão presentes no plasma da hemolinfa, e também na superfície dos amebócitos, este fato foi demonstrado através da utilização de anticorpos contra lectinas plasmáticas (van der Knaap et al., 1981). O papel das lectinas autólogas vem sendo investigado como moléculas de reconhecimento no plasma e como receptores. Trabalhos com diversos tipos de moluscos tem demonstrado que as lectinas atuam como opsoninas citofílicas ou como receptores integrais, aumentando a adesão e a fagocitose (Vasta et al., 1982; Renwranz & Stahmer, 1983; van der Knaap et al., 1983; Vasta et al., 1984).

Bayne e Stephens, 1983, tem demonstrado que moluscos e parasitas apresentam epitopos comuns (*B. glabrata* e *S. mansoni*), utilizando a reação de anticorpos anti-esporocistos com hemócitos do hospedeiro. O que deve ocorrer talvez seja um mecanismo de escape imunológico, de modo semelhante às doenças virais, os parasitas adquiririam antígenos do hospedeiro, impedindo assim

uma reação citotóxica e/ou humoral contra ele.

Além dos receptores já citados foram verificados determinantes comuns à linfócitos de vertebrados, como Fibronectina e Thy - 1. Sua função ainda não está esclarecida, mas pode ser um modelo experimental muito importante para o estudo da ontogenia e da filogenia da resposta imune (Yoshino, 1983; Shalev et al., 1985). Desde que Thy - 1 é estruturalmente relacionado à imunoglobulina, a presença dessa ou de moléculas similares sugerem um reconhecimento celular primitivo (Cooper, 1985).

1.5) RESISTENCIA E SUSCEPTIBILIDADE A INFECÇÃO POR *S. mansoni*

Moluscos vetores da esquistossomose no Brasil, *Biomphalaria glabrata* e *Biomphalaria tenagophila* apresentam comportamentos diferentes frente à infecção pelas cepas simpátricas de *S. mansoni*. Esta diferença tem como principal fator a herança genética, que os predetermina à susceptibilidade ou resistência à infecção.

Segundo Richards, 1973, as variações na infectividade de *B. glabrata* por *S. mansoni* são devidos à um único gene dominante. Além disso, outros fatores podem influenciar na susceptibilidade ou resistência, tais como a linhagem do parasita (Paraense & Correa, 1963a; Paraense & Correa, 1963b; Magalhães, L.A., 1970; Paraense & Correa, 1978; Souza Dias et al., 1987), a idade do hospedeiro (Richards, 1984) e a presença de infecção

simultânea com outros parasitas (Lie et al., 1977; Lie et al., 1978; Lie et al., 1981; Loker et al., 1986; Machado et al., 1988; Noda & Loker, 1989), além das condições do ambiente.

Muitos trabalhos vem sendo realizados visando maior esclarecimento da importância da genética do hospedeiro e do trematódeo.

O fenômeno da resistência adquirida vem sendo muito investigado na relação parasita - molusco vetor. Lie et al., 1975; Sullivan et al., 1982, demonstraram a ocorrência do fenômeno em *B. glabrata*, para várias espécies de trematódeos.

Bayne et al., 1980 a e b; Loker & Bayne, 1982, tem demonstrado que a incubação de hemócitos da linhagem susceptível de caramujos (PR - albinos) com soro de caramujos resistentes (10 R - 2) aumenta a capacidade das células de encapsular e fagocitar esporocistos de *S. mansoni*, tendo ocorrido, portanto, a transferência da resistência.

Granath e Yoshino, 1984, na tentativa de elucidar a possível ocorrência do fenômeno "in vivo", estudaram a transferência passiva da resistência ao *S. mansoni*, através do soro de caramujos 10 R - 2 (resistentes) para caramujos PR - albinos (susceptíveis), examinando a especificidade da resistência induzida e investigando o possível papel da aquisição de antígenos séricos pelos esporocistos na modulação da resistência ou susceptibilidade em *B. glabrata*. Verificou-se que mais de 60 % da linhagem susceptível que havia recebido soro de caramujos resistentes, adquiriu proteção contra a infecção primária pelo parasita, enquanto que caramujos que receberam soro

da linhagem PR - albino (susceptível) apresentaram uma taxa de infecção próxima de 100 %. A proteção foi induzida 24 hs antes ou 24 hs depois da exposição aos miracidios, e era destruída pelo aquecimento do soro 10 R - 2 a 70 °C por 30 minutos. No entanto, quando esporocistos transformados "in vitro" eram pré-incubados em soro 10 R - 2 ou PR - albino e injetados em caramujos susceptíveis era obtido uma taxa de infecção de 88,5 e 83,3 % respectivamente; tais diferenças experimentais impossibilitam uma comparação direta dos resultados obtidos "in vitro" com os resultados obtidos "in vivo". Os autores sugerem a presença de um fator sérico sensível ao calor (lábil) em 10 R - 2, que ativaria especificamente hemócitos à encapsulação e a destruição dos esporocistos, o qual estaria ausente no soro de caramujos da linhagem PR - albino (Susceptível).

Discute-se a possibilidade de que a aquisição de antígenos do hospedeiro poderia mascarar o parasita, tornando-o imperceptível ao sistema de defesa do caramujo (Stein & Basch, 1979), o que não justificaria os resultados obtidos, desde que esporocistos pré-incubados em soro de *B. glabrata* susceptível não adquiriram resistência à morte provocada por hemócitos após injeção no caramujo resistente.

Lo Verde et al., 1982, verificaram em caramujos *B. glabrata* "inbred" que os amebócitos parecem reagir contra os próprios tecidos dos moluscos ("self"), observado através da formação de acumulos amebocitários infiltrado em torno do miocárdio, resultando na destruição do músculo cardíaco. Segundo os autores, tanto a formação de agrupamentos amebocíticos (Richards, 1980) quanto a possível reação contra os próprios

tecidos do molusco parece estar sob controle poligênico, bem como o tempo de aparecimento e a localização anatômica. São levantadas três hipóteses para explicar os resultados obtidos: 1) Amebócitos poderiam discriminar não somente entre "self - non self", mas também entre componentes "self" funcionais e os que são lesionados. Como as linhagens de caramujos são altamente "inbred", um defeito poderia levar à lesão do tecido do coração. Por outro lado, uma aberração genética poderia levar a um nível patológico da hemopoiese, interferindo no funcionamento do coração e causando necrose local; 2) O aparecimento de um antígeno sequestrado ou Ag de superfície alterado no tecido do coração poderia resultar no seu reconhecimento como "non self"; 3) Um defeito nos mecanismos onde está envolvida a transferase ou glicosilação poderia induzir os amebócitos a reconhecerem como "non self" seus próprios elementos. As glicosil-transferases são usadas na síntese de cadeias laterais dos carboidratos, sendo que cada uma delas possui uma especificidade por um resíduo de açúcar, atuando como subunidades do fator de reconhecimento, sendo secretadas por amebócitos. Normalmente, os fatores de reconhecimento não reagem contra o próprio amebócito porque os açúcares próprios são bloqueados por glicosilação. Uma vez ativados, os amebócitos podem funcionar como macrófagos ativados de vertebrados, e são capazes de efeito citotóxico inespecífico.

Zanotti-Magalhães et al., 1967, com o objetivo de verificarem a existência de uma possível relação entre o grau de susceptibilidade do molusco vetor e a patogenia no hospedeiro vertebrado, selecionaram por autofecundação *B. glabrata* e *B.*

tenagophila segundo o carácter de susceptibilidade à infecção pelas linhagens BH e SJ de *S. mansoni* respectivamente. Do mesmo modo foram também seleccionados estes trematódeos, oriundos de passagens sucessivas nos moluscos autofecundados. Verificaram em *B. tenagophila* uma estreita correlação entre as taxas de susceptibilidade à infecção encontrados em cada geração do molusco, e as taxas de mortalidade apresentadas pelos grupos de camundongos infectados com cercárias provenientes de cada uma dessas gerações de moluscos. Isto sugere que a patogenicidade no hospedeiro vertebrado esteja diretamente relacionada ao grau de susceptibilidade do molusco, ou seja, que os vermes que sofrem menor agressão dos amebócitos são mais nocivos e patogênicos ao hospedeiro definitivo. Verificaram também que possivelmente o *S. mansoni* deve agir através de outros mecanismos de agressão, visto que a taxa de granulomas hepáticos não correspondeu à taxa de mortalidade do hospedeiro vertebrado. Verificaram ainda um aumento da resistência à infecção ao miracidio proveniente da geração F-3, pelas gerações seleccionadas F-4 de *B. glabrata* e *B. tenagophila*. O mesmo não ocorreu com a utilização de miracidios não seleccionados, sugerindo que os vermes seleccionados adquirem estrutura antigênica capaz de despertar os mecanismos de defesa do molusco, ou seja, os vermes perderiam sua condição primitiva para o qual os moluscos foram seleccionados. Nenhuma correlação foi obtida entre os parâmetros estudados, na linhagem BH mantida em *B. glabrata*. Isto sugere que a relação entre este hospedeiro e o parasita alcançou um tal nível de adaptação, que as variações de comportamento do verme não chegaram a alterar o equilíbrio da interação.

1.6) FAGOCITOSE E DEGRANULAÇÃO

A fagocitose é um fenômeno de ampla ocorrência no reino animal, com função nutricional nos invertebrados inferiores, como nos acelomados, e ao longo da evolução vem se aperfeiçoando como um mecanismo de defesa nos invertebrados superiores e vertebrados.

De um modo geral, os moluscos possuem uma resistência inata bem desenvolvida, devido aos amebócitos circulantes e aos componentes do plasma. A fagocitose é a primeira linha de defesa dos invertebrados, juntamente aos fatores humorais (Ratcliffe, N.A., 1985). Os fagócitos de invertebrados são muito semelhantes aos macrófagos de vertebrados e são capazes de ingerir vírus, bactérias, protozoários e fungos "in vitro", bem como material inerte, como tinta Nanquim e partículas de talco.

Como nos vertebrados, o primeiro passo para a ocorrência da fagocitose em invertebrados é o reconhecimento do material estranho. Segundo Jourdane & Cheng, 1987, o processo de encapsulação frente a materiais muito grandes para a fagocitose ocorre em duas fases: 1) Atração de hemócitos por quimiotaxia (principalmente granulócitos) ao local, mediado por sinal químico emitido pelo corpo estranho; 2) Secreção de moléculas, provavelmente enzimas lisossomais pelos hemócitos, atraindo novo fluxo de células.

Em trabalho posterior, Cheng & Jourdane, 1987, procurando elucidar como ocorreria o reconhecimento "self - non self" dos moluscos concluíram que a *B. glabrata* brasileira é

capaz de distinguir isoenxertos heterotrópicos de aloenxertos e que no caso de isoenxertos ocorre somente a primeira etapa do processo de encapsulação (reação às células da superfície danificada), enquanto nos aloenxertos ocorrem duas etapas.

Segundo Ratcliffe, 1985, as fases do processo quimiotático e a ligação à membrana consiste de um estágio de reconhecimento comum a todos processos de defesa celular em moluscos, anelídeos e insetos. Materiais de tamanho muito grande para serem fagocitados são sequestrados por agregados de células, muito semelhantes aos granulomas de mamíferos.

Evidências experimentais foram obtidas por Guaraldo et al., 1981, ao estudar a evolução dos esporocistos de *S. mansoni* em *B. glabrata* e *B. tenagophila*, observando esporocistos primários íntegros, com ausência de infiltração de amebócitos em torno da larva e esporocistos primários degenerados, que apresentavam na sua maioria núcleo picnótico, citoplasma eosinofílico e os grânulos citoplasmáticos com tendência à um agrupamento. Em torno da larva, os amebócitos formavam uma típica reação granulomatosa, concentrando-se em grande número, isolando-a praticamente do tecido adjacente.

Evidências experimentais têm demonstrado que a infecção por *S. mansoni* induz alterações nas células da hemolinfa e no plasma dos moluscos vetores. Malek & Cheng, 1974, estudando *B. glabrata* infectada experimentalmente com *S. mansoni* verificaram alterações histopatológicas, fisiológicas e bioquímicas na hemolinfa dos moluscos. Pan, 1963 e 1965, ao investigar possíveis alterações histopatológicas em *B. glabrata* infectadas com *S.*

mansonii observou alterações drásticas, mediadas principalmente por amebócitos durante a migração e eliminação de cercárias do hospedeiro.

Abdul-Salam & Michelson, 1980 a e b, verificaram alterações no comportamento dos amebócitos, após a quarta semana de infecção, em *B. glabrata*: 1) Alteração na morfologia dos amebócitos individuais, o que parece ser decorrente do aumento da habilidade de espralamento e aderência ao vidro; 2) Formação de agregados em torno das substâncias extracelulares; 3) Inibição significativa da taxa de fagocitose, verificado através da redução da habilidade de fagocitose de hemáceas de carneiro pelos amebócitos; 4) aumento do número de amebócitos na hemolinfa. Como podemos notar, as alterações funcionais e de comportamento verificadas nos amebócitos dos moluscos infectados, são análogas às alterações associadas com a ativação dos macrófagos de vertebrados.

Santana et al., 1985, analisando a resposta fagocitária "in vitro" de células da hemolinfa de moluscos *B. glabrata* infectadas experimentalmente com a linhagem BH (mineira) e na ausência de infecção, obteve índice de fagocitose de 43 % nos moluscos não infectados e 57 a 75 % nos moluscos submetidos à infecção, na primeira e quarta semanas após exposição aos miracidios.

Os mecanismos de destruição por fagocitose ou por agregados de células ainda não estão bem esclarecidos.

Muitos trabalhos vêm sendo realizados na tentativa de elucidar quais seriam os caminhos e os mediadores que levariam à degeneração e/ou à eliminação de um corpo estranho, seja um

parasita ou qualquer material reconhecido como "non self".

Os hemócitos de moluscos possuem um extenso sistema lisossomal que cliva o material ingerido (Cheng, 1975). Segundo Cheng et al., 1985, os amebócitos, principalmente os granulócitos, chamados em nosso trabalho de "estrelados", representam o maior sítio de enzimas lisossomais. Tais enzimas hidrolíticas consistem de fosfatases ácidas e alcalinas, lisosimas e esterases não específicas, que são estocadas em grânulos citoplasmáticos, nos lisossomos (Sminia & Van der Knaap, 1987).

Em condições normais as hidrolases permanecem dentro da membrana lisossomal, no entanto quando entra em contato com material estranho (biótico ou abiótico) a taxa de síntese das enzimas pelos hemócitos aumenta, os lisossomos se desestabilizam e as enzimas são liberadas por degranulação (Cheng et al., 1975, 1977; Cheng & Yoshino, 1976 a e b; Foley & Cheng, 1977). As funções dessas enzimas seriam provavelmente a morte e a lise dos materiais englobados; embora até então não tenha havido uma evidência experimental, alguns resultados, tais como a liberação do conteúdo dos grânulos nos fagossomos após a endocitose sugerem fortemente essa possibilidade (Foley & Cheng, 1977; Moore et al., 1985). Além disso foi verificado que o pH nos fagossomos de *Mytilus edulis* (4,5 - 5,0) é correspondente ao pH ótimo para a ativação das enzimas lisossomais (Dageforde et al., 1986).

Segundo Cheng, 1983b e c, o processo de degranulação ocorreria através de uma sinalização via membrana, e existiriam pelo menos três sítios no qual os antígenos poderiam ser

reconhecidos: 1) a membrana celular; 2) a membrana nuclear e 3) as membranas lisossomais. O processo teria seu início quando um sinal químico, tal como uma molécula associada à superfície de uma bactéria, se liga com o sítio de reconhecimento da membrana celular, enviando um mensageiro para transmissão no citoplasma. Começariam então os eventos intranucleares, que levariam à síntese de enzimas lisossomais nos ribossomos na sequência DNA - mRNA - tRNA. As enzimas seriam estocadas pelo complexo de Golgi em lisossomos. A ativação das membranas lisossomais levariam à migração dos lisossomos à superfície celular e posterior extrusão de grânulos.

Um dos mecanismos imunes utilizados pelas células fagocíticas dos mamíferos consiste no sistema de produção de metabólitos de oxigênio, tais como o ânion superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o oxigênio simples (O_2) e radicais hidroxila (OH) e a estimulação do desvio de hexose monofosfato (Babior, 1978). Tal sistema é chamado de "burst respiratório".

Os radicais gerados no "burst" são altamente reativos e potencialmente tóxicos, podendo participar no processo de inflamação (Fridowich, 1978; Nathan et al., 1980) e na destruição de microorganismos (vírus, bactérias, parasitas) (Babior, 1978) e células tumorais (Clark e Szot, 1981). Além disso, a participação de H_2O_2 no sistema halide - H_2O_2 - Mieloperoxidase pode ainda aumentar o potencial letal ou de degeneração (Klebanoff, 1970).

Muitos trabalhos vem sendo realizados visando a investigação da produção das formas reativas de oxigênio pelas células sanguíneas de invertebrados, e os resultados encontrados são controversos. Anderson et al., 1973, estudando artrópodos e

Cheng, 1976 a e b, estudando moluscos, concluíram que os hemócitos não produziram formas reativas de oxigênio e provavelmente contariam com outros mecanismos líticos independentes de oxigênio.

Recentemente, Shozawa, 1986, demonstrou a produção de superóxido por hemócitos do molusco *B. glabrata*. O mesmo foi verificado no caramujo *Lymnaea stagnalis* pelos hemócitos das espécies adultas (Dikkeboom et al., 1987). A produção do ânion superóxido pelas células desses moluscos foi constatada pela quimioluminescência dependente de luminol e pelas reações histoquímicas positivas, que demonstram a presença de superóxido e peróxido de hidrogênio.

Segundo Dikkeboom et al., 1988 b, a liberação de metabólitos de oxigênio pode ser um mecanismo pelo qual as células sanguíneas de caramujos matam parasitas metazoários. Uma falha dos hemócitos em produzir metabólitos poderia ser um dos fatores que determinam a susceptibilidade a um digenético. Em seu trabalho mais recente, Dikkeboom et al., 1988 b, verificaram não haver diferença significativa na produção de metabólitos de oxigênio entre moluscos *B. glabrata* susceptíveis e resistentes, tendo obtido resultado positivo semelhante na redução do Tetrazolium nitro blue (NBT) pelo ânion peróxido gerado pelo sistema estudado, e um resultado negativo na quimioluminescência dependente de luminol, o que foi atribuído à presença de hemoglobina que absorveria a luz emitida.

Ficou claro com os trabalhos já realizados que as células em fagocitose dos moluscos: *Lymnaea stagnalis*,

Blomphalaria glabrata, *Planorbarius corneus* e *Helix aspersa* e do molusco bivalvo *Patinopecten yessoensis* produzem formas reativas de oxigênio após estimulação com material estranho (Dikkeboom et al., 1987; Shozawa, 1986; Nakamura et al., 1985, respectivamente). O mesmo fenômeno foi verificado em peixes (Stave e Roberson, 1985) e anfíbios (Plytycz e Bayne, 1987). Questiona-se sobre a importância filogenética da existência desse fenômeno em invertebrados, e não se sabe até onde iria a extensão da ocorrência desses mecanismos de defesa, como por exemplo se abrangeriam todos os invertebrados, inclusive os inferiores.

1.7) FATORES HUMORAIS

Primeiramente, é relevante fazermos algumas considerações a respeito da denominação plasma e soro. Segundo o dicionário médico Dorland's e também o dicionário de termos médicos de Pedro Pinto, chama-se plasma à porção líquida do sangue que contém elementos particulados em suspensão, ou seja, que compreende o soro e o fibrinogênio, utilizado no processo da coagulação. Chama-se soro à parte do sangue depois da retirada dos elementos figurados.

Na realidade os moluscos não possuem plasma, pois até o momento não foi confirmada a presença de fibrinogênio. No entanto, em vários invertebrados ocorre um processo semelhante ao da coagulação, realizado pelos amebócitos. Isso sugere a possibilidade da existência de alguma substância semelhante ou

com função parecida à do fibrinogênio, atuando na agregação dos amebócitos circulantes.

Adotamos a denominação plasma de acordo com a literatura atual existente sobre resposta imune em invertebrados (Noda & Loker, 1989).

Além da citotoxicidade mediada por células, os invertebrados também possuem resposta humoral à elementos não próprios. Os hemócitos produzem fatores plasmáticos, sua secreção e liberação não é um processo contínuo, dependendo da presença de material estranho (Sminia & van der Knaap, 1987).

Balan et al., 1986, observaram que a destruição de organismos estranhos pode ocorrer com ou sem a presença de reação amebocitária em torno da larva de *Schistosoma mansoni*, sugerindo a participação de componentes humorais, possivelmente a liberação de substâncias citotóxicas.

A interação celular-humoral vem sendo investigada, visando verificar a possível relação de dependência de fatores do plasma para a ocorrência da resposta de citotoxicidade contra o "não próprio". Bayne et al., 1980 b, verificaram que os esporocistos em contato com o plasma de caramujos resistentes e susceptíveis permanecem vivos durante o tempo em que os amebócitos estão ausentes; Yoshino, 1984, demonstrou que esporocistos podem adquirir seletivamente antígenos do plasma; Bayne et al., 1980 a, demonstraram que hemócitos de caramujos resistentes podem matar esporocistos com ou sem a ajuda dos fatores do plasma, o que é compatível com os resultados obtidos por Balan et al., 1986. Sabe-se que hemócitos de caramujos

susceptíveis não são citotóxicos em meio de cultura ou plasma de caramujos homólogos. No entanto, o plasma de caramujos resistentes pode facilitar a resposta de citotoxicidade mediada por células de caramujos susceptíveis "in vitro" (Bayne et al., 1980 b; Loker & Bayne, 1982); tais resultados foram confirmados por Granath & Yoshino, 1984, que induziram a resistência "in vivo" pela transferência passiva através do plasma.

A presença de aglutininas no plasma de caramujos resistentes e susceptíveis vem sendo investigada. Loker et al., 1984 observaram a presença de uma aglutinina para esporocistos fixos de *S. mansoni* no plasma de caramujos resistentes, que está ausente no plasma de caramujos susceptíveis.

Segundo Loker & Bayne, 1982, esporocistos pré-incubados em plasma de caramujos susceptíveis perdem sua proteção contra a ação dos hemócitos de caramujos resistentes, sugerindo que antígenos adquiridos pelos esporocistos não impedem o reconhecimento pelas células do hospedeiro. Parece que antígenos adquiridos do plasma de moluscos susceptíveis são reconhecidos como "non self" pelos hemócitos de moluscos resistentes, devido à diferenças antigênicas entre moluscos susceptíveis e resistentes.

Bayne et al., 1986, confirmaram que a exposição ao plasma altera a antigenicidade dos esporocistos, e que a aquisição de antígenos é seletiva, verificaram ainda que esta alteração é um resultado específico da exposição ao plasma, que ocorre paralelamente à um aumento da capacidade de ligar anticorpos à antígenos do plasma. A aquisição de Ags do plasma pelos esporocistos ocasiona uma alteração mínima no plasma, muitos antígenos adquiridos são rapidamente perdidos do tegumento

do esporocisto, sítio de interações metabólicas e imunológicas com o hospedeiro.

Vários fatores plasmáticos vem sendo detectados na hemolinfa de diversos moluscos invertebrados. Em *Biomphalaria glabrata* foram descritos quatro fatores plasmáticos: 1) Lectinas; 2) Fatores líticos (Enzimas); 3) Substâncias imobilizadoras de miracidios (Lie et al., 1980); 4) Ativador do sistema complemento de vertebrados, detectado também em *Helix pomatia* (Kock & Nielsen, 1984). Além desses, foram detectados o fator inibidor da protease, em *Helix pomatia* (Renwranz, 1979); uma precipitina para albuminas e globulinas humanas em *Littorina irrorata* (Smith, 1984) e fibronectina em *Helix aspersa* (Bride et al., 1986).

Na verdade, pouco se sabe sobre o caráter funcional, bioquímico e os sítios de produção desses fatores, pois a maioria dos estudos já feitos são descritivos e necessitam serem aprofundados, com a utilização de técnicas bioquímicas e funcionais mais apropriadas e sensíveis para a caracterização mais precisa dessas moléculas.

1.8) CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS (REPARO TECIDUAL)

Moluscos planorbídeos, bem como outros invertebrados celomados e acelomados possuem barreiras físico-químicas corporais, tal como o muco, que ao serem lesionadas ou invadidas

por parasitas pode resultar na perda de fluido corporal (muco, hemolinfa) e morte, a menos que sejam acionados rapidamente os mecanismos de reparo tecidual e cicatrização. Invertebrados celomados não artrópodos (Anelídeos, moluscos, equinodermas e tunicatas) cicatrizam suas feridas com ou sem coagulação da hemolinfa (Ratcliffe, 1985). Segundo Ratcliffe, 1985, o processo de reparo tecidual e cicatrização de feridas começa com a migração de numerosas células para a área danificada, fechando a ferida pela agregação celular e contração muscular.

Os amebócitos desempenham um papel importante no processo de recuperação tecidual da concha danificada (Wagge, 1951 ; Wagge & Mittler, 1953). O transporte de íons cálcio (Ca^{++}) via amebócitos e a formação da nova concha são os eventos mais importantes para a ocorrência desse processo, visto que estes íons, além das glicoproteínas de superfície, são necessários para uma agregação efetiva das células.

Em artrópodos, substâncias "linfocinas-like" contribuem para a agregação dos leucócitos em volta do sítio da ferida; a cicatrização é acompanhada pela coagulação do plasma, o que ocorre em aracnídeos, crustáceos e insetos (Ravindranath, 1980).

Segundo Pan, 1965, os esporocistos primários de *Schistosoma mansoni* íntegros raramente provocam uma reação tecidual, porém as larvas em degeneração, pequenas, imaturas são absorvidas pelos tecidos do hospedeiro. Pan verificou que o processo de reparo não é tão evidente no período de duas semanas de infecção, no entanto torna-se evidente ao redor de esporocistos primários bem desenvolvidos. Parecia haver atração de poucos amebócitos, que se transformavam em fibroblastos

rapidamente, preenchendo a área mais próxima do parasita, circundando-o.

Em suma, o processo de regeneração tecidual e cicatrização vem sendo investigado em vários invertebrados, mas o maior conteúdo de informações tem sido obtido em insetos, embora o mecanismo geral seja semelhante à maioria deles, envolvendo o transporte de cálcio, a formação de agregado de células em torno da ferida ou do parasita e a cicatrização.

1.9) OBJETIVOS

Nosso trabalho, bem como os demais realizados pela equipe do Departamento de Parasitologia da UNICAMP tem estudado a relação parasita x hospedeiro sob os aspectos da epidemiologia, genética, histologia e imunologia baseados: 1) na importância do estudo básico para o esclarecimento dos mecanismos fisiológicos, genéticos, bioquímicos e imunológicos envolvidos na esquistossomose, sua significância na epidemiologia e no controle da doença; 2) na possibilidade de abertura de novos modelos experimentais que facilitem a visualização dos fenômenos biológicos ocorridos nos invertebrados, particularmente os hospedeiros de *S. mansoni* e o estudo comparativo, com os vertebrados, e o fornecimento de dados a serem utilizados para a pesquisa aplicada.

O presente trabalho tem por objetivos principais:

1) Estudar a reação amebocitária "in vivo" frente a diferentes estímulos, comparando-o dentro da mesma espécie e entre as duas espécies de moluscos, *B. glabrata* e *B. tenagophila*.

2) Verificar os tipos de células envolvidas em cada uma das situações.

3) Verificar as alterações morfológicas dos amebócitos ocorridas no tempo, após a exposição aos miracídios e na ausência de exposição.

2) MATERIAL E METODOS

2.1) RESUMO DO PLANO EXPERIMENTAL

Nosso plano experimental constou de cinco etapas. Na primeira etapa avaliamos a dinâmica dos amebócitos circulantes na hemolinfa de *B. glabrata* e *B. tenagophila* após a exposição ao *S. mansoni* das linhagens BH e SJ, respectivamente. A hemolinfa de 7 a 10 moluscos foi colhida em intervalos de tempo que variaram de 30 minutos a 24 horas após a exposição às larvas (Grupo 1). Como controle utilizamos moluscos de ambas as espécies não expostos ao trematódeo mas submetido às mesmas condições experimentais (Grupo 2).

Na segunda etapa avaliamos a dinâmica dos amebócitos circulantes na hemolinfa de *B. glabrata* e *B. tenagophila* inoculados com tinta Nanquim (Grupo 3). Como grupo controle utilizamos moluscos submetidos à injeção simulada (Grupo 4). A hemolinfa dos moluscos foi coletada no mesmo intervalo de tempo do Grupo 1.

Na terceira etapa avaliamos a dinâmica dos amebócitos circulantes na hemolinfa de *B. glabrata* e *B. tenagophila* submetidos à fratura da concha (Grupo 5). Esse grupo foi realizado com o objetivo de observar o envolvimento dos amebócitos circulantes no processo de cicatrização e reparo tecidual. Tivemos como controle desse grupo moluscos não submetidos à fratura (Grupo 2). Como nos experimentos anteriores

a hemolinfa foi colhida no intervalo de tempo que variou de 30 minutos à 24 horas.

Na quarta etapa fizemos uma avaliação histopatológica dos moluscos, com o objetivo de verificar a presença ou ausência de reações amebocitárias em torno da larva de *S. mansoni*. Utilizamos moluscos *B. glabrata* e *B. tenagophila* submetidos à infecção pelo *S. mansoni* fixados no intervalo de tempo em que se observou picos dos amebócitos circulantes.

Na quinta etapa fizemos uma avaliação através de microscopia de fase, da morfologia dos amebócitos circulantes de *B. glabrata* e *B. tenagophila* após a exposição ao *S. mansoni* e na ausência da infecção.

2.2) GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram formados cinco grupos experimentais:

- 1º Grupo: - *Blomphalaria glabrata* infectados por miracidios de *S. mansoni* da linhagem BH.
- *Blomphalaria tenagophila* infectados por miracidios de *S. mansoni* da linhagem SJ.
- 2º Grupo: - *Blomphalaria glabrata* não infectados.
- *Blomphalaria tenagophila* não infectados.

- 3º Grupo: - *Blomphalaria glabrata* inoculados com tinta Nanquim.
- *Blomphalaria tenagophila* inoculados com tinta Nanquim.
- 4º Grupo: - *Blomphalaria glabrata* com injeção simulada (ausência de tinta Nanquim).
- *Blomphalaria tenagophila* com injeção simulada (ausência de tinta Nanquim).
- 5º Grupo: - *Blomphalaria glabrata* com fratura da concha.
- *Blomphalaria tenagophila* com fratura da concha.

2.3) MOLUSCOS E LINHAGENS DE *Schistosoma mansoni*

- Moluscos planorbídeos *Blomphalaria glabrata* e *Blomphalaria tenagophila* são mantidos no moluscário do Depto. de Parasitologia, em tanques de criação com água decolorada e na presença de plantas aquáticas. A alimentação básica diária consiste de folhas de alface fresca. As linhagens de *S. mansoni* utilizadas para infecção dos caramujos são as SJ (Vale do Rio Paraíba do Sul, SP) e BH (Belo Horizonte, MG), também mantidas em laboratório.

2.4) OBTENÇÃO DE MIRACÍDIOS DAS LINHAGENS BH e SJ DE *Schistosoma mansoni* E INFECÇÃO DE MOLUSCOS *B. glabrata* e *B. tenagophila*

- Miracídios das linhagens BH e SJ do *Schistosoma mansoni* foram obtidos de fezes de camundongos albinos (Swiss) previamente infectados. O material fecal dos roedores, colhido aproximadamente aos 60 dias após exposição ao parasita, era homogeneizado, filtrado em cálice cálice de sedimentação com dupla camada de gaze e deixado sedimentar em geladeira (Hoffman et al., 1934). Após cada período de sedimentação, desprezava-se o sobrenadante e ao sedimento era adicionado novamente igual volume de água, fazendo-se assim a lavagem do sedimento. Este procedimento era repetido até o sobrenadante apresentar-se límpido, o que era conseguido após a terceira lavagem. O sedimento era recolhido em placas de Petri e exposto à luz por 20 minutos ou mais, sob temperatura média de 28 °C, para eclosão dos miracídios. Posteriormente, cada molusco era exposto à 10 miracídios, para a avaliação cinética do número de amebócitos circulantes e à 100 miracídios para a avaliação histopatológica. A eclosão dos miracídios e a exposição dos moluscos foi realizada segundo metodologia de Standen, 1951.

2.5) OBTENÇÃO DA HEMOLINFA DE *B. glabrata* E *B. tenagophila*

- A hemolinfa de *B. glabrata* e *B. tenagophila* era colhida da região cefalo-podal por punção rápida através da concha, com seringa de plástico de 1 ml e agulha hipodérmica metálica BD 10.5. Com esse método de coleta obtivemos uma quantidade relativamente grande de hemolinfa (aproximadamente 0,2 a 0,5 ml), limpa e livre de muco, sendo portanto adequada para a contagem de amebócitos circulantes. Todos os moluscos utilizados para sangria mediam de 7 a 9 mm de diâmetro.

2.6) CONTAGEM DE AMEBÓCITOS CIRCULANTES NA HEMOLINFA DE *Blomphalaria glabrata* E *Blomphalaria tenagophila*:

- Imediatamente após a coleta, a hemolinfa era adicionada aos orifícios da câmara de Neubauer e os amebócitos circulantes eram contados diretamente, sem coloração vital, em microscópio óptico comum com aumento de 400 vezes. Fizemos uma contagem diferencial dos amebócitos estrelados e amebócitos não estrelados, respectivamente, denominados granulócitos e e hialinócitos na literatura. A coleta da hemolinfa e contagem de células era feita em moluscos diferentes, porém submetidos às mesmas condições experimentais.

2.7) INOCULAÇÃO DE TINTA NANQUIM EM *Blomphalaria glabrata* E *Blomphalaria tenagophila*:

- Moluscos foram submetidos à anestesia em solução de mentol a 0,25 % no período de 4 horas. O mentol foi escolhido entre vários anestésicos testados porque foi o único que em baixa concentração no período de quatro horas provocou um relaxamento ótimo nos caramujos e apresentou baixa taxa de mortalidade.

Após a anestesia os moluscos foram inoculados na região céfalo-podal com tinta Nanquim, com volume de 0,2 - 0,3 μ l. Imediatamente após a inoculação eram mantidos em aquário com temperatura controlada. Para a inoculação de tinta Nanquim foi utilizada uma seringa "carpule" de anestesia dentária, e agulhas apropriadas descartáveis. Os "carpules", pinças, seringas, etc. eram esterilizados a 120°C por 20 minutos. Todo o procedimento de inoculação era realizado próximo da chama.

2.8) INJEÇÃO SIMULADA EM *Blomphalaria glabrata* E *Blomphalaria tenagophila*:

- Foi utilizado processo idêntico ao da inoculação de tinta Nanquim, porém na ausência de tinta ou qualquer outro inóculo. Este grupo foi utilizado como controle da inoculação de tinta Nanquim.

2.9) FRATURA DA CONCHA DE *Blomphalaria glabrata* e *Blomphalaria tenagophylla*:

- A concha dos moluscos era perfurada rapidamente com um estilete limpo, esterilizado em álcool, passado pela chama. A perfuração atingia levemente o corpo do animal, na região céfalo-podal.

Depois da fratura, os moluscos eram colocados em aquário, com temperatura controlada, para evitar choque térmico dos moluscos. O momento da perfuração era considerado como hora zero (zero). A partir deste momento eram contados 30 minutos e intervalos de 2 em 2 horas até 24 horas, para a contagem de amebócitos na hemolinfa.

2.10) EXAME HISTOPATOLÓGICO DOS MOLUSCOS *Blomphalaria glabrata* E *Blomphalaria tenagophylla*:

- Moluscos de cada um dos grupos experimentais foram fixados em Bouin alcobílico. Após o período de 48 horas sua concha era retirada e seu aparelho bucal era removido, para que a navalha não fosse danificada. Após o período de fixação era separado do caramujo a região céfalo-podal até as proximidades do colar do manto. O material era lavado em água várias vezes até a completa remoção do fixador. Em seguida o material era processado para inclusão em parafina. Foram realizados cortes seriados de 5

a 6 μ m de espessura, da região céfalo-podal de cada um dos exemplares dos vários grupos experimentais e o material corado pelo tricrômico de Gomori.

Moluscos infectados com 100 miracidios da linhagem simpátrica de *S. mansoni* foram sacrificados em intervalos a partir de 30 minutos após exposição (30 min., 2 hs, 10 hs, 18 hs e 24 hs). Foram sacrificados dois exemplares de moluscos para cada tempo e devidamente identificados.

2.11) MICROSCOPIA DE FASE

- Amostras de hemolinfa circulante de *B. glabrata* e *B. tenagophila* sadios e infectados com *S. mansoni*, foram observados por microscopia de fase. A hemolinfa era colocada diretamente sobre a lâmina, sem lamínula e na ausência de coloração. Imediatamente os amebócitos circulantes eram observados e no decorrer do tempo as alterações morfológicas eram registradas por fotomicrografias.

2.12) ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento foi completamente aleatorizado. Os fatores estudados foram o tipo de "tratamento" (infecção, injeção de Nanquim, fratura da concha), o tempo de observação (30 minutos à 24 horas) e a espécie do molusco. A atribuição de exemplares de moluscos de cada espécie, as combinações de tratamento e tempo foi realizado aleatoriamente.

As respostas observadas foram: número de amebócitos estrelados e número de amebócitos não estrelados.

A análise, para efeitos comparativos, empregou um modelo de análise de variância, com o fatorial tratamento x tempo, em cada espécie de molusco. Os dados das respostas foram previamente transformados para a raiz quadrada, para estabilizar as variâncias.

Pode-se, assim, avaliar os efeitos do tratamento, de tempo e a interação entre esses fatores. Os efeitos foram comparados através de métodos de comparação múltipla.

Todos os cálculos foram realizados com o sistema SAS (6.03) em microcomputador tipo IBM PC-XT, no Instituto de Matemática e Computação (IMECC) da Universidade Estadual de Campinas, sob a responsabilidade do Prof. José F. de Carvalho.

3) RESULTADOS

3.1) AVALIAÇÃO CINÉTICA DO NÚMERO DE AMEBÓCITOS CIRCULANTES EM *Blomphalaria glabrata* E *Blomphalaria tenagophila*

As figuras de 1 a 8 mostram o perfil de variação cinética do número de amebócitos circulantes em *B. glabrata* e *B. tenagophila* expressos pela média de células por mm^3 de 7 a 10 moluscos em diferentes tempos compreendidos entre 30 minutos até 24 horas, com intervalos de 2 horas.

As células foram classificadas como "estreladas" e "não estreladas".

A Figura 1 mostra o perfil da variação do número de amebócitos de *B. glabrata* submetidos à infecção por miracidios de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH. verificamos que na infecção de *B. glabrata* por *S. mansoni* ocorreu um aumento precoce de amebócitos "não estrelados". No período de 30 minutos após a infecção observou-se um aumento bastante significativo do total de amebócitos em relação ao grupo controle.

No intervalo de 2 horas após a infecção houve um leve aumento de células amebocitárias, após esse período ocorreu uma diminuição gradativa do número de células circulantes, voltando a atingir no intervalo de 24 horas um número médio de células por mm^3 semelhante ao do grupo controle. O aumento ocorrido entre 30 minutos e 2 horas deveu-se exclusivamente aos amebócitos "não estrelados"; os amebócitos "estrelados" não apresentaram variação cinética significativa.

A figura 2 relata os resultados obtidos da contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata* submetida à fratura da concha. Após a fratura da concha, observamos que os moluscos *B. glabrata* apresentaram um aumento progressivo do nro. total de amebócitos circulantes. A população de células responsáveis pela variação encontrada foram os amebócitos "não estrelados"; os amebócitos "estrelados" não variaram significativamente no tempo.

A Figura 3 mostra o perfil da variação do número de amebócitos circulantes de *B. glabrata* inoculadas com tinta Nanquim. Observamos que mediante a injeção de tinta Nanquim, em *B. glabrata* houve um aumento precoce do total de amebócitos circulantes. Este aumento ocorreu principalmente devido aos amebócitos "não estrelados"; os "estrelados" não sofreram variações significativas. Verificamos que o perfil de variação encontrado nesse grupo foi semelhante ao ocorrido na infecção por *S. mansoni* (Figuras 1 e 3).

A Figura 4 mostra o perfil da variação do número de amebócitos circulantes de *B. glabrata* submetidos à injeção simulada. Os caramujos *B. glabrata* apresentaram um aumento rápido do número total de amebócitos, oscilando até 24 horas após o estímulo. A variação ocorrida deveu-se aos amebócitos "não estrelados". Os amebócitos "estrelados" também neste grupo não apresentaram variação significativa.

A Figura 5 mostra o perfil de variação cinética do número de amebócitos circulantes dos moluscos *B. tenagophila* submetidos à infecção por miracidios de *Schistosoma mansoni* da linhagem SJ. Moluscos *B. tenagophila* apresentaram um aumento

tardio dos amebócitos circulantes, se comparado aos resultados obtidos em *B. glabrata* submetidos à infecção. Este aumento ocorreu entre 14 e 18 horas após a infecção, seguido de uma diminuição gradativa até 24 horas quando assume valor semelhante ao da média de amebócitos circulantes do grupo controle, cujo valor está representado no eixo y. O aumento verificado deveu-se exclusivamente aos amebócitos "estrelados", pois os amebócitos "não estrelados" não apresentaram variação significativa.

A Figura 6 mostra o perfil da variação cinética dos amebócitos circulantes em moluscos *B. tenagophylla* submetidos à fratura da concha. Em *B. tenagophylla* não ocorreu uma variação significativa do número total de amebócitos. Ambos os tipos de células oscilaram no tempo; sendo que tais oscilações não podem ser consideradas como significativas em relação à média de células/mm³ do grupo controle.

A Figura 7 mostra o perfil da variação cinética do número de amebócitos circulantes de *B. tenagophylla* inoculadas com tinta Nanquim. Observamos que após a injeção de tinta Nanquim, os moluscos *B. tenagophylla* apresentaram um aumento imediato do total de amebócitos circulantes, exclusivamente devido aos amebócitos "não estrelados".

A Figura 8 mostra o perfil da variação cinética do número de amebócitos circulantes em *B. tenagophylla* submetidos à injeção simulada, que em *B. tenagophylla* provocou grande aumento dos amebócitos circulantes, semelhante ao ocorrido após a inoculação de tinta Nanquim porém em maior proporção. Da mesma forma que na inoculação de tinta Nanquim, a população de células responsáveis pelo aumento foram os amebócitos "não estrelados".

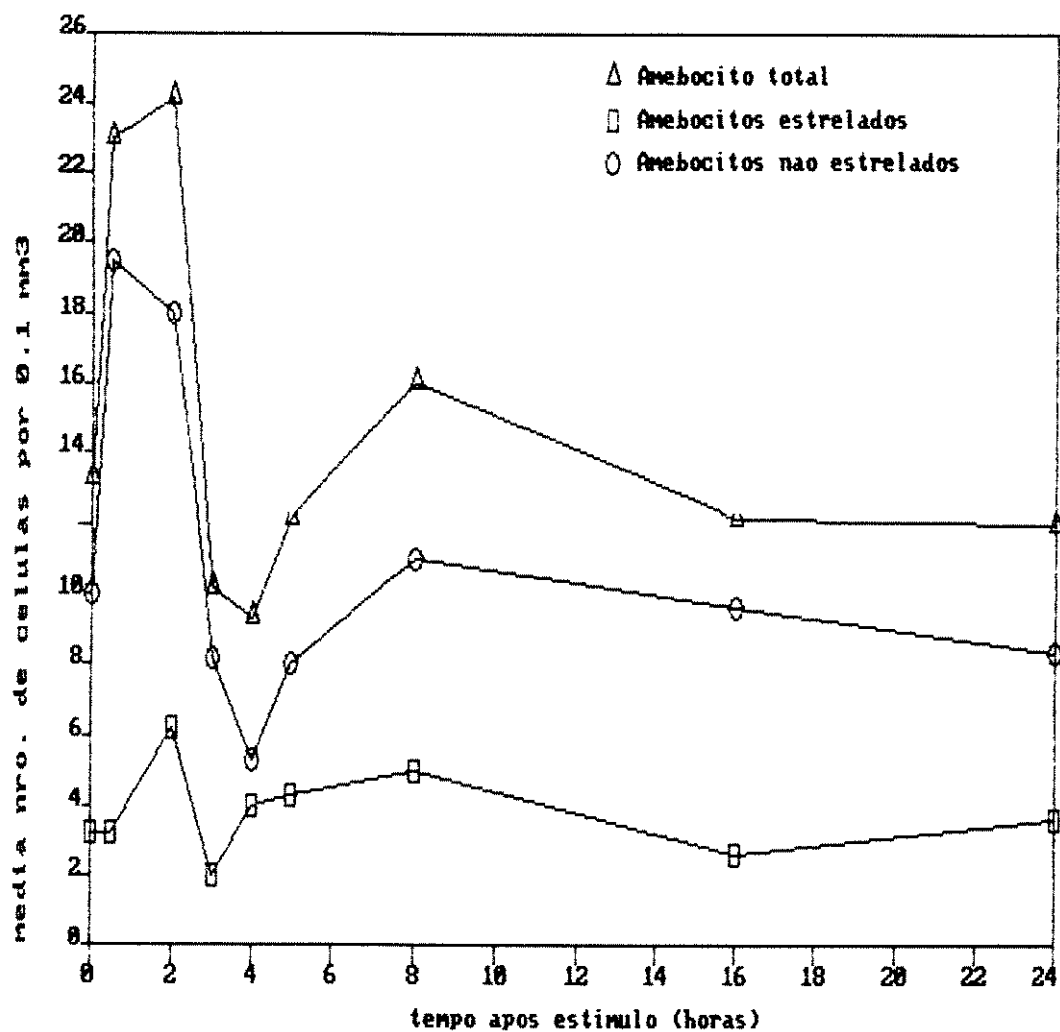


Figura 1 :
Média do no de Amebócitos Circulantes de
B. glabrata após infecção por *S. mansoni*

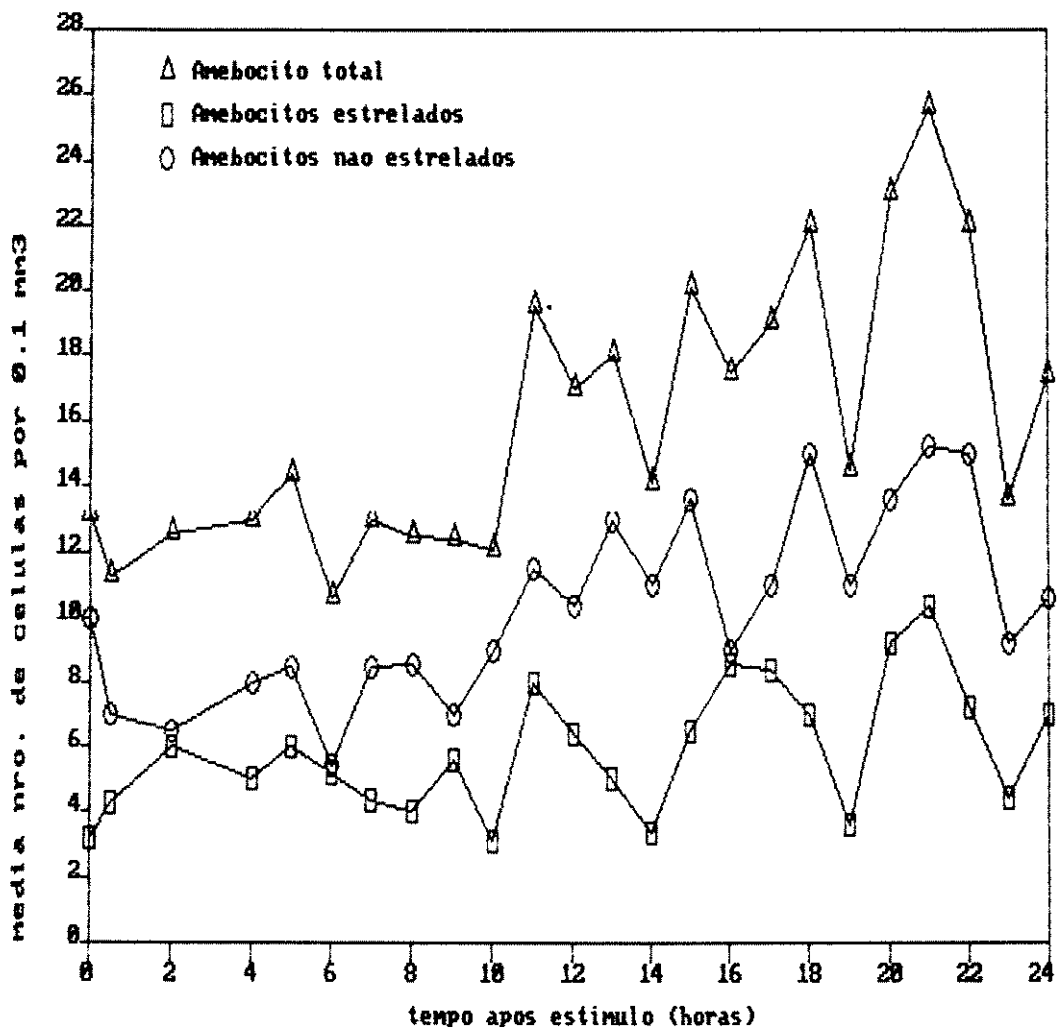


Figura 2 :

Média do no de Amebócitos Circulantes de
B. glabrata após fratura na concha

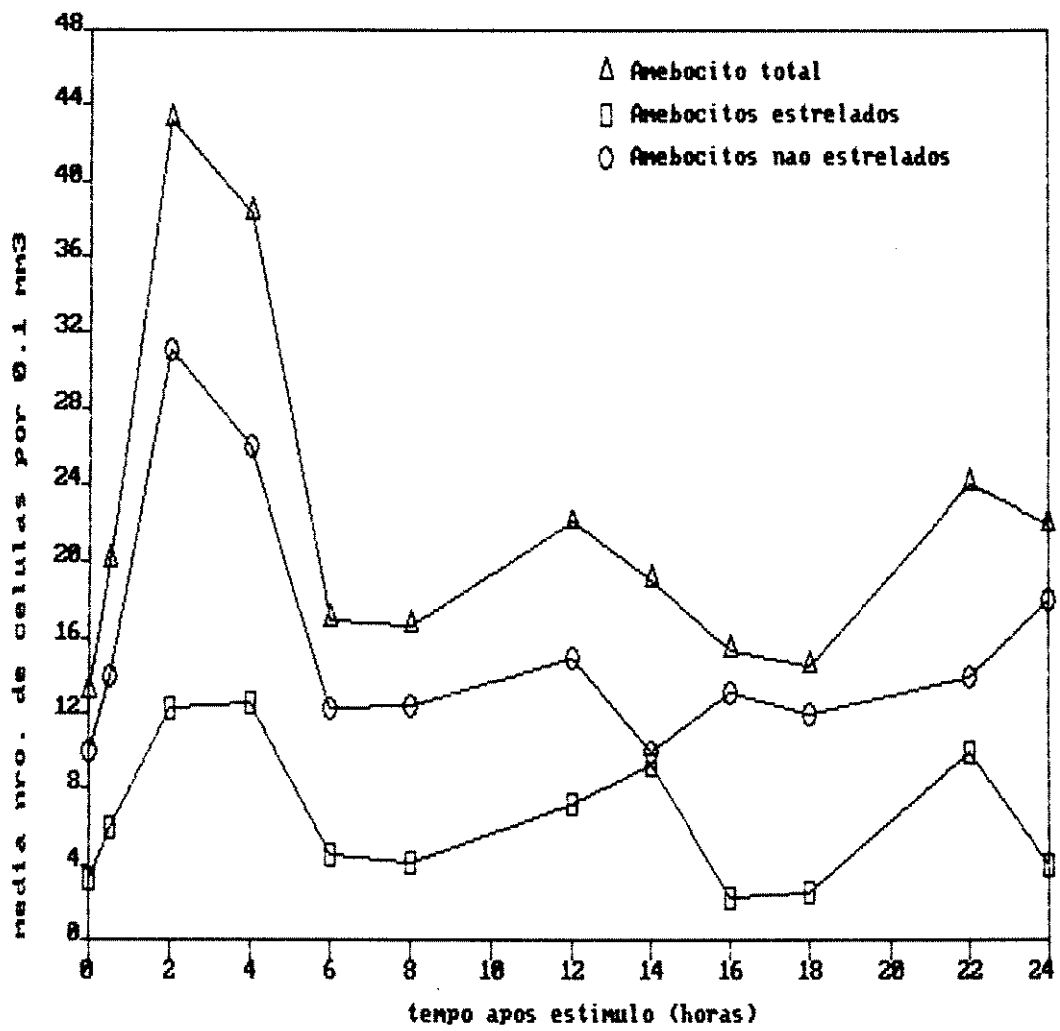


Figura 3 :

Média do no de Amebócitos Circulantes de
B. glabrata após inoculação por tinta Nanguim

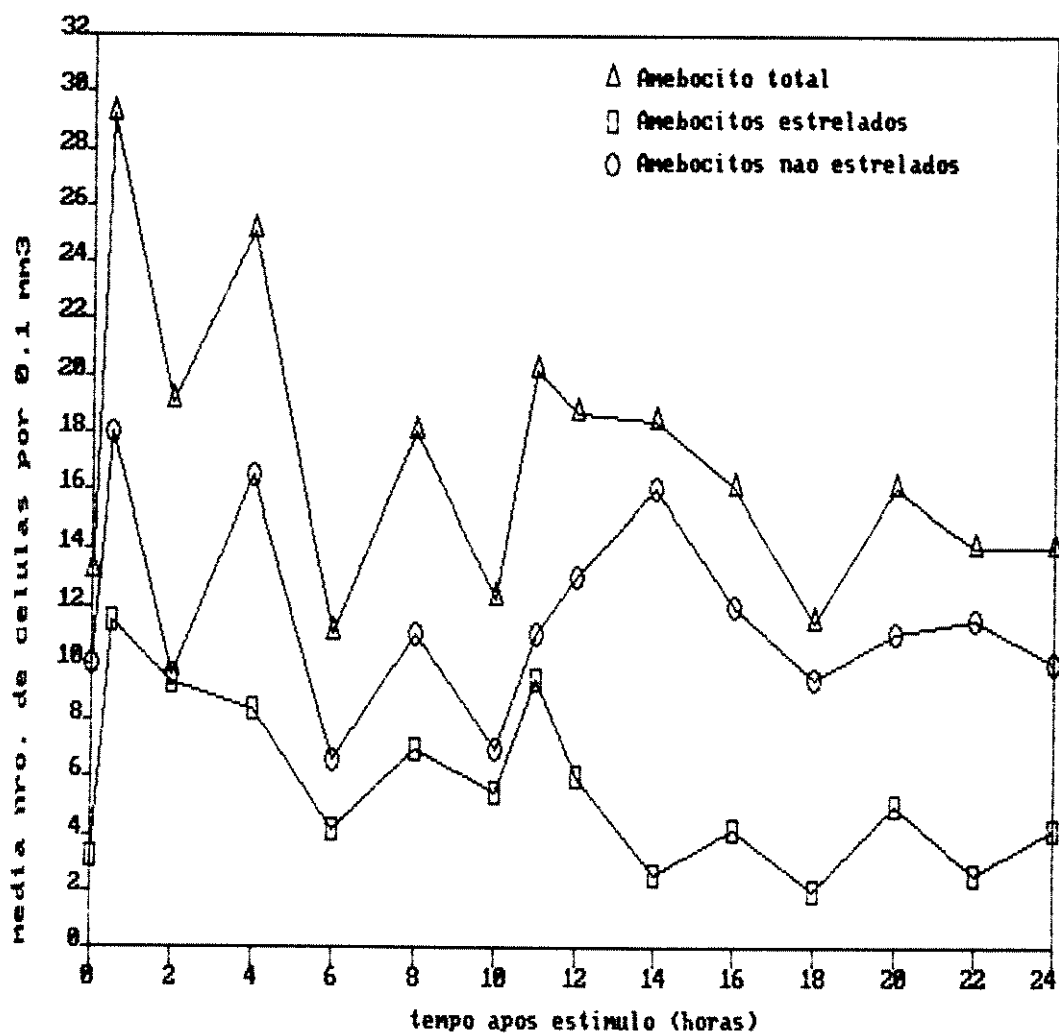


Figura 4 :
Média do no de Amebocitos Circulantes de
B. glabrata após Injeção simulada

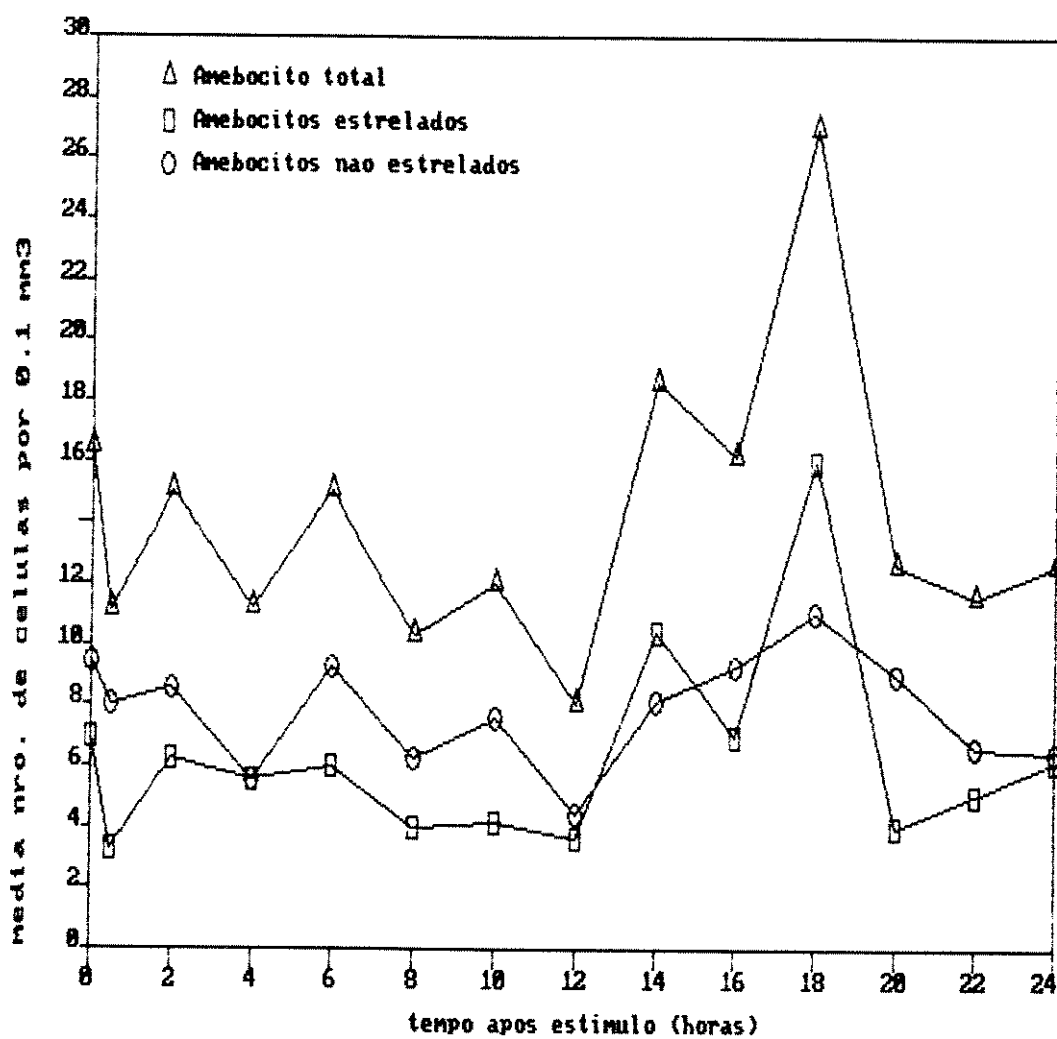


Figura 5 :

Média do no de Amebócitos Circulantes de
B. tenagophila após infecção por *S. mansoni*

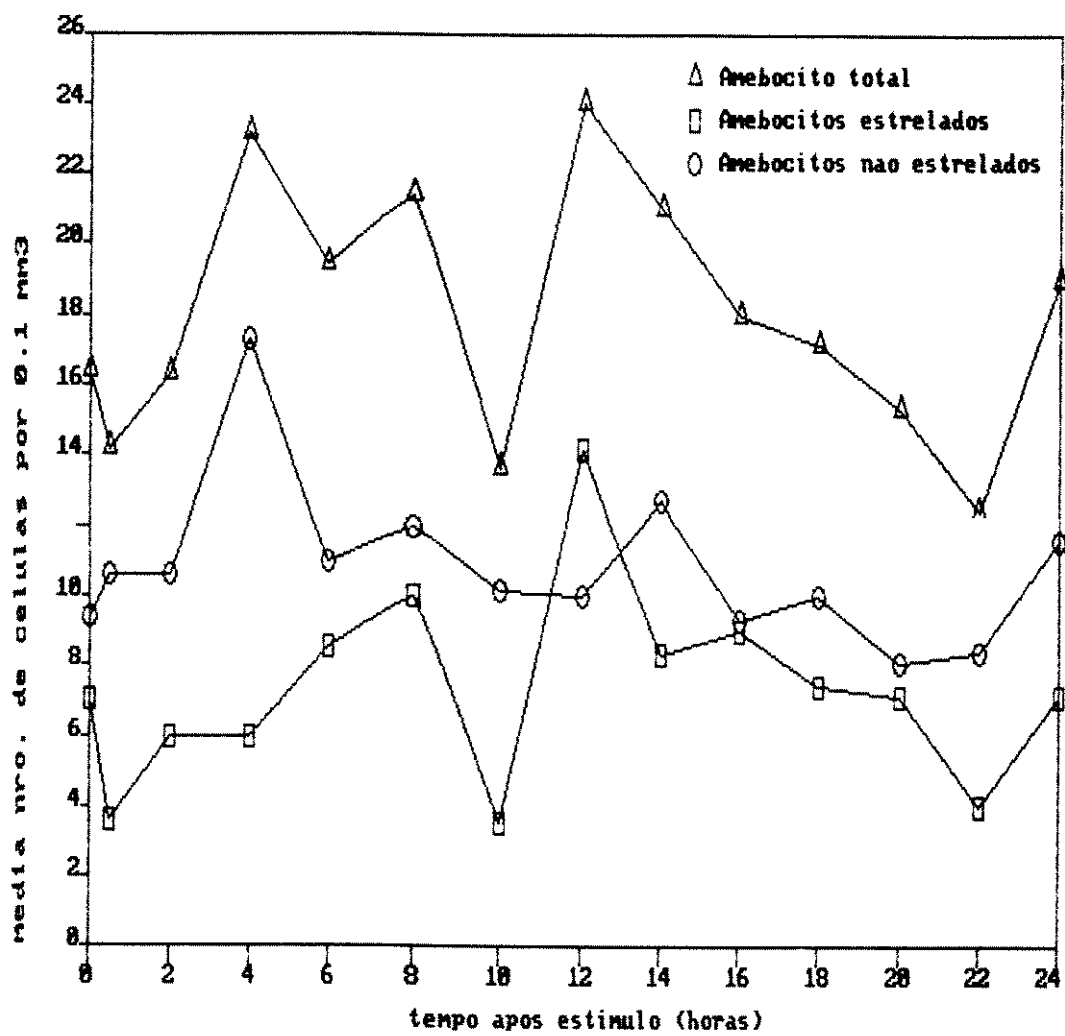


Figura 6 :
Média do no de Amebócitos Circulantes de
B. tenagophylla apds fratura na concha

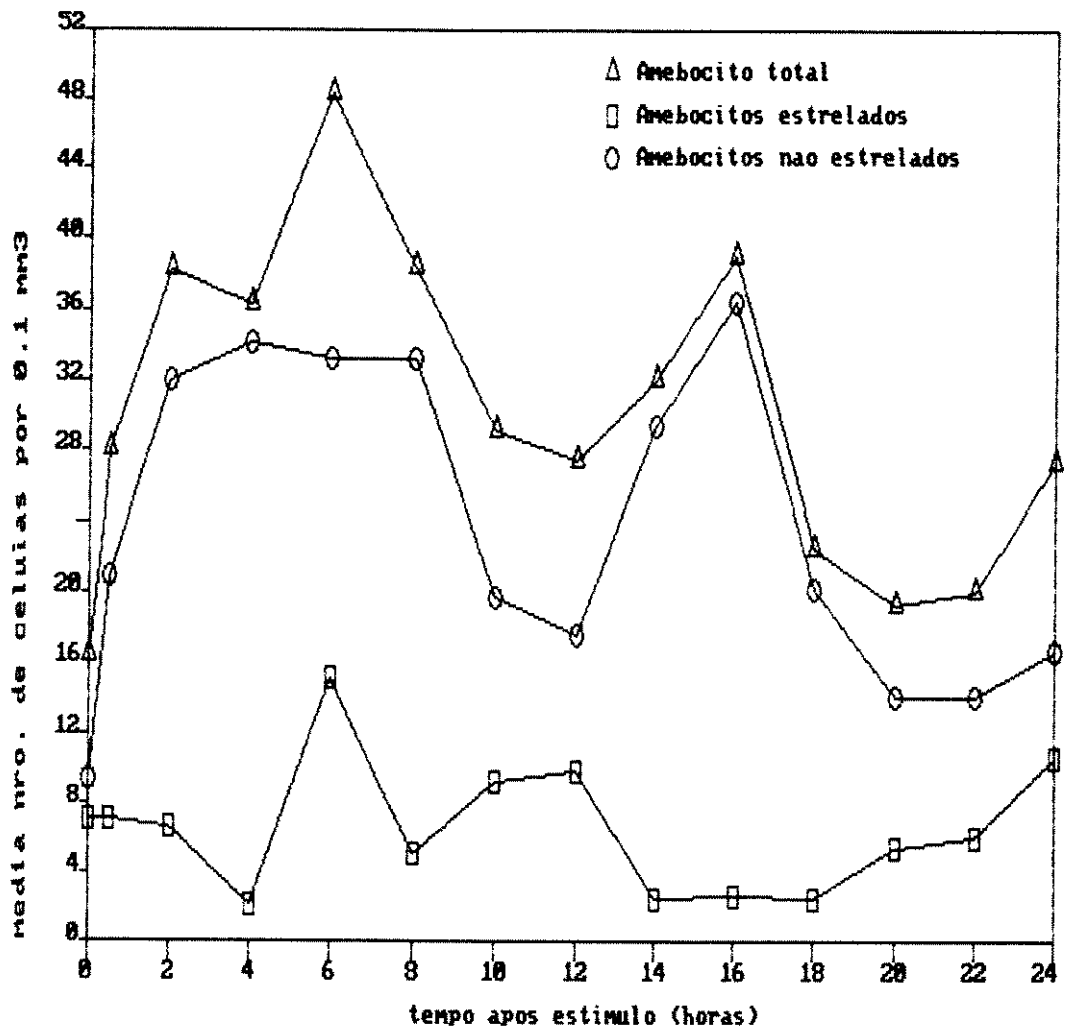


Figura 7 :
Média do no de Amebócitos Circulantes de
B. tenagophila após inoculação por tinta Nanquim

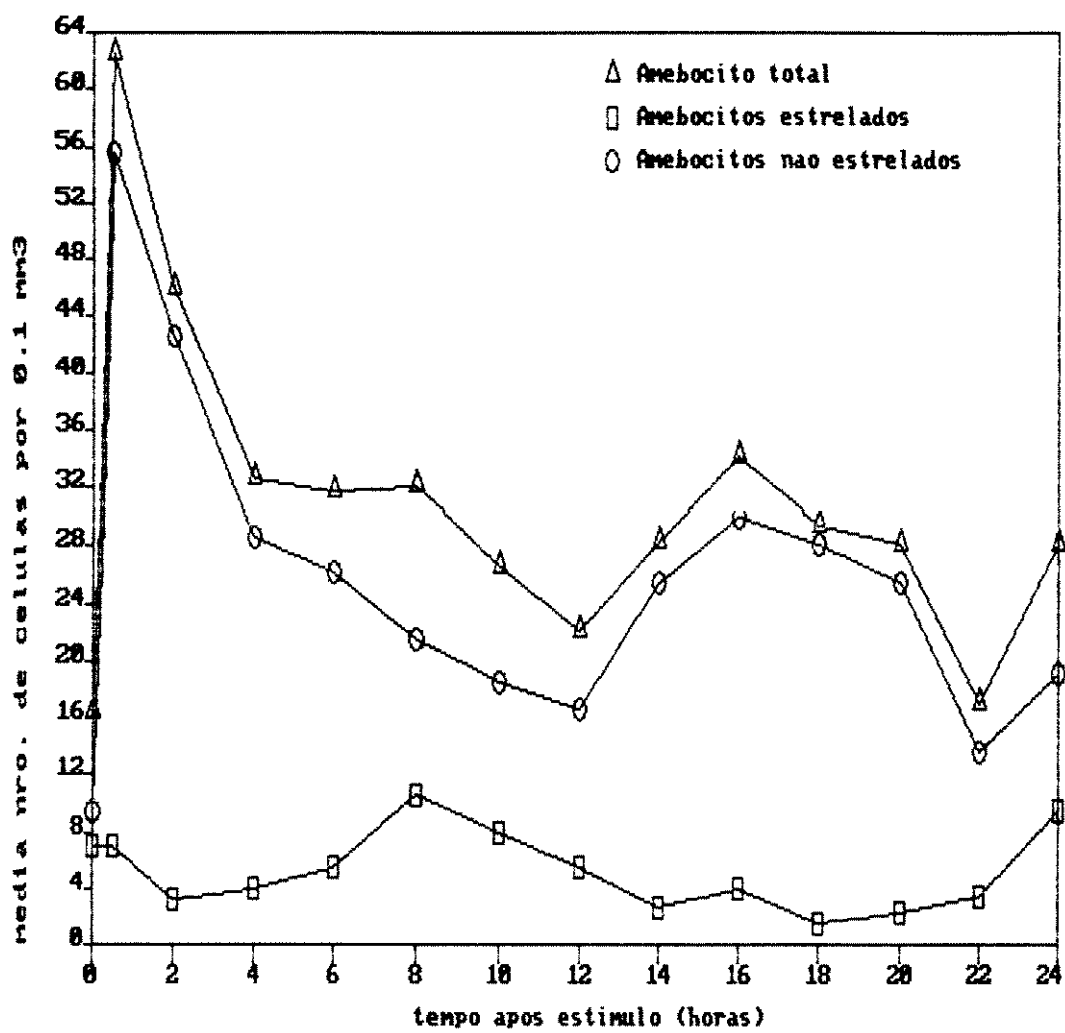


Figura 8 :
Média do no de Amebócitos Circulantes de
B. tenagophila após injeção simulada

3.2) CORTES HISTOLOGICOS

Os cortes histológicos foram realizados com o objetivo de verificar se existiria uma correlação entre a variação do número de amebócitos circulantes e a reação tecidual em torno da larva de *Schistosoma mansoni*.

Em moluscos *B. glabrata* observamos uma discreta reação amebocitária em torno dos miracidios no intervalo de 30 minutos e 2 horas após a exposição ao *S. mansoni*. No período de 2 horas houve um caso de reação amebocitária intensa (Figuras 9 e 10).

No intervalo de 10 horas e 18 horas verificamos que os miracidios parecem estar isolados do tecido adjacente, sendo que a maioria deles não apresentou degeneração significativa. Em torno de alguns miracidios observamos uma intensa reação amebocitária; no entanto, no mesmo corte haviam outros miracidios sem nenhuma reação (Figuras 11 e 12).

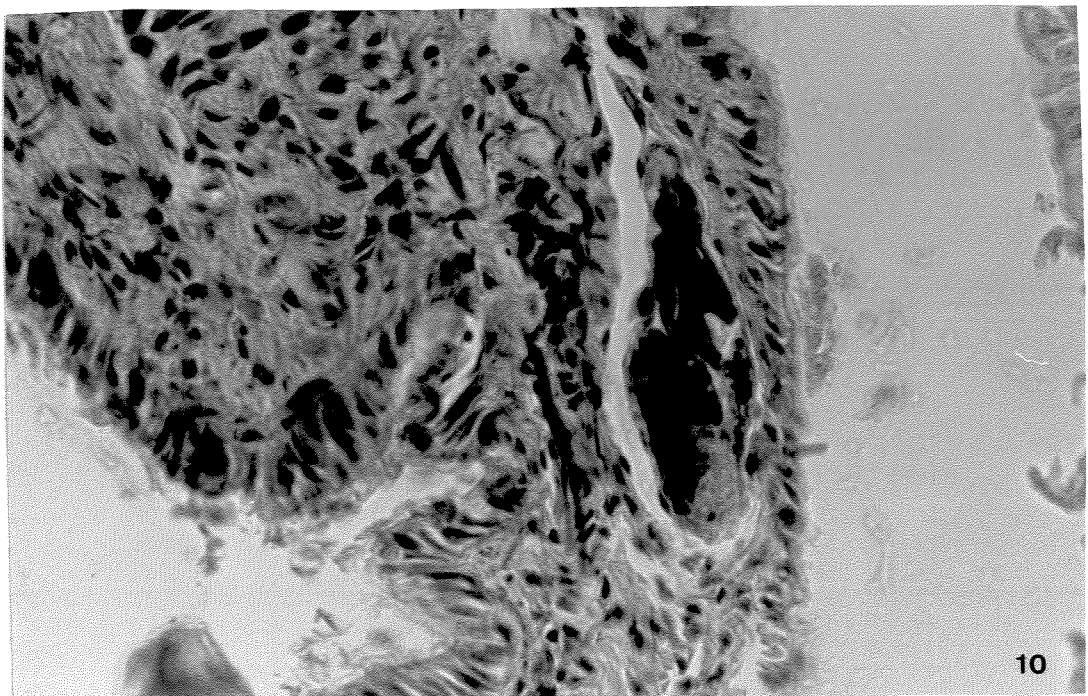
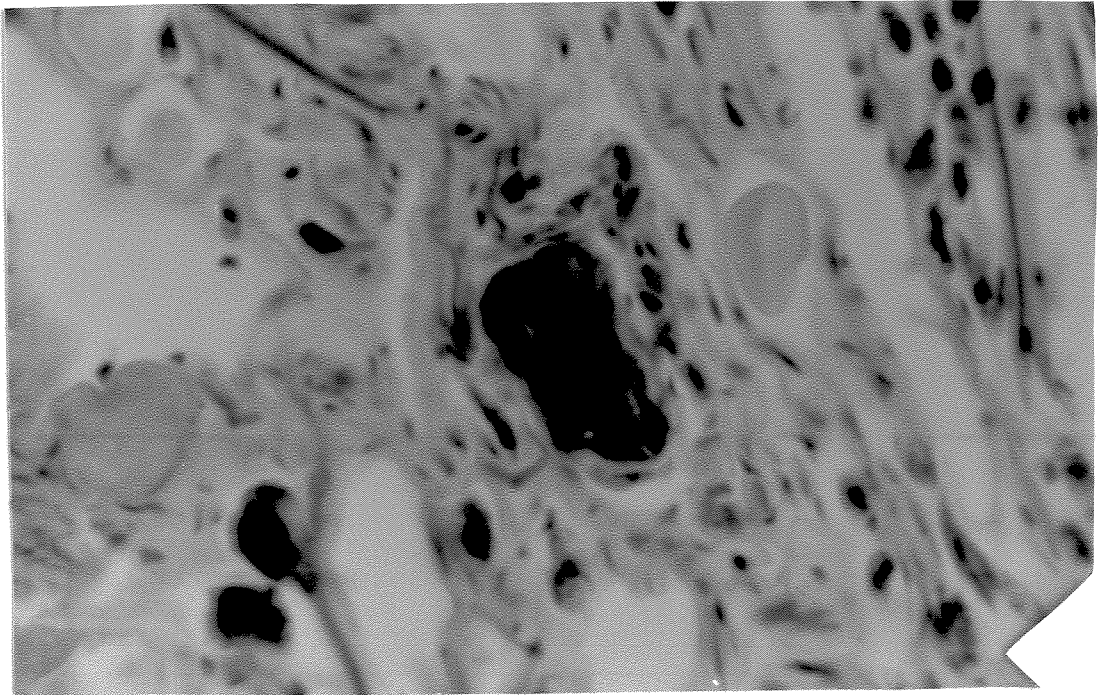
No intervalo de 24 horas após a exposição aos miracidios, em *B. glabrata* observamos na maioria das vezes esporocistos integros, com poucos sinais de degeneração, isolados do tecido adjacente, com ausência de reação amebocitária (Figura 13).

Em moluscos *B. tenagophila* verificamos no intervalo de 30 minutos e 2 horas após a exposição aos miracidios SJ de *S. mansoni* a presença de intensa reação amebocitária em torno da larva e em alguns casos observamos uma discreta reação amebocitária. Nos casos de intensa reação os amebócitos que estavam nas proximidades dos miracidios apresentavam núcleos

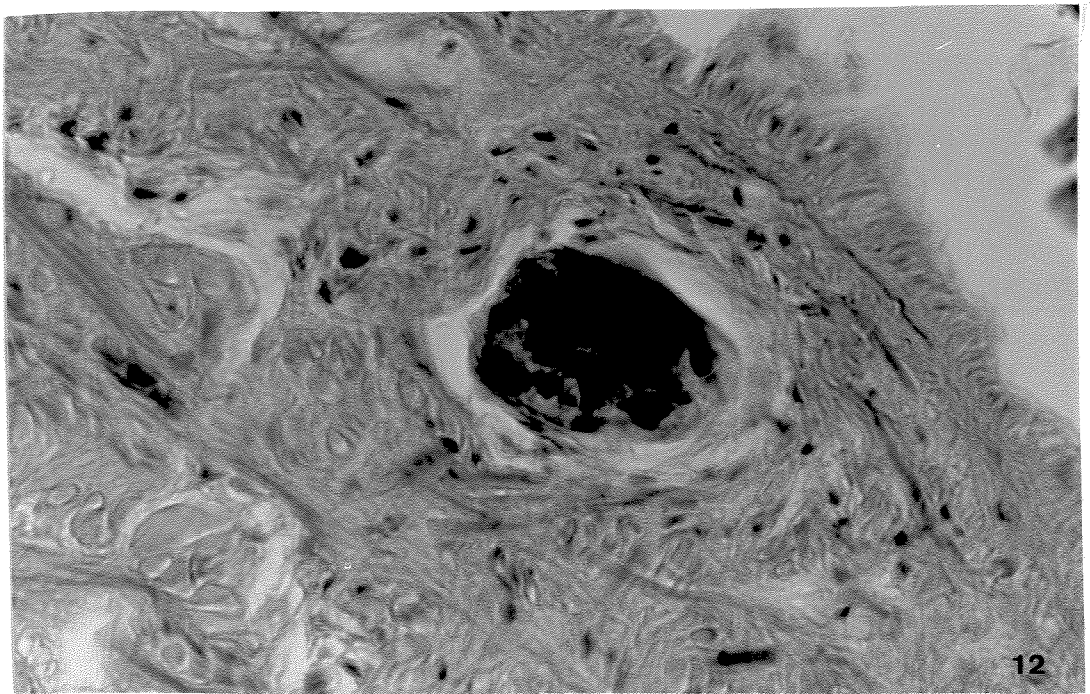
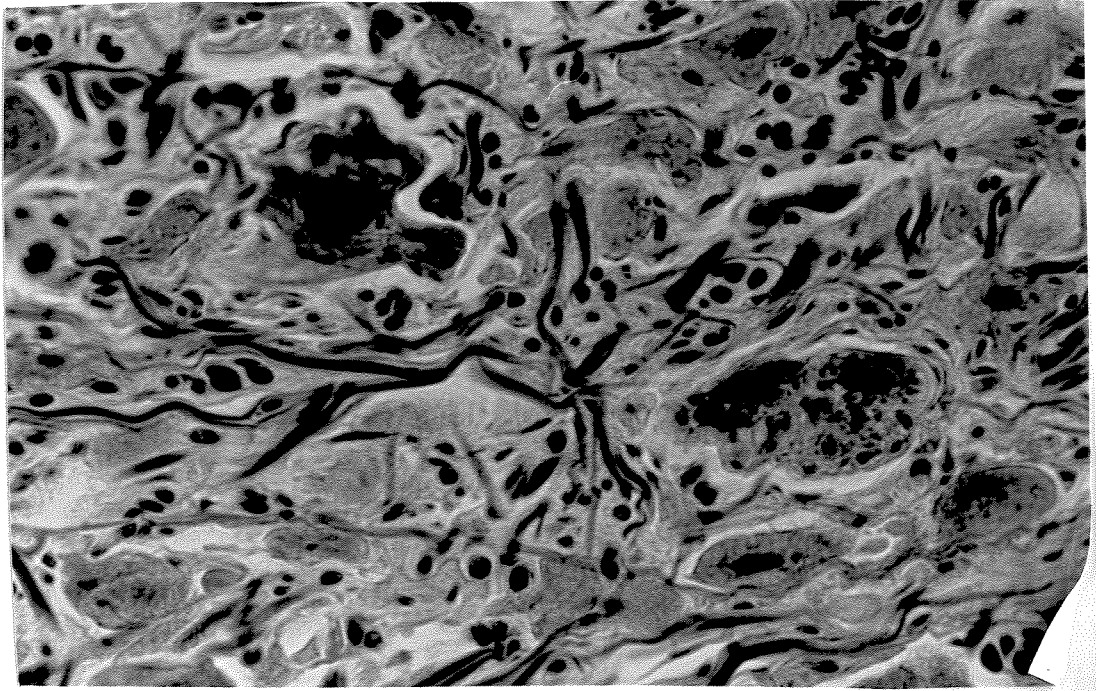
achatados (Figuras 14 e 15).

Nos intervalos de 10 horas e 18 horas verificamos que os miracídios apresentavam visíveis células em degeneração com núcleos picnóticos e uma intensa reação amebocitária em torno das larvas, formando uma capa de amebócitos (Figuras 16 e 17).

Vinte e quatro horas após a infecção pelo *S. mansoni*, exemplares de *B. tenagophila* apresentavam reação amebocitária intensa em torno do esporocisto. As larvas apresentavam sinais marcantes de degeneração, podendo-se afirmar que eram inviáveis. No entanto, esses achados somente foram obtidos na terceira repetição dos cortes histológicos, pois na primeira e na segunda tentativas não encontramos esporocistos visíveis, apenas possíveis fragmentos de larvas em degeneração (Figura 18).



Figs. 9 e 10 = Corte histológico de *B. glabrata* 2 horas após infecção por *S. mansoni*. Infiltrado de amebócitos em torno do miracídio (Fig.9); ausência quase total de reação amebocitária (Fig. 10).
Tricrômico de Gomori, X640



Figs. 11 e 12 = Corte histológico de *B. glabrata* 10 horas e 18 horas após infecção por *S. mansoni*. Ausência de reação amebocitária evidente. Tricromico de Gomori, X640, X700.

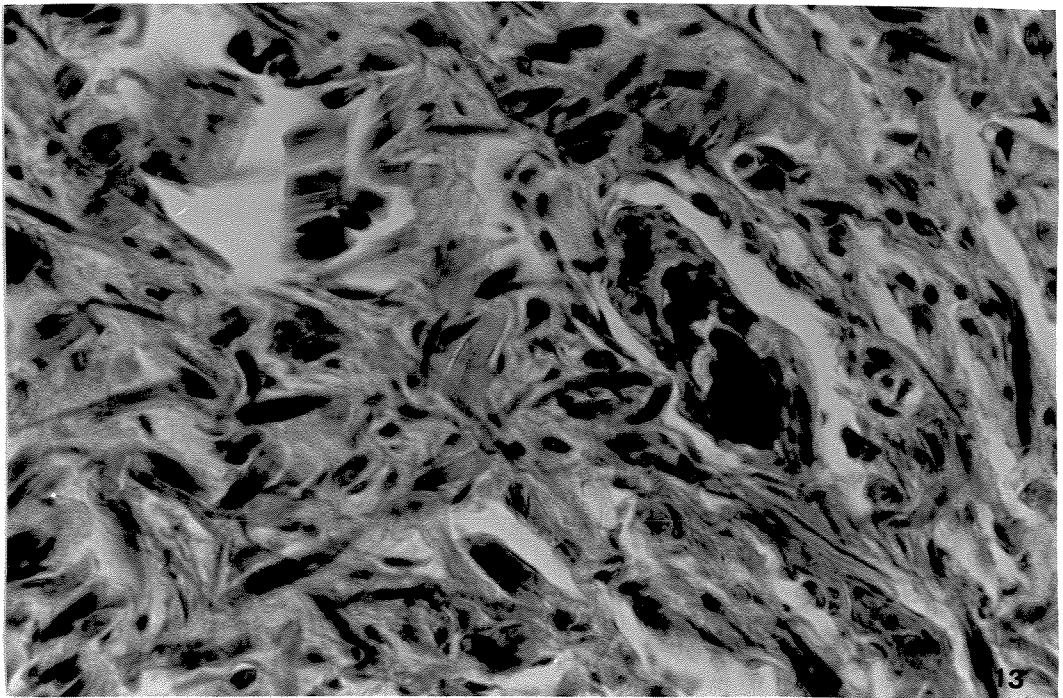
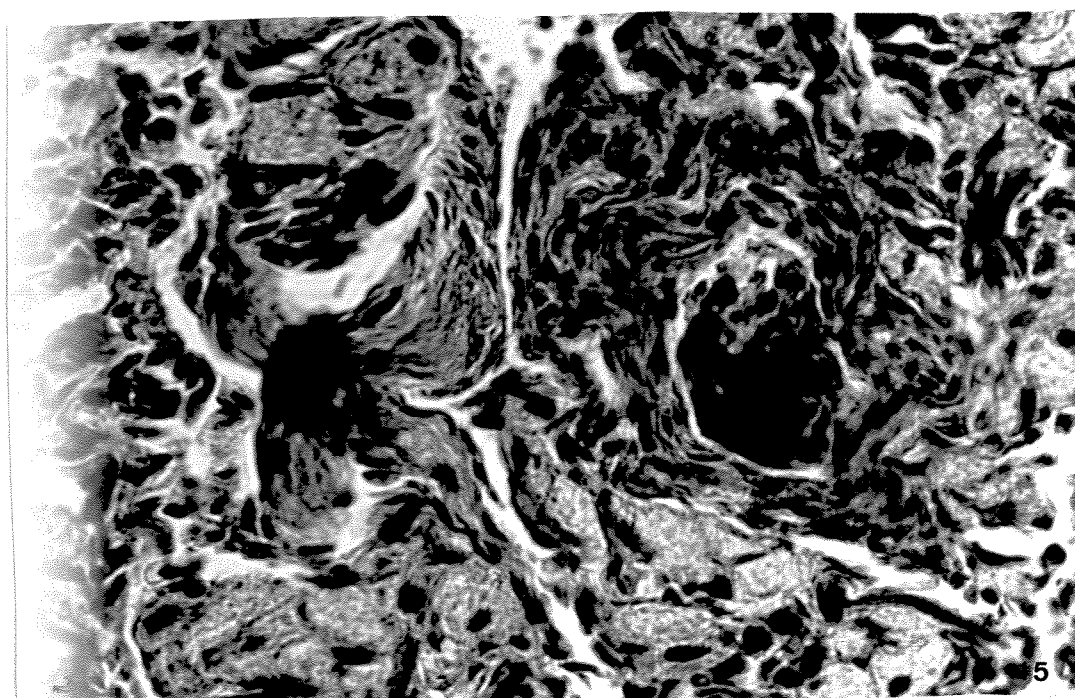
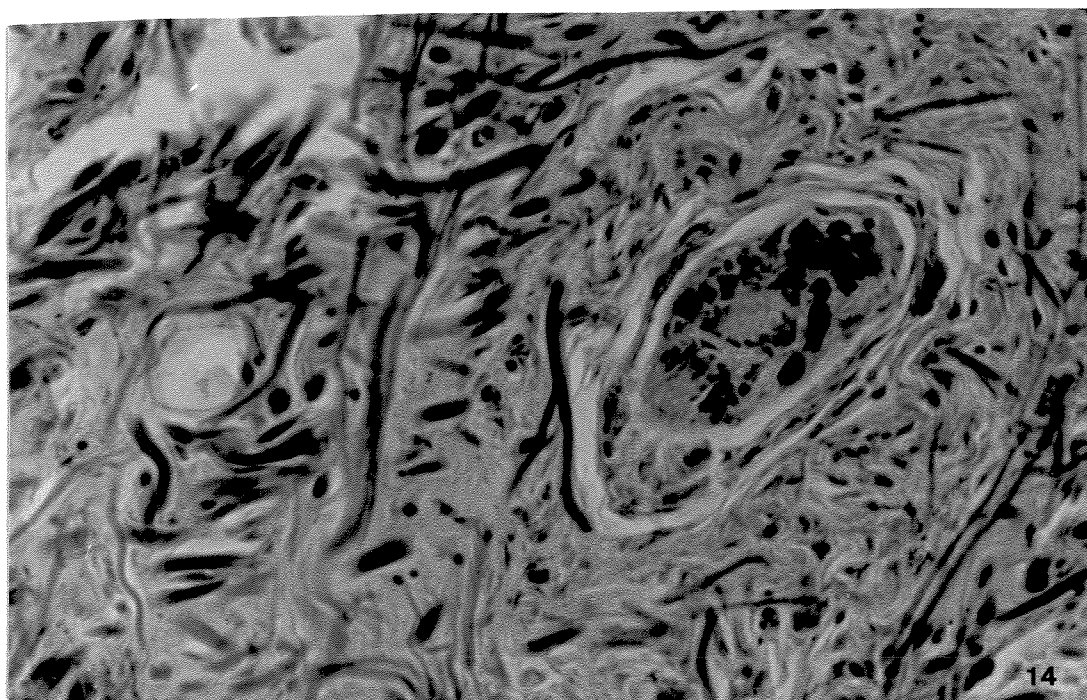
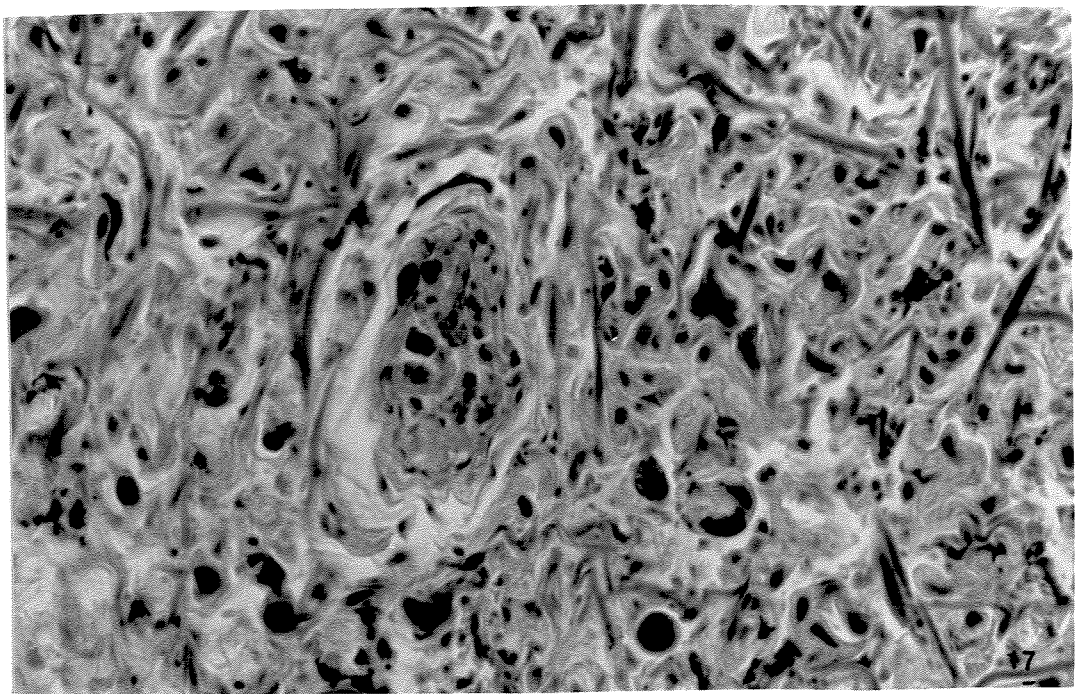
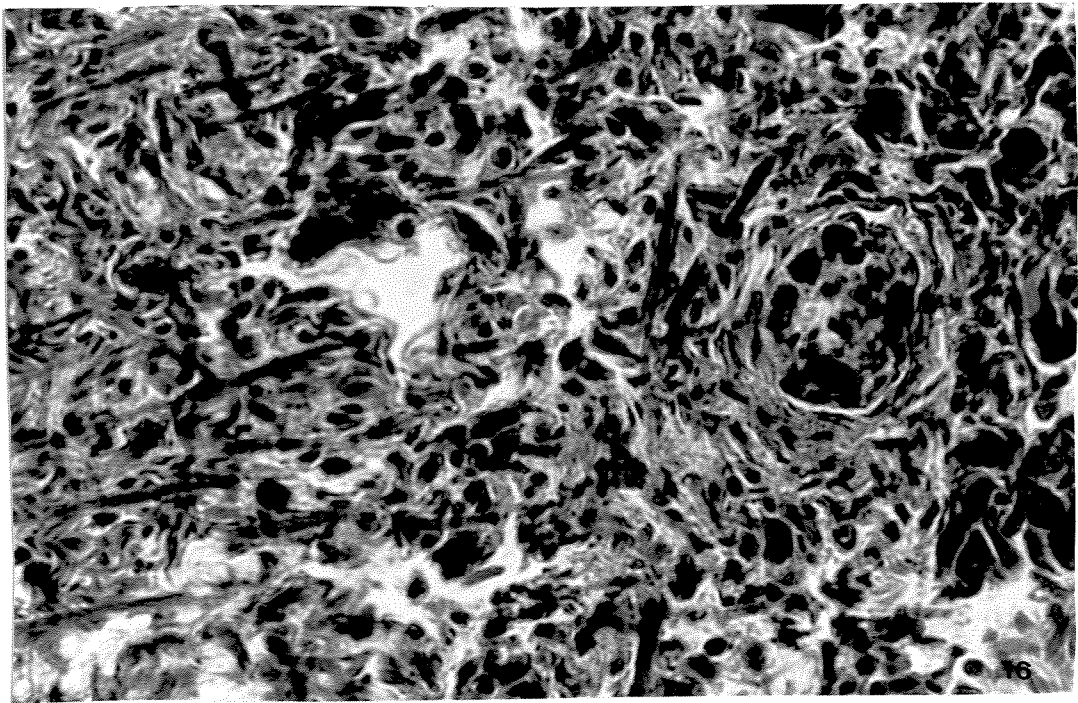


Figura 13 = Corte histológico de *B. glabrata* 24 horas após infecção. Ausência de reação amebocitária. Tricrômico de Gomori, X640.



Figs. 14 e 15 = Corte histológico de *B. tenagophylla* 30 minutos e 2 horas após infecção por *S. mansoni*. Intensa reação amebocitária, contendo múltiplas camadas de células em torno da larva.
Tricrômico de Gomori, X640.



Figuras 16 e 17 = Corte histológico de *B. tenagophila* 10 horas e 12 horas após infecção por *S. mansoni*. Intensa reação amebocitária (Figs. 16 e 17), formando uma capa de amebócitos em torno da larva (Fig. 17). Tricrômico de Gomori, X640.

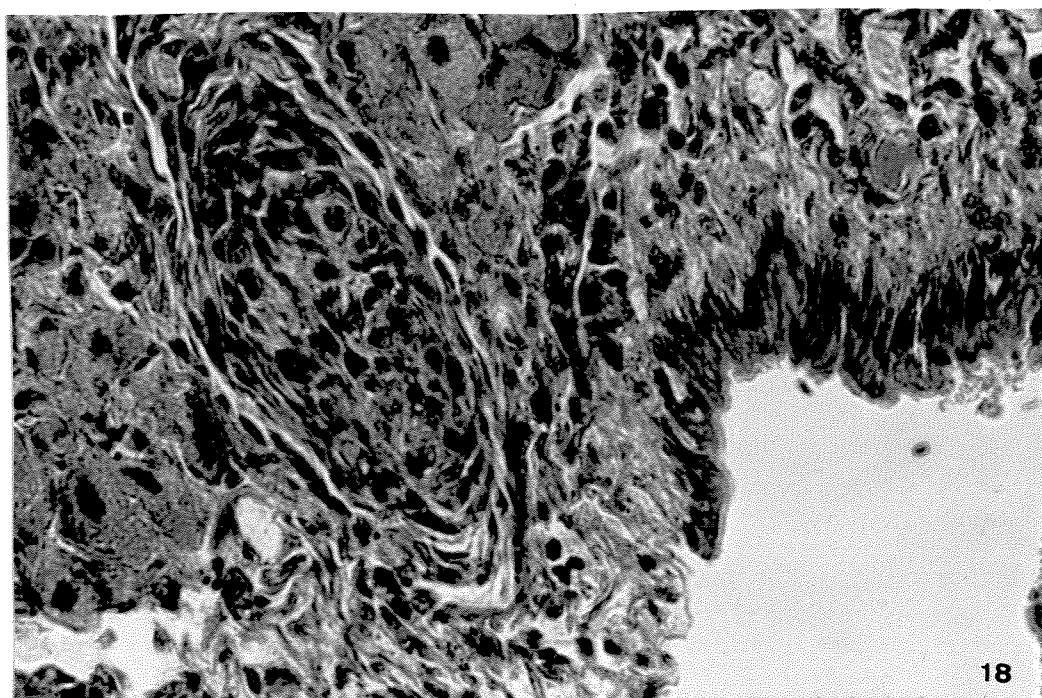


Fig. 18 = Corte histológico de *B. tenagophila* 24 horas após infecção por *S. mansoni*. Intensa reação amebocitária em torno da larva, que apresenta sinais evidentes de degeneração. Tricrômico de Gomori, X640.

3.3) MICROSCOPIA DE FASE

Para tentar analisar mais atentamente o comportamento dos amebócitos circulantes de *B. glabrata* e *B. tenagophila* e verificar quais eram as alterações morfológicas ocorridas no tempo procedemos a observação direta da hemolinfa entre lâmina e laminula sem coloração vital.

As figuras 19 a 21 mostram as variações morfológicas dos amebócitos encontradas em *B. glabrata* sadios, no intervalo de 1,24 minutos a 8,35 minutos após terem sido colocados sobre a lâmina. As figuras 22 a 24 mostram a morfologia dos amebócitos encontrados na hemolinfa de *B. glabrata* 2 horas após a infecção pelo *Schistosoma mansoni*, no intervalo de 1,40 a 8,45 minutos.

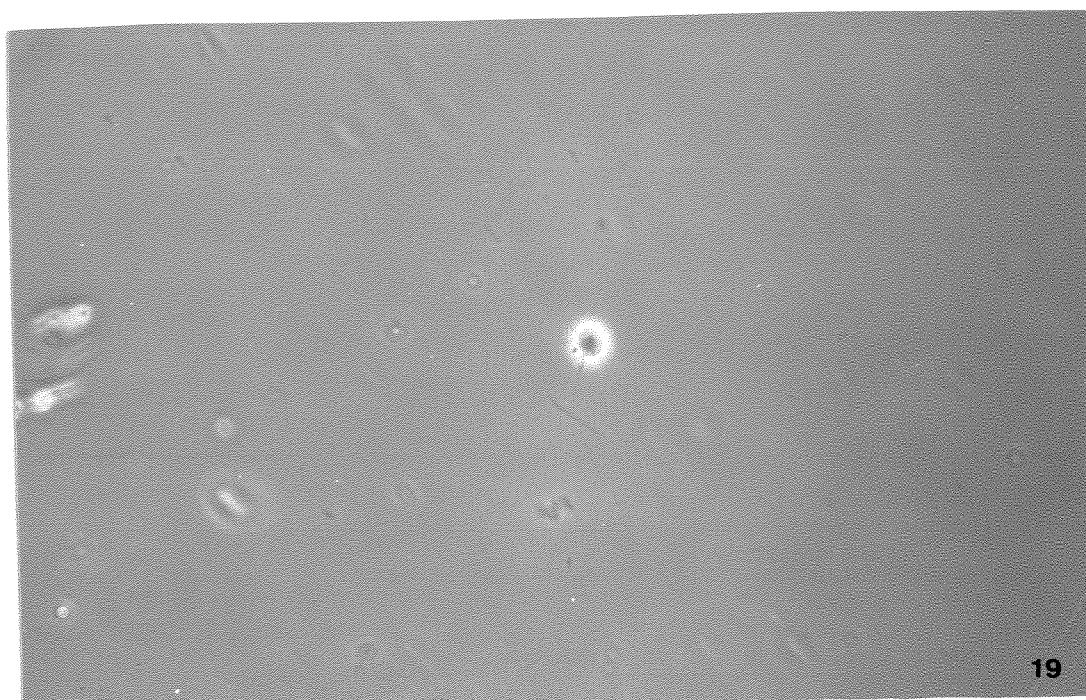
As figuras 25 a 27 mostram a variação morfológica dos amebócitos encontrados na hemolinfa de *B. tenagophila* 18 horas após a infecção pelo *Schistosoma mansoni*, no intervalo de 9,37; 12 e 22 minutos depois de ter sido colocada sobre a lâmina. As figuras 28 e 29 mostram a variação morfológica dos amebócitos encontrados na hemolinfa de *B. tenagophila* sadios nos intervalos de 10,55 e 12 minutos depois de ter sido colocada sobre a lâmina.

Pudemos observar que os amebócitos de *B. glabrata* e *B. tenagophila* sadios ou infectados sofreram alterações morfológicas no tempo. Tais alterações poderiam ser resumidas em quatro etapas: na primeira, imediatamente após a hemolinfa ter sido colocada sobre a lâmina, os amebócitos apresentaram-se na maioria das vezes redondos, sem prolongamentos citoplasmáticos; na segunda, passados alguns minutos, os amebócitos começavam a

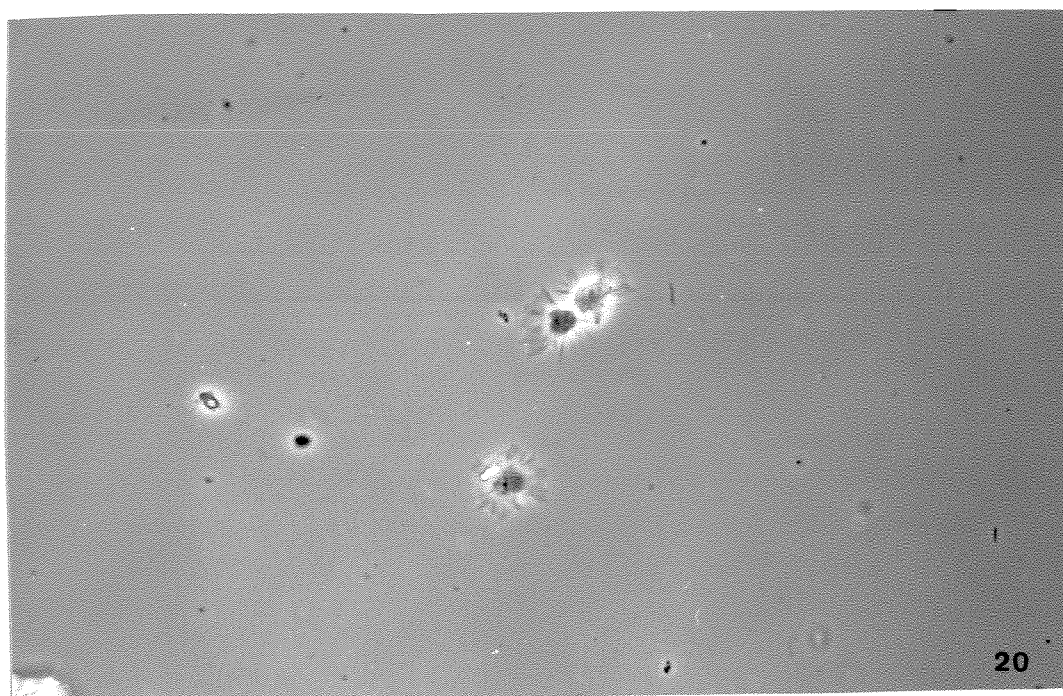
emitir pequenos pseudópodos (Figura 22); na terceira, após mais alguns minutos, os amebócitos estavam parcialmente espraiados, os pseudópodos alongavam-se e aumentavam em número (Figuras 21 e 28); na quarta os amebócitos estavam bem espraiados, dominando grande parte do campo, o número de prolongamentos citoplasmáticos era muito grande, as células aumentavam de tamanho, seus grânulos eram bem visíveis e em alguns casos, agrupavam-se umas às outras (Figuras 20 e 27).

Como podemos observar nas figuras 25 a 27, tanto os amebócitos "estrelados" como os "não estrelados" das *B. tenagophila* infectadas pareceram ser maiores em tamanho que os amebócitos das *B. glabrata* infectadas e sadias e *B. tenagophila* sadias (Figuras 19 a 24; 28 e 29).

Os amebócitos "estrelados" apresentaram uma variação morfológica maior que os amebócitos "não estrelados" (Figuras 21, 23, 24, 26, 27) na hemolinfa de ambas as espécies de moluscos.



19



20

Figs. 19 e 20 = Morfologia dos amebócitos circulantes de *B. glabrata*, na ausência de infecção por *S. mansoni*, 1,24 minutos e 5 minutos após o contato com a lâmina. Início da formação de pseudópodos (Fig. 19); agrupamento de amebócitos (Fig. 20). Ausência de coloração vital, X480.

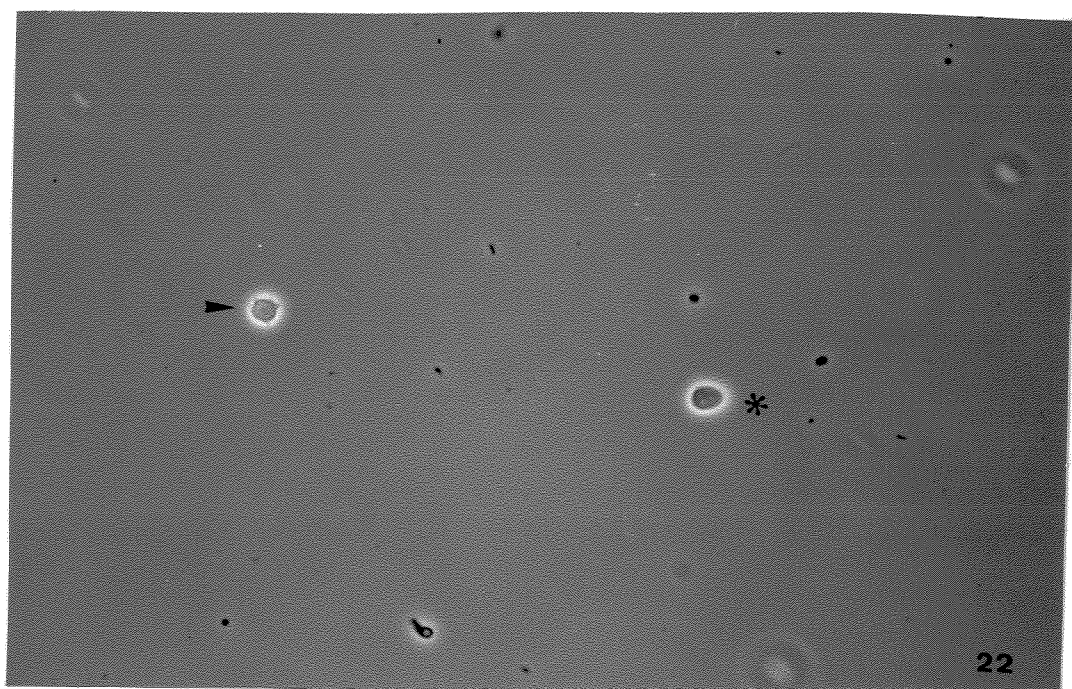
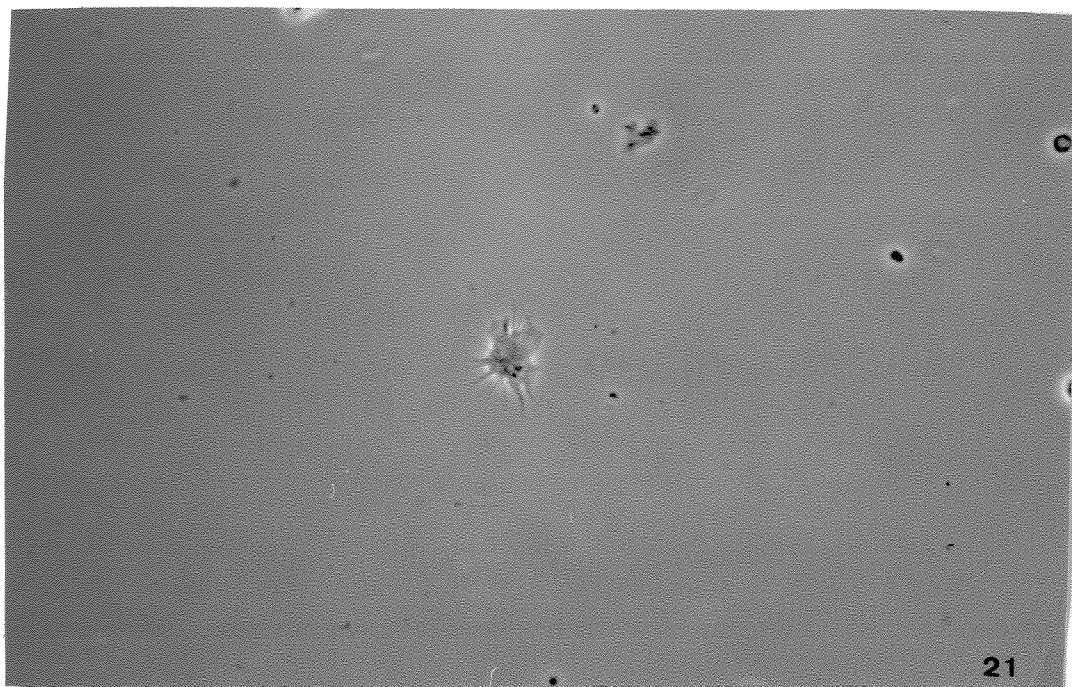
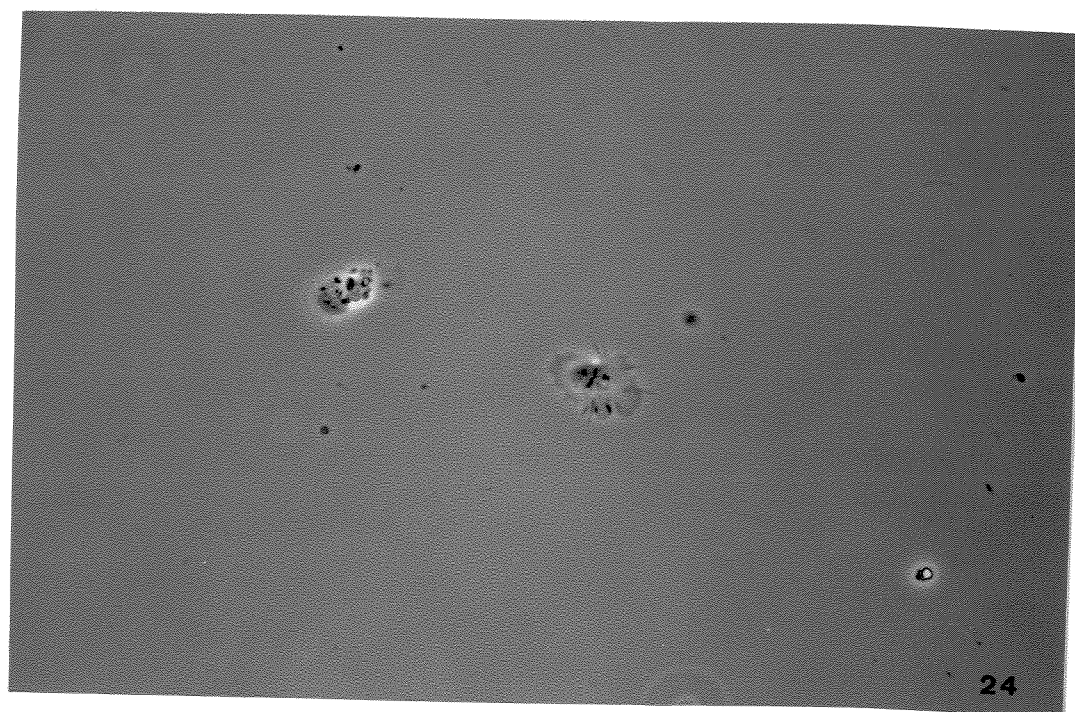
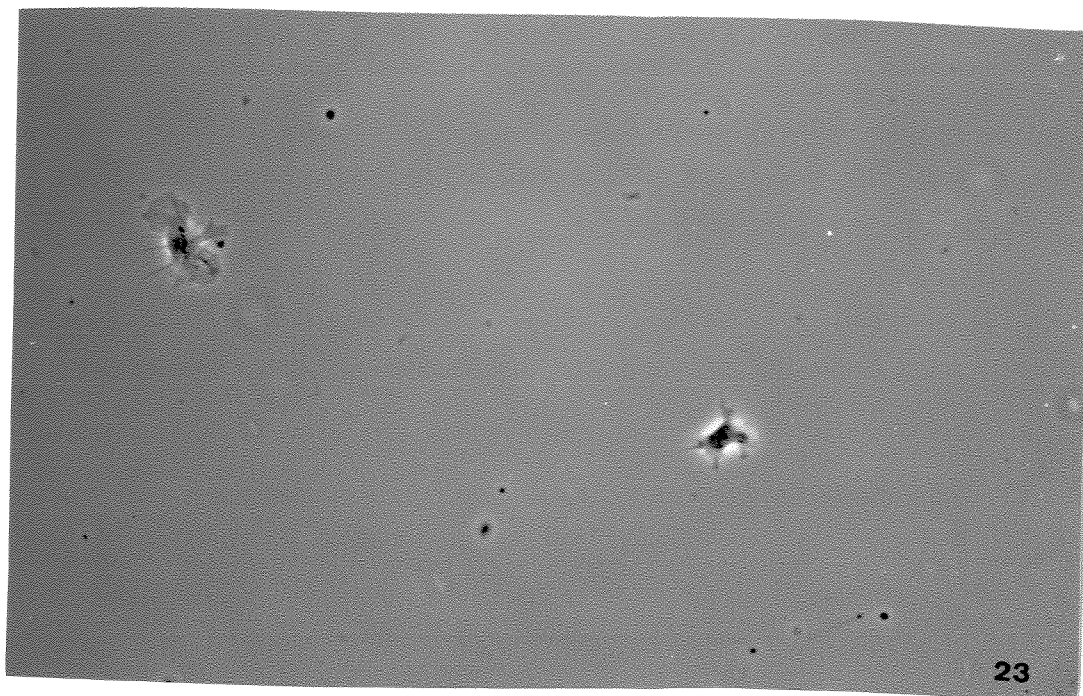


Fig. 21 = Morfologia dos amebócitos circulantes de *B. glabrata*, na ausência de infecção por *S. mansoni*, 8,35 minutos após o contato com a lâmina. Amebócito "estrelado", com muitos pseudópodos. Fig. 22 = Morfologia dos amebócitos circulantes de *B. glabrata* infectadas por *S. mansoni*, 1,40 minutos após o contato com a lâmina. Amebócito redondo, sem prolongamentos citoplasmáticos ("não estrelado") *, Amebócito começando a emitir pseudópodos (seta). Ausência de coloração vital, X530, X480.



Figs. 23 e 24 = Morfologia dos amebócitos circulantes de *B. glabrata* infectadas por *S. mansoni*, 5 minutos e 8,45 minutos após o contato com a lâmina. Amebócitos espralados, com grânulos visíveis, e grande número de prolongamentos citoplasmáticos. Ausência de coloração vital, X480, X560.

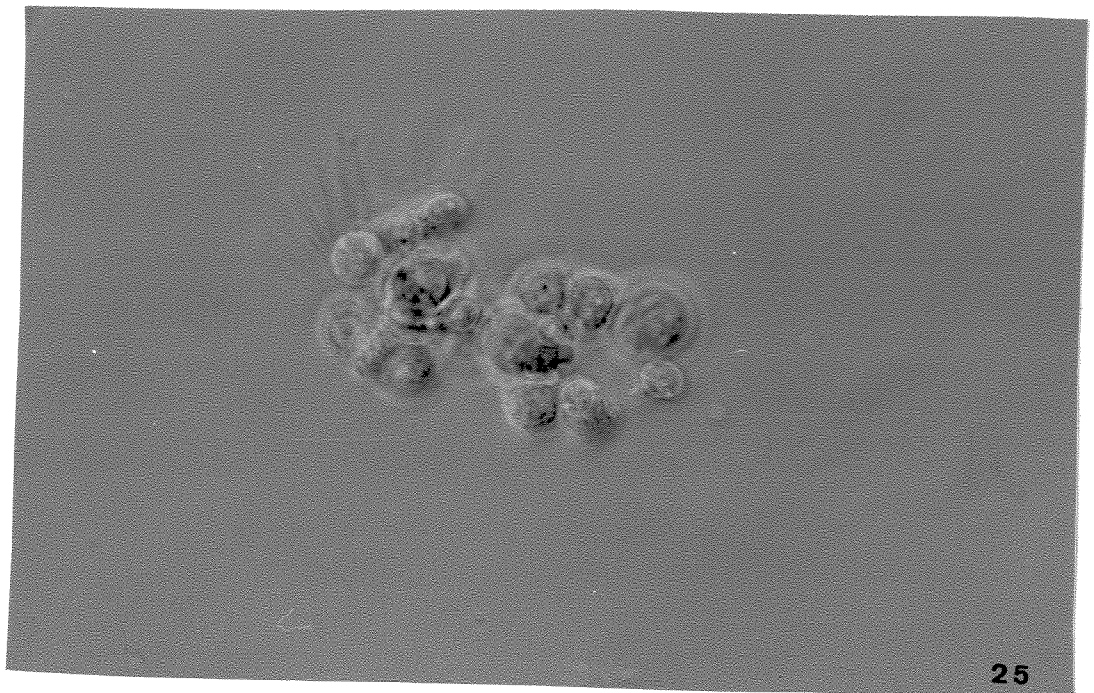
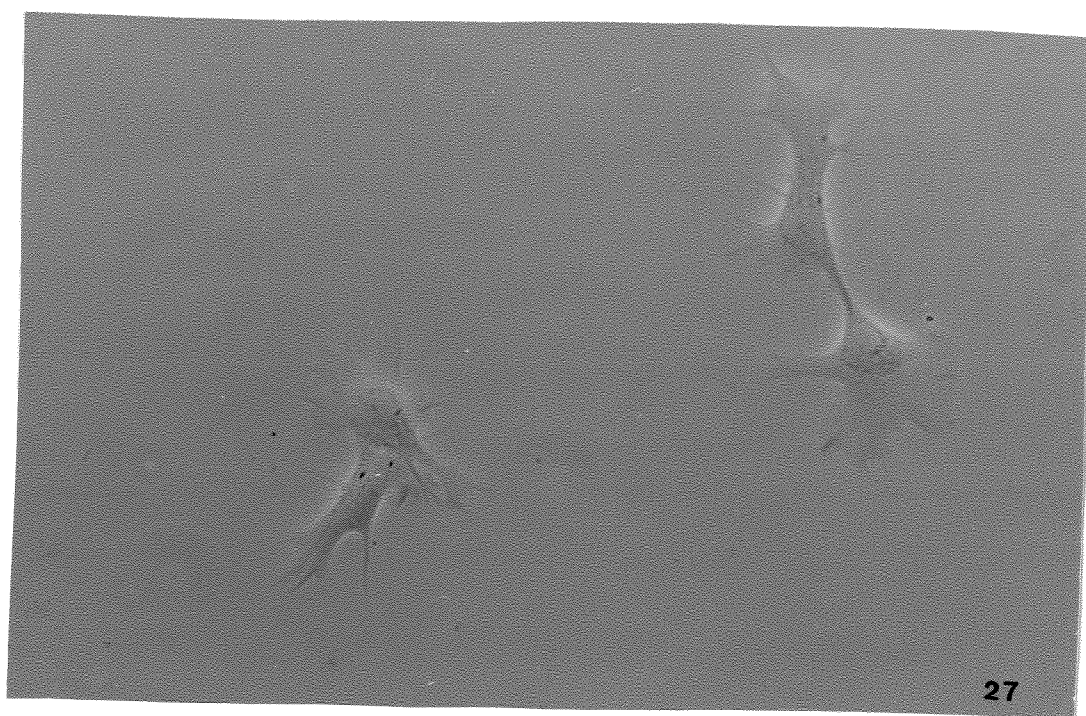
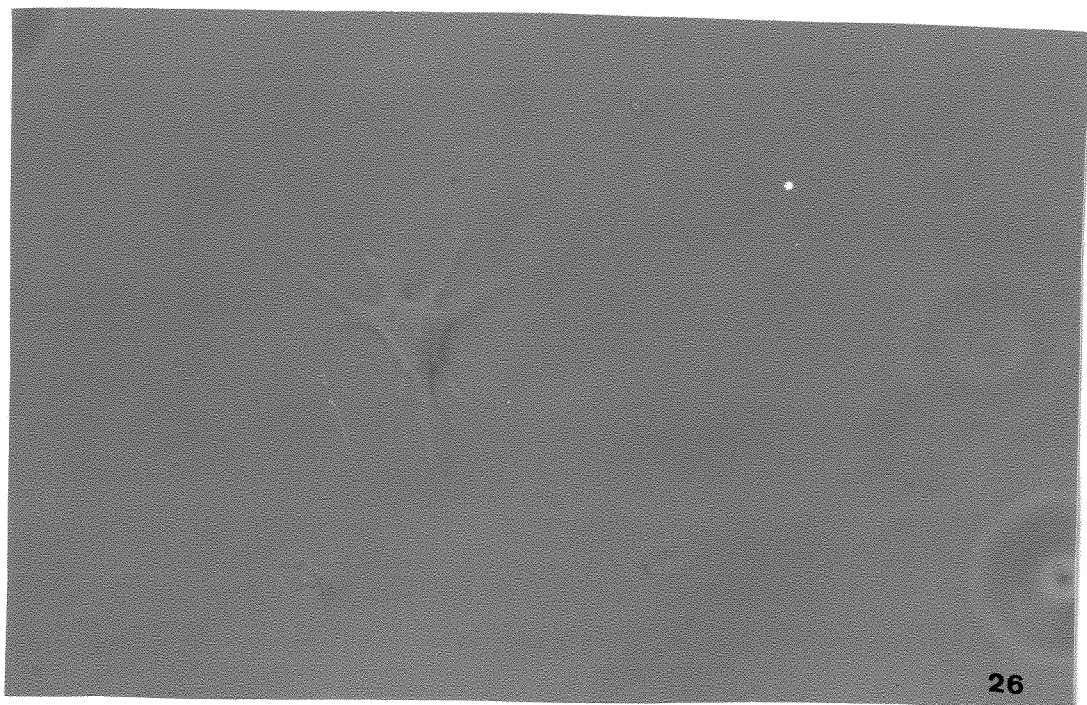
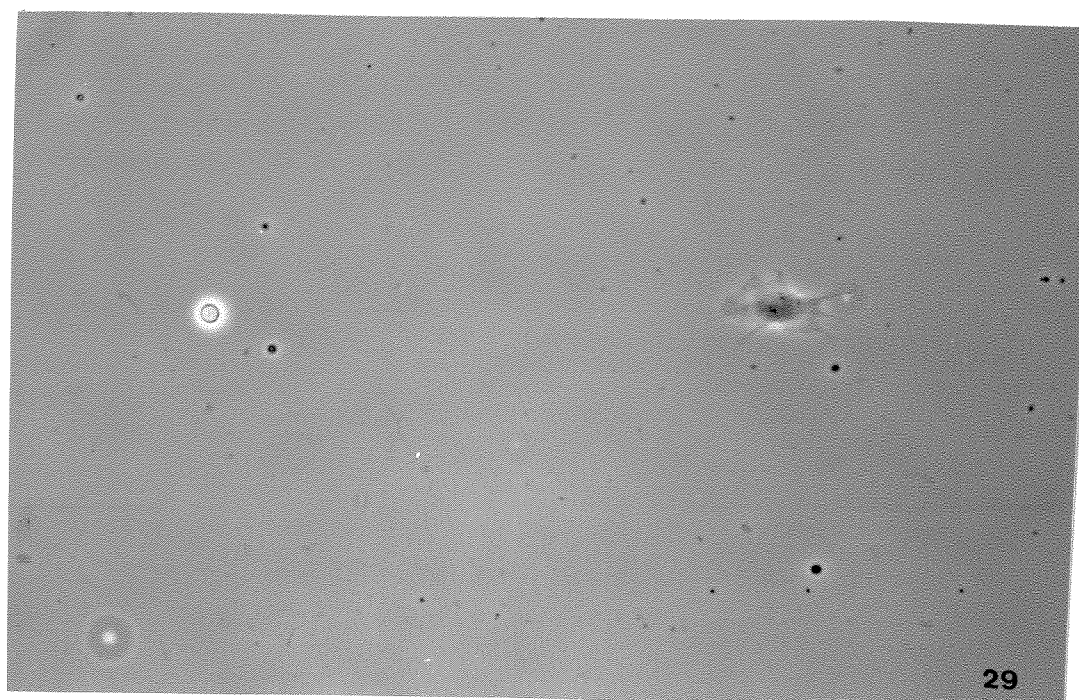
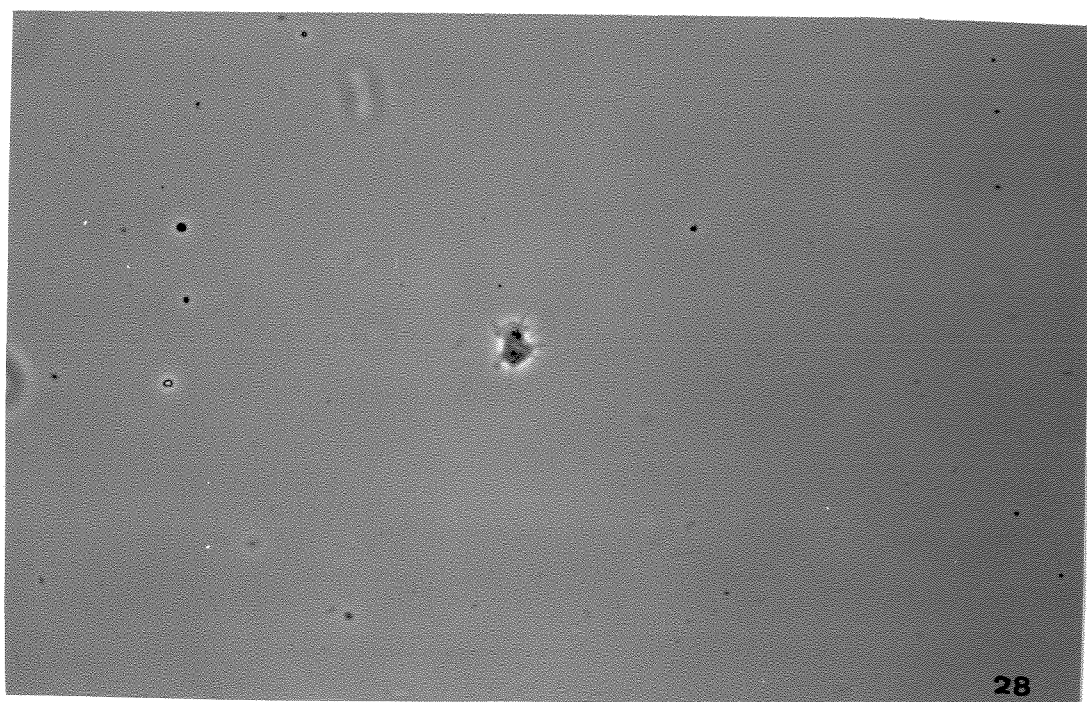


Fig. 25 = Morfologia dos amebócitos circulantes de *B. tenagophila* infectadas por *S. mansoni* 9,37 minutos após o contato com a lâmina. Agrupamento de vários amebócitos. Ausência de coloração vital, X700.



Figs. 26 e 27 = Morfologia dos amebócitos circulantes de *B. tenagophila* infectadas por *S. mansoni* 12 minutos e 22 minutos após o contato com a lâmina. Amebócito "estrelado", com pseudópodos longos (Fig. 26); agrupamento de amebócitos "estrelados". Ausência de coloração vital, X700, X600.



Figs. 28 e 29 = Morfologia dos amebócitos circulantes de *B. tenagophila*, na ausência de infecção por *S. mansoni*, 10,55 minutos e 12 minutos após o contato com a lâmina. Amebócitos "estrelados", com prolongamentos citoplasmáticos evidentes, e tamanho menor que os amebócitos de *B. tenagophila* infectadas. Ausência de coloração vital, X620, X640.

4) DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

4.1) AVALIAÇÃO CINÉTICA DO NÚMERO DE AMEBÓCITOS CIRCULANTES EM *B. glabrata* E *B. tenagophila*

4.1.1) INFECÇÃO PELO *Schistosoma mansoni*

Verificamos que em moluscos *Blomphalaria glabrata* submetidos à infecção por miracidios da linhagem BH de *Schistosoma mansoni* (Figura 1) ocorreu um aumento brusco inicial dos amebócitos circulantes. O aumento do total de amebócitos deveu-se principalmente aos amebócitos "não estrelados". Os amebócitos "estrelados" não apresentaram alterações significativas. O fato de não ter havido variações significativas do número de amebócitos "estrelados", células que exercem função de fagocitose, parece explicar a maior susceptibilidade desses moluscos à infecção pelo *S. mansoni*.

O perfil de variação cinética dos amebócitos observado nos moluscos *B. glabrata* submetidos à infecção pelo *S. mansoni* faz lembrar o que ocorre em reações inflamatórias em vertebrados. Houve um aumento brusco de células entre 30 minutos e 2 horas após a infecção. Por volta de 8 horas o número de ambos os tipos de amebócitos decresceu, atingindo o nível semelhante ao observado antes da infecção. Esse aumento brusco de amebócitos circulantes em *B. glabrata*, chamados por alguns autores de "leucocitose" é um fenômeno resultante da infecção parasítica Stumpf, J. L. & Gilbertson, D. E., 1978, observaram um aumento no

número de amebócitos circulantes em *B. glabrata* susceptível, 2 horas após a infecção pelo *S. mansoni*, o que coincide com os nossos resultados, pois obtivemos um pico de células circulantes nesse período.

Granath & Yoshino, 1983, verificaram em *B. glabrata* da linhagem PR albina (susceptível), um aumento precoce de amebócitos circulantes e após 1 hora da infecção, uma diminuição brusca, atingindo o valor inicial por volta de 24 horas. Como podemos observar na Figura 1, obtivemos resultados semelhantes em *B. glabrata* infectadas por *S. mansoni*. Em nosso trabalho encontramos um pico de amebócitos circulantes às 2 horas, o que possivelmente seria encontrado pelos referidos autores se tivessem analisado tal período.

Na figura 5 verificamos que em *B. tenagophila* infectadas por *S. mansoni* o aumento foi tardio, ocorrendo entre 12 a 20 hs após a exposição aos miracidios. Esse aumento ocorreu principalmente devido aos amebócitos "estrelados". O aumento tardio de amebócitos na hemolinfa circulante pode ter sido devido à requisição precoce dessas células para o combate aos esporocistos nos tecidos (Loker et al., 1982).

O perfil de variação dos amebócitos encontrado em *B. tenagophila* sugere especificidade da resposta ao parasita, se comparado aos demais estímulos observados nas duas espécies de moluscos.

Nossos resultados parecem ter alguma semelhança com os obtidos por Granath & Yoshino, 1983, em *B. glabrata* da linhagem 10 R-2 (resistentes). Tais moluscos apresentaram uma diminuição

do número de amebócitos circulantes após 1 hora da infecção pelo *S. mansoni*, seguido por um aumento gradual de células. Os autores defendem a hipótese de ter ocorrido a requisição e migração das células para os tecidos danificados.

4.1.2) REAÇÃO A FRATURA DA CONCHA:

Tanto na *Blomphalaria glabrata* como na *Blomphalaria tenagophila* não houve alterações significativas no número de amebócitos circulantes. Este resultado faz-nos pensar que, apesar de sabermos que os amebócitos são os responsáveis pelo transporte de cálcio, visando o reparo da fratura, de duas uma, ou não sofrem estímulo de aumento do número de células ou esse aumento e consequentemente esse transporte, ocorreriam após o período do experimento (Figuras 2 e 6).

A oscilação observada pode ter relação com a requisição das células para o transporte de cálcio. Nesse caso, como houve grande oscilação nos dois tipos de células é difícil afirmar que somente os "não estrelados" são requisitados. Na literatura há indicações de que são os hialinócitos as células responsáveis pelo transporte de cálcio. Estas células corresponderiam mais ao que chamamos de amebócitos "não estrelados".

Segundo Ratcliffe et. al., 1985; Wagge, 1951; Wagge & Mittler, 1953, os amebócitos transportam cálcio para o local danificado para o processo de cicatrização e reparo tecidual, iniciando-se pela migração celular e constrição muscular.

4.1.3) REAÇÃO DOS MOLUSCOS PLANORBÍDEOS A INOCULAÇÃO DE TINTA NANQUIM:

Em *Blomphalaria glabrata* observou-se um aumento inicial de amebócitos totais devido principalmente aos "não estrelados" lembrando o tipo de reação observada quando os moluscos eram infectados por *S. mansoni*, sendo que no caso da inoculação de tinta Nanquim o aumento inicial dos amebócitos prolongam-se por mais duas horas (Figuras 3 e 7). A semelhança encontrada entre o perfil de variação dos amebócitos circulantes de ambos os grupos sugere a não existência de especificidade nos dois casos.

Em *Blomphalaria tenagophila* observou-se também um aumento dos amebócitos totais, também devido aos amebócitos "não estrelados". É interessante ressaltar que em *B. tenagophila* a reação observada à tinta Nanquim foi diferente à observada após a infecção por *S. mansoni*. No caso da infecção por *S. mansoni*, o aumento dos amebócitos totais deveu-se principalmente aos amebócitos "estrelados".

A tinta Nanquim pode ser considerada como inerte para os moluscos, e foi usada também como controle da infecção pelo *S. mansoni*, para comparar o comportamento dos amebócitos ocorrido frente à uma matéria viva (parasita) com o ocorrido frente à uma matéria inerte.

4.1.4) REAÇÃO DOS MOLUSCOS PLANORBÍDEOS A INJEÇÃO SIMULADA

No caso da injeção simulada, em ambas as espécies de moluscos houve um aumento inicial de amebócitos totais devido principalmente aos amebócitos "não estrelados".

As oscilações encontradas parecem ter decorrido simplesmente da reação de cicatrização da ferida provocada pela agulha da injeção.

4.1.5) CONCLUSÃO GERAL:

Observando-se em conjunto os quatro tipos de estímulo aos quais foram submetidos os moluscos, observa-se que somente no caso da infecção de *Schistosoma mansoni* em *B. tenagophila* parece ter havido mobilização de amebócitos "estrelados". Exatamente essa espécie de molusco é que apresenta a maior resistência à infecção, o que sugere especificidade ao parasita.

4.2) AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DAS REAÇÕES TECIDUAIS AO *Schistosoma mansoni* EM MOLUSCOS PLANORBÍDEOS

Em *Biomphalaria glabrata* verificamos um baixo índice de reação amebocitária em torno da larva, principalmente nos períodos de 18 a 24 horas após a infecção por *S. mansoni*, quando observamos miracídios ou esporocistos primários íntegros, isolados do tecido adjacente. Na maioria dos cortes observou-se

ausência de reação amebocitária.

No intervalo de 30 minutos e 2 horas após a infecção de *B. glabrata* por *S. mansoni* encontramos alguns poucos casos de reação amebocitária circundando a larva, mas muitas vezes, no mesmo corte observávamos miracidios livres de qualquer reação tecidual (Figuras 9 e 10).

Já em *B. tenagophila* encontramos resultados diferentes de *B. glabrata*. Observamos a existência de reação amebocitária intensa desde os primeiros intervalos de tempo após a infecção por *S. mansoni* (30 minutos, 2 horas) até o período de 24 horas, quando era muito raro o encontro de esporocistos integros com possibilidade de sobrevivência (Figura 18).

Nossos resultados coincidem com a literatura pre-existente sobre a avaliação histopatológica em moluscos planorbídeos infectados por *S. mansoni*. Guaraldo, A. M. et al., 1981, estudando a evolução dos esporocistos de *S. mansoni* em *B. glabrata* e *B. tenagophila* através de cortes histológicos realizados nos intervalos entre a primeira e a oitava semanas após a infecção, observaram esporocistos primários integros com ausência de reação amebocitária e esporocistos primários degenerados. Os amebócitos formavam em torno da larva um típica reação granulomatosa, isolando-a praticamente do tecido adjacente. Segundo os autores, a *B. glabrata* apresentou maior número de esporocistos primários viáveis sendo que em *B. tenagophila* observaram um predomínio de esporocistos degenerados.

Nossos achados evidenciam que já no primeiro dia de infecção pelo *Schistosoma mansoni* podemos encontrar reações

amebocitárias em torno das larvas. Eram típicas reações granulomatosas, principalmente em *B. tenagophila*.

Esses moluscos apresentaram, logo nos intervalos iniciais, uma reação amebocitária intensa, havendo predomínio de miracídios ou esporocistos degenerados nos intervalos de 18 e 24 horas após a infecção, quando observamos uma capa de amebócitos envolvendo a larva (Figura 17). Os esporocistos apresentavam núcleos picnóticos, células em degeneração e demais sinais de inviabilidade (Figura 18).

Quando resolvemos realizar os cortes histológicos das duas espécies de moluscos submetidos à infecção por *S. mansoni* tínhamos por meta principal tentar estabelecer uma correlação entre os perfis de variação cinética dos amebócitos circulantes com a avaliação histopatológica.

Nesse sentido, podemos destacar alguns aspectos interessantes que observamos nessa correlação: 1) Em *B. tenagophila* obtivemos inicialmente uma diminuição do número de amebócitos circulantes, a qual atribuímos à uma possível migração dessas células para os tecidos visando o combate aos esporocistos. Este fato ficou evidenciado pelas reações teciduais que encontramos nos períodos de 30 minutos e 2 horas após a infecção pelo *S. mansoni*; 2) Curiosamente, no período de 18 horas após a infecção em *B. tenagophila* observamos, ao mesmo tempo, um pico dos amebócitos circulantes, sobretudo dos "estrelados", e uma intensa reação amebocitária em torno da larva. Provavelmente o estímulo do APO (orgão produtor de amebócitos) seja contínuo a partir do contato inicial das células requisitadas para o tecido com o esporocisto. Ao mesmo tempo que ocorre uma estimulação do

APO, provocando a produção de amebócitos que reajem ao parasita, deve ocorrer também o retorno dos amebócitos "estrelados" à circulação, o que tornaria mais eficiente a resposta imune do molusco à infecção. Na verdade, não deve se tratar de fenômenos isolados, pois no decorrer da infecção o APO é estimulado a produzir mais células, provavelmente mais amebócitos "estrelados", que se dirigiriam à circulação e ao mesmo tempo continuaria ocorrendo a reação no tecido e, havendo a necessidade de mais células, o APO seria novamente estimulado, e assim sucessivamente; 3) Em *B. glabrata* infectadas por *S. mansoni* não observamos uma correlação significativa entre a variação do número de amebócitos circulantes e a reação tecidual. No período de 30 minutos e 2 horas após a infecção pelo *S. mansoni*, quando ocorre o pico de amebócitos circulantes observamos na maioria dos cortes a presença de discreta reação amebocitária e pouquíssimos casos de reação amebocitária intensa. Nos demais períodos, 10, 18 e 24 horas verificamos praticamente ausência de reação amebocitária em torno da larva, períodos em que observamos diminuição gradativa do número de amebócitos circulantes, atingindo valor semelhante ao inicial, na ausência de infecção.

4.3) MORFOLOGIA DOS AMEBÓCITOS CIRCULANTES DE *B. glabrata* E

B. tenagophila:

A morfologia dos amebócitos circulantes parece variar no tempo, como pudemos observar nas Figuras 19 a 29 referentes às fotos obtidas por microscopia de fase, examinando-se a hemolinfa imediatamente após ser colocada entre lâmina e laminula, na ausência de coloração.

Não sabemos se existem realmente dois ou três tipos de células, como descritos na literatura, ou seja, os granulócitos, mais próximos dos nossos "estrelados", hialinócitos, que correspondem mais aos nossos "não estrelados" e um terceiro tipo descrito por Noda & Loker, 1989.

Talvez as alterações morfológicas dependam do micro-ambiente, da estimulação sofrida, de alterações de pH, concentração de íons, temperatura, etc. Nos pareceu claro que ocorra a transformação dos amebócitos redondos, sem prolongamentos citoplasmáticos evidentes, os "não estrelados" para "estrelados", amebócitos que contêm grânulos em seu interior, com formação de pseudópodos de diversos tamanhos e formas. Quando colocávamos a hemolinfa sobre a lâmina e deixávamos passar 30 a 35 minutos observávamos que a maioria dos amebócitos haviam se espralado, de modo semelhante aos macrófagos de vertebrados, sendo que poucos amebócitos "não estrelados" eram encontrados. Observamos também células pequenas, que podem corresponder ao terceiro tipo descrito na literatura.

Apesar dos resultados encontrados não podemos afirmar

com certeza de que uma célula se transforma na outra ou que essas populações de células teriam uma origem comum.

Sabe-se que estas células possuem funções diferentes. Os chamados "granulócitos" são os responsáveis pela fagocitose (Jeong & Heyneman, 1976), sabe-se também que há liberação de substâncias citotóxicas à distância.

Segundo Jourdan & Cheng, 1983, os amebócitos chamados de "hialinócitos" atuariam clivando o material estranho, principalmente através da liberação de enzimas lisossomais, preparando o antígeno, e possivelmente apresentando-o para os chamados "granulócitos", que procederiam a fagocitose que teria seu início na fase de reconhecimento "self - non self" mediada por receptores.

De acordo com Sminia et al., 1987, a interação amebócito - corpo estranho seria mediado por lectinas que estabeleceriam uma ponte entre o carboidrato da célula com o antígeno.

Para maiores esclarecimentos sobre essas alterações morfológicas seria conveniente a utilização de técnicas histoquímicas e imunohistoquímicas. O estudo bioquímico dos receptores dessas células, principalmente em *B. tenagophila* auxiliaria o entendimento dessas alterações morfológicas, verificando se estas alterações corresponderiam à diferentes funções biológicas, fisiológicas e imunológicas.

Poderíamos resumir as alterações morfológicas dos amebócitos encontradas em *B. glabrata* e *B. tenagophila* infectadas por *S. mansoni* nas quatro fases descritas por Morona et al.,

1984. Na primeira fase foram encontradas células globulares mostrando baixa adesão à lâmina de vidro; na segunda, células achatadas em contato com o substrato, as quais apresentaram duas zonas citoplasmáticas bem diferenciadas: um endoplasma no qual o núcleo está inserido e um ectoplasma que se estende em filopódios finos com um bulbo terminal externo; na terceira fase, foram encontradas células muito achatadas e com tendência a aderirem umas às outras; na quarta fase, as células estavam completamente espraladas na lâmina de vidro, e o ectoplasma inclui filopódios. Segundo Morona et. al., 1984, estes quatro estágios provavelmente representem os estágios ontogenéticos dos "granulócitos" em seu papel na defesa celular contra corpos estranhos. Obtivemos modificações semelhantes nos amebócitos circulantes desses moluscos, como podemos observar nas Figuras 20, 21, 22, 27 e 28.

Comparando os resultados obtidos em *Blomphalaria glabrata* e *Blomphalaria tenagophila* pudemos concluir que estes moluscos apresentam comportamentos amebocitários diferentes frente aos diversos estímulos utilizados, sobretudo no que se refere à infecção pelo *Schistosoma mansoni*, sugerindo especificidade ao parasita. Quando submetidos à infecção por *S. mansoni*, moluscos *B. glabrata* apresentaram aumento imediato dos amebócitos circulantes, enquanto que moluscos *B. tenagophila* apresentaram aumento tardio em relação ao ocorrido em *B. glabrata*, sugerindo uma mobilização prévia para os tecidos. Tais resultados foram confirmados pela avaliação histopatológica, mostrando uma grande incidência de reações amebocitárias intensas em torno da larva, nos moluscos *B. tenagophila*, já nos períodos iniciais após a infecção. No intervalo de 24 horas foram

observados vários esporocistos fragmentados e pouquíssimos esporocistos inteiros, na sua maioria inviáveis. O mesmo não ocorreu em *B. glabrata*, que apresentou baixa incidência de reações amebocitárias em torno da larva no período inicial. No período de 24 horas após a infecção observamos praticamente ausência de reação, observando-se a presença de esporocistos viáveis.

4.4) RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho teve por objetivos principais:

- 1) Estudar a reação amebocitária "in vivo" dos moluscos planorbídeos *B. glabrata* e *B. tenagophila*, frente à infecção pelo *S. mansoni*, à inoculação de tinta Nanquim e à fratura da concha;
- 2) Verificar os tipos de células envolvidas em cada uma das situações;
- 3) Verificar as alterações morfológicas dos amebócitos circulantes no tempo, após a exposição dos miracídios de *S. mansoni*, de linhagens simpátricas aos moluscos, e na ausência de infecção.

Foram formados cinco grupos experimentais de cada uma das bionfalárias: infectadas pelo *S. mansoni*, não infectadas, inoculadas com tinta Nanquim, submetidas à injeção simulada, e à fratura da concha.

Observando-se em conjunto os quatro tipos de estímulo aos quais foram submetidos os moluscos, observa-se que somente no

caso da infecção pelo *S. mansoni* em *B. tenagophylla* parece ter havido mobilização dos amebócitos "estrelados". Exatamente essa espécie de molusco é que apresenta maior resistência à infecção, o que sugere especificidade ao parasita.

Posteriormente procedemos uma avaliação histopatológica dos moluscos, com o objetivo de verificar a presença ou ausência de reações amebocitárias em torno da larva de *S. mansoni*, verificando se existiria uma correlação entre a variação do número de amebócitos circulantes e a reação tecidual. Verificamos que em *B. tenagophylla* houve uma grande incidência de reações amebocitárias intensas (por volta de três a sete camadas de amebócitos) em torno da larva, já nos intervalos de 30 minutos e 2 horas. O mesmo não ocorreu em *B. glabrata*, que apresentou baixo índice de reações amebocitárias neste período, e no intervalo de 24 horas encontramos um número razoável de esporocistos viáveis com total ausência de reação amebocitária. Em *B. tenagophylla*, no intervalo de 18 horas observamos a formação de uma capa de amebócitos, e no intervalo de 24 horas, puquíssimos esporocistos íntegros foram encontrados.

Observamos a morfologia dos amebócitos circulantes através de microscopia de fase. Verificamos que a morfologia dos amebócitos parece variar no tempo, após o contato com a lâmina. Num primeiro momento encontramos células redondas, sem prolongamentos citoplasmáticos visíveis, e ao longo do tempo tais prolongamentos começavam a surgir, dando à célula o aspecto "estrelado". Observamos que tanto os amebócitos "estrelados" como os "não-estrelados" de *B. tenagophylla* pareceram ser maiores que os amebócitos das *B. glabrata* infectadas e sadias.

Comparando os resultados obtidos em *B. glabrata* e *B. tenagophila* pudemos concluir que esses moluscos apresentam comportamentos amebocitários diferentes frente aos diversos estímulos utilizados, sobre tudo no que se refere à infecção pelo *Schistosoma mansoni*, sugerindo especificidade ao parasita.

5) REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ABDUL - SALAM, J. M. & MICHELSON, E. H. - *Blomphalaria glabrata* amebocytes : Effects of *Schistosoma mansoni* Infection on In vitro phagocytosis. J. Invert. Pathol. 35: 241 - 248, 1980 a.
- ABDUL - SALAM, J. M. & MICHELSON, E. H. - *Blomphalaria* amebocytes : assay of factors influencing In vitro phagocytosis. J. Invert. Pathol. 36: 52 - 59, 1980b.
- ALMEIDA MACHADO, P. The Brazilian Program of Schistosomiasis Control 1975 - 1979 - Am. J. Trop. Med. Hyg. 31 : 76 - 86, 1982.
- ANDERSON, R.S.; HOLMES, B. & GOOD, R.A. - Comparative biochemistry of phagocytting insect hemocytes. Comp. Biochem. Physiol. 46: 595 - 602, 1973.
- BABIOR, B.M. - Oxigen - dependent killing by phagocytes. The New England J. Medicine 298 (12): 659 - 668, 1978.

BACHERE, E.; CHAGOT, D. & GRIZEL, H. Use of percoll gradients and centrifugal elutriation for separation of oyster hemocytes. Dev. Comp. Immunol.(ISDCI) Invert. Immunol. Conference, Berlin, 1986 (in press).

BALAN, D.S.L.; SANTANA, J. V.; MAGALHÃES, L. A. & RANGEL, H. A. Estudo da resistência apresentada por moluscos infectados por larvas de Digenea à infecção pelo *Schistosoma mansoni*. Resumos da 38ª Reunião Anual da SRBC - Curitiba 991: 25 - 6.1.9, 1986.

BARRETO, A.C. Schistosomiasis mansoni in the city of Salvador, Bahia. Studies on the vector, host-parasite relationships and epidemiological aspects. Bol. Fund. Gonçalo Moniz, Bahia, 16: 1 - 80, 1960.

BAYNE, C.J.; BUCKLEY, P.M. & DE WAN, P.C. - Macrophage - like hemocytes of resistant *Biomphalaria glabrata* are cytotoxic for sporocysts of *Schistosoma mansoni* in vitro. J. Parasitol. 66 (3): 413 - 419, 1980 a.

BAYNE, C.J.; BUCKLEY, P.M. & DE WAN, P.C. - Cytotoxicity of hemocytes from susceptible snail hosts for sporocysts in plasma from resistant *Biomphalaria glabrata*. Exp. Parasitol. 50: 409 - 416, 1980 b.

- BAYNE, C.J. & STEPHENS, J.A. - *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria glabrata* share epitopes: Antibodies to sporocysts bind host snail hemocytes. J. Invert. Pathol. 42: 221 - 223, 1983.
- BAYNE, C.J.; LOKER, E.S. & YUI, M.A. - Interactions between the plasma proteins of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda) and the sporocyst tegument of *Schistosoma mansoni* (Trematoda). Parasitol. 92: 653 - 664, 1986.
- BRIDE, M.; BARRE, P. & GRIFFOND, B. - Fibronectin and ovotestes development in the snail *Helix aspersa*: comparative immunology. Abstract ISDCI conference; Reims, 1985. Dev. Comp. Immunol. 10: 117, 1986.
- CLARK, R.A. & SZOT, S. - The myeloperoxidase - hydrogen peroxide - halide system as effector of neutrophil - mediated tumor cell cytotoxicity. J. Immunol. 126 (4): 1295 - 1301, 1981.
- CHENG, T.C. - Functional morphology and biochemistry of molluscan phagocytes. Am. N. Y. Acad. Sci. 266, 343 - 379, 1975.

CHENG, T.C.; RODRICK, G.E.; FOLEY, D.A. & KOEHLER, S.A.
- Release of lysozyme from hemolymph cells of
Mercenaria mercenaria during phagocytosis. J. Invert.
Pathol. 25: 261 - 265, 1975.

CHENG, T.C. & YOSHINO, T.P. - Lipase activity in the
serum and hemolymph cells of the soft shelled clam,
Mya arenaria during phagocytosis. J. Invert. Pathol.
27: 243 - 245, 1976 a.

CHENG, T.C. & YOSHINO, T.P. - Lipase activity in the
hemolymph of *Blomphalaria glabrata* (Mollusca)
challenged with bacterial lipids. J. Invert. Pathol.
28: 143 - 146, 1976 b.

CHENG, T.C.; CHORNEY, M.J., YOSHINO, T.P. -
Lysozymelike activity in the hemolymph of the
Blomphalaria glabrata challenged with bacteria. J.
Invert. Pathol. 29: 170 - 174, 1977.

CHENG, T.C. & BUTLER, M.S. - Experimentally induced
elevations in acid phosphatase activity in the
hemolymph of *Blomphalaria glabrata* (Mollusca). J.
Invert. Pathol. 34: 119 - 129, 1979.

- CHENG, T.C. ET. AL. - Separation of oyster hemocytes by density gradient centrifugation and identification of their surface receptors. J. Invert. Pathol. 36 (1): 35 - 40, 1980.
- CHENG, T. C. - Internal defence mechanisms of molluscs against invading microorganisms: Personal reminiscences. Trans. Amer. Microsc. Soc. 102: 185 - 193, 1983 a.
- CHENG, T.C. - The role of lysosomes in molluscan inflammation. Amer. Zool. 23: 129 - 144, 1983 b.
- CHENG, T.C. - Triggering of immunologic defence mechanisms of molluscan shellfish by biotic and abiotic challenge and its applications. Mar. Tech. J. 17: 18 - 25, 1983 c.
- CHENG, T.C. & MOHANDAS, A. - Effect of high dosages of bacterial challenge on phosphatase release from *Blomphalaria glabrata* hemocytes. J. Invert. Pathol. 45: 236 - 241, 1985.
- CHENG, T.C. & JOURDANE, J. - Transient cellular reaction in *Blomphalaria glabrata* (Mollusca) to heterotropic isografts. J. Invert. Pathol. 49: 273 - 278, 1987.

CODA, D.; FALCI, N. & MENDES F.A.T. - Contribuição para o estudo e a profilaxia da esquistossomose mansônica no estado de São Paulo - Rev. Inst. Adolf Lutz 19: 25 - 68, 1959.

COIMBRA JR., C.E.A. - Susceptibilidade à infecção pelo *Schistosoma mansoni* de *Biomphalaria glabrata* e *Biomphalaria tenagophila* do Distrito Federal, Brasil, Rev. Saúde Publ. S. Paulo 15: 485 - 489, 1981.

COOPER, E.L. - Overview of humoral factors in invertebrates. Dev. Comp. Immunol. 9: 577 - 583, 1985.

DAGEFORDE, S.; KROSCHINSKY, J. & RENWRANTZ, L. - Enzymes of *Mytilus edulis* hemocytes and pH inside the digestive vacuoles. Oral presentation, ISDCI Invertebrate Immunology Conference, Berlin, 1986. Dev. Comp. Immunol., in press.

DIKKEBOOM, R.; TJNAGEL, J.M.G.H.; MULDER, E.C. & VAN DER KNAAP, W.P.W. - Hemocytes of the pond snail *Lymnaea stagnalis* generate reactive forms of oxygen. J. Invert. Pathol. 49: 321 - 331, 1987.

DIKKEBOOM, R.; TJNAGEL, J.M.G.H. & VAN DER KNAAP, W.P.W.
- Monoclonal antibody recognized hemocytes
subpopulations in juvenile and adult *Lymnaea*
stagnalis. Functional characteristics and lectin
binding. Dev. Comp. Immunol. 12: 17 - 32, 1988 (1).

DIKKEBOOM, R.; VAN DER KNAAP, W.P.W.; VAN DER
BOVENKAMP, W.; TJNAGEL, J.M.G.H. & BAYNE, C.J. - The
production of toxic oxygen metabolites by hemocytes
of different snail species. Dev. Comp. Immunol. 12:
509 - 520, 1988 (2).

DORLAND'S - Medical Dictionary - W.B.Saunders, 1974.

FISCHER, P.H. - Vie et moeurs des mollusques. Paris,
Payot, 1950, 312p.

FRIDOWICK, I. - The biology of oxygen radicals. Science
169: 875 - 879, 1978.

FOLEY, D.A. & CHENG, T.C. - Degranulation and other
changes of molluscan granulocytes associated with
phagocytosis. J. Invert. Pathol. 29: 321 - 325, 1977.

GEBBINCK, J. Some observations on concanavalin A
receptors on free cells of marine invertebrates. Dev.
Comp. Immunol. 4: 33 - 42, 1980.

- GRANATH, W.O.JR. & YOSHINO, T.P. - *Schistosoma mansoni*:
Passive transfer of resistance by serum in the vector
snail, *Blomphalaria glabrata*. Exp. Parasitol. 58: 188
- 193, 1984.
- GUARALDO, A.M.; MAGALHÃES, L.A., RANGEL, H.A. & PAREJA,
G. - Evolução dos esporocistos de *Schistosoma mansoni*
Sambon, 1907 em *Blomphalaria glabrata* (Say, 1818) e
Blomphalaria tenagophila (D'Orbigny, 1835). Rev.
Saúde Públ. São Paulo 15: 436 - 448, 1981.
- HOFFMAN, W.A.; PONS, J.A. & JANER, J.L. - Sedimentation
concentration method in Schistosomiasis mansoni.
Puerto Rico J. Públ. Health & Trop. Med. 9: 283 -
298, 1934.
- JEONG, K.H. & HEYNEMAN, D. - Leukocytes of *Blomphalaria*
glabrata : Morphology and behavior of granulocytic
cells in vitro. J. Invert. Pathol. 28: 357 - 362,
1976.
- JEONG, K.H.; LIE, K.J. & HEYNEMAN, D. - The
ultrastructure of the amebocyte - producing organ in
Blomphalaria glabrata. Dev. Comp. Immunol. 7: 217 -
228, 1983.

- JOKY, A.; MATRICON-GONDRAN, M. & BENEX, J. - Fine structural differences in the amoebocytes of *Blomphalaria glabrata*. Dev. Comp. Immunol. 7: 669 - 672, 1983.
- JOURDANE, J. & CHENG, T.C. - The two - phase recognition process of allografts in a Brazilian strain of *Blomphalaria glabrata*. J. Invert. Pathol. 49: 145 - 158, 1987.
- KLEBANOFF, S.J. - Myeloperoxidase: Contribution of the microbicidal activity of intact leucocytes. Science 169: 1095 - 1097, 1970.
- KOCK, C. & NIELSEN, H.E. - Activation of vertebrate complement by *Helix pomatia* hemolymph. Dev. Comp. Immunol. 8: 15, 1984.
- LIE, K.J. & HEYNEMAN, D. - Studies on resistance in snails: A specific tissue reaction to *Echinostoma lindoense* in *Blomphalaria glabrata* snails. Int. J. Parasitol. 5: 621 - 626, 1975.
- LIE, K.J.; HEYNEMAN, D. & RICHARDS, C.S. - Studies on resistance in snails: Interference by nonirradiated *Echinostoma* larvae with natural resistance to *Schistosoma mansoni* in *Blomphalaria glabrata*. J. Invert. Pathol. 29: 118 - 125, 1977 a.

- LIE, K.J.; HEYNEMAN, D. & RICHARDS, C.S. - *Schistosoma mansoni*: temporary reduction of natural resistance in *Biomphalaria glabrata* induced by irradiated miracidia of *Echinostoma paraense*. Exp. Parasitol. 43: 54 - 62, 1977 b.
- LIE, K.J. & HEYNEMAN, D. - Specificity of natural resistance to trematode infections in *Biomphalaria glabrata*. Int. J. Parasitol. 9: 529 - 531, 1979.
- LIE, K.J.; JEONG, K.H. & HEYNEMAN, D. - Tissue reactions induced by *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata*. Annals of Tropical Medicine and Parasitol. 74: 157 - 166, 1980.
- LIE, K.J.; JEONG, K.H. & HEYNEMAN, D. - Selective interference with granulocyte function induced by *Echinostoma paraense* (trematoda) larvae in *Biomphalaria glabrata* (mollusca). J. Parasitol. 67 (6): 790 - 796, 1981.
- LOKER, E.S. & BAYNE, C.J. - In vitro encounters between *Schistosoma mansoni* primary sporocysts and hemolymph components of susceptible and resistant strains of *Biomphalaria glabrata*. Am. J. Trop. Med. and Hygiene 31: 999 - 1005, 1982.

- LOKER, E.S.; YUI, M.A. & BAYNE, C.J. - *Schistosoma mansonii*: agglutination of sporocysts and formation of gels on miracidia transforming in plasma of *Biomphalaria glabrata*. Exp. Parasitol. 58: 56 - 62, 1984.
- LOKER, E.S.; BAYNE, C.J. & YUI, M.A. - *Echinostoma paraensei*: Hemocytes of *Biomphalaria glabrata* as targets of *Echinostome* mediated interference with host snail resistance to *Schistosoma mansonii*. Exp. Parasitol. 62: 149 - 154, 1986.
- LO VERDE, P.T.; GHERSON, J. & RICHARDS, C.S. - Reaction against self in invertebrate ?. J. Invert. Pathol. 39: 247 - 249, 1982.
- MACHADO, S.M.P.; MAGALHÃES, L.A.; ARTIGAS, P.T.; CORDEIRO, N.S. & CARVALHO, J.F. - Verificação do antagonismo entre larvas de Digenea em *Biomphalaria tenagophylla*, molusco planorbídeo de criadouro natural situado na região de Campinas, SP, Brasil. Rev. Saúde Publ. S. Paulo 22 (6): 484 - 488, 1988.
- MAGALHÃES, L. A. - Estudo do comportamento da cepa de *S. mansonii* de Brasília. "O Hospital" 77 (2):273-282, 1970.

MALEK, C. & CHENG, T.C. - "Medical and Economic Malacology". Academic Press, New York.

MATRICON - GONDRAN, M.; JOKY, A. & BENEX, J. - Responses of the amebocyte producing organ (APO) in *Blomphalaria glabrata* susceptible or resistant to trematode invasion: an ultrastructural study. Poster Presentation, ISDCI Invertebrate Immunology Conference, Berlin, 1986. Dev. Comp. Immunol., in press.

MORONA, D.; JOURDANE, J. & AESCHLIMANN, A. - Etude de l'évolution in vitro, des granulocytes de l'hémolymphe de *Blomphalaria glabrata* (Gastropoda, Planorbidae). Etude au microscope électronique. A balayage (MEB) (In vitro development of hemolymph granulocytes of *Blomphalaria glabrata* (Gastropoda, Planorbidae). Study by scanning electron microscopy). Ann. Parasitol. Hum. Comp. 59 (5): 467 - 475, 1984.

MULLAINADHAN, P. & RENWRANTZ, L. - Lectin - dependent recognition of foreign cells by hemocytes of the mussel, *Mytilus edulis*. Immunobiol. 171: 263 - 273, 1986.

- NAKAMURA, M.; MORI, K.; INOOKA, S. & NOMURA, T. - In vitro production of hydrogen peroxide by the amoebocytes of the scallop *Patinopecten yessoensis* (Jay). Dev. Comp. Immunol. 9: 407 - 417, 1985.
- NATHAN, C.F.; MURRAY, H.W. & COHN, Z.A. - The macrophage as an effector cell - The New England J. Medicine 303 (11): 622 - 626, 1980.
- NODA, S. & LOKER, E.S. - Effects of infection with *Echinostoma paraensei* on the circulating haemocyte population of the host snail *Blomphalaria glabrata*. Parasitol. 98: 35 - 41, 1989.
- PAN, C. - Generalized and focal tissue responses in the snail, *Australorbis glabratus*, infected with *Schistosoma mansoni*. Ann. Acad. Sci. 113: 475 - 485, 1963.
- PAN, C.T. - Studies on the host - parasite relationship between *Schistosoma mansoni* and the snail *Australorbis glabratus*. Am. J. Trop. Med. and Hyg. 14 (6): 931 - 976, 1965.
- PARAENSE, W.L. - Autofecundação e fecundação cruzada em *Australorbis glabratus*. Rev. S. E. SP 7, (2): 557 - 566, 1955.

PARAENSE, W.L. & CORREA, L.R. - Variation in susceptibility of populations of *Australorbis glabratus* to a strain of *Schistosoma mansoni*. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo 5: 15 - 22, 1963 a.

PARAENSE, W.L. & CORREA, L.R. - Susceptibility of *Australorbis tenagophyllus* to infection with *Schistosoma mansoni*. Rev. Med. Trop. S. Paulo 5: 23 - 29, 1963 b.

PARAENSE, W.L. - Planorbídeos hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni*. In: Esquistosoma mansoni. Cunha, A.S., Sarvier Editora da Universidade de São Paulo, cap. II, pp. 13 - 30, 1970.

PARAENSE, W.L. & CORREA, L.R. - Differential susceptibility of *Biomphalaria tenagophylla* populations to infection with a strain of *Schistosoma mansoni*. J. Parasitol. 64: 822 - 826, 1978.

PINTO, P.A. - Dicionário de Termos Médicos, 1958.

PESSOA, S.B. & MARTINS, A.V. - Parasitologia Médica - 11a. Edição - Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro - RJ, pp 382 - 406, 1982.

- PIZA, J.T. & RAMOS, A.S. - Os focos autóctones de esquistossomose no Estado de São Paulo 25 (80): 261 - 271, 1960.
- PLYTCZ, B. & BAYNE, C.J. - PMA - Induced chemiluminescence of amphibian leucocytes. Dev. Comp. Immunol. 11: 245 - 250, 1987.
- RATCLIFFE, N.A. - Invertebrate Immunity. A primer for the non - specialist. Immunol. Letters 10: 253 - 270, 1985.
- RAVINDRANATH, M.H. - Haemocytes in haemolymph coagulation of arthropods. Biol. Rev. 55: 139 - 170, 1980.
- RENWRANTZ, L.R. & CHENG, T.C. - Identification of agglutinin receptors on hemocytes of *Helix pomatia*. J. Invert. Pathol. 29: 88 - 96, 1977 a.
- RENWRANTZ, L.R. & CHENG, T.C. - Agglutinin mediated attachment of erythrocytes to hemocytes of *Helix pomatia*. J. Invert. Pathol. 29: 97 - 100, 1977 b.

- RENWRANTZ, L. - Eine Untersuchung molekularer und zellularer Bestandteile der Hämolymphe von *Helix pomatia* unter besonderer Berücksichtigung immunbiologisch aktiver Komponenten. Zool. Jb. Physiol. 83: 283, 1979.
- RENWRANTZ, L. & STAHER, A. - Opsonizing properties of an isolated hemolymph agglutinin and demonstration of lectin-like recognition molecules at the surface of hemocytes from *Mytilus edulis*. J. Comp. Physiol. 149: 535, 1983.
- RENWRANTZ, L.; DANIELS, J. & HANSEN, P.D. - Lectin-binding to hemocytes of *Mytilus edulis*. Dev. Comp. Immunol. 9: 203 - 210, 1985.
- RICHARDS, C.S. - Susceptibility of adult *Biomphalaria glabrata* to *Schistosoma mansoni* infection. American Journal of Trop. Med. and Hyg. 22: 749 - 756, 1973.
- RICHARDS, C.S. - Genetic studies on accumulations in *Biomphalaria glabrata*. J. Invert. Pathol. 35: 49 - 52, 1980.
- RICHARDS, C.S. - Influence of snail age on genetic variations in susceptibility of *Biomphalaria glabrata* for infection with *Schistosoma mansoni*. Malacol. 25 (2): 493 - 502, 1984.

ROITT, I.M. - Immunology - 2nd edition, 1989, The C.V.Mosby Company, Gower Medical Publishing - London - New York, St. Louis, Washington, D.C. - Toronto.

SANTANA, J.V., MAGALHÃES, L.A. & RANGEL, H.A. - Quantificação da atividade fagocitária de amebócitos de moluscos *Biomphalaria glabrata* livres da infecção e infectados por *Schistosoma mansoni*. Resumos do XXI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (58): 63, 1985.

SCHOENBERG, D.A. & CHENG, T.C. - Lectin binding specificities of hemocytes from two strains of *Biomphalaria glabrata* as determined by microhemadsorption assays. Dev. Comp. Immunol. 4: 617 - 628, 1980.

SHALEV, A.; SEGAL, S. & BAR ELI, M. - Evolutionary conservation of brain Thy - 1 glycoprotein in vertebrates and invertebrates. Dev. Comp. Immunol. 9: 497 - 509, 1985.

SHOZAWA, A. - A reducing factor produced by hemocytes of *Biomphalaria glabrata* and its role in the host defence. Poster presentation, ISDCI - Invertebrate Immunology Conference, Berlin, 1986. Dev. Comp. Immunol., in press.

SMINIA, T.; WINSEMIUS, A. & VAN DER KNAAP, W.P.W. -
Recognition of foreignness by blood cells of the
freshwater snail *Lymnaea stagnalis* with special
reference to the role and structure of the cell coat.
J. Invert. Pathol. 38: 175 - 183, 1981.

SMINIA, T. & VAN DER KNAAP, W.P.W. - Molecular aspects
of defence reactions in molluscs. Review paper, ISDCI
- Invertebrate Immunology Conference, Berlin, 1986.
Dev. Comp. Immunol., in press.

SMINIA, T. & VAN DER KNAAP, W.P.W. - Cells and
molecules in molluscan immunology. Dev. Comp.
Immunol. 11: 17 - 28, 1987.

SMITH, A.C. - A precipitin for human serum proteins as
released under stress by a marine invertebrate, the
marsh snail *Littorina irrorata*. Dev. Comp. Immunol.
8: 273, 1984.

SOUZA DIAS, L.C.; UETA, M. & GUARALDO, A.M. -
Susceptibilidade de *Biomphalaria glabrata*,
Biomphalaria straminea e *Biomphalaria tenagophila* a
diferentes cepas de *Schistosoma mansoni*. Rev. Inst.
Med. Trop. S. Paulo 29 (4): 205 - 212, 1987.

- STANDEN, O.D. - The effects of temperature, light and salinity upon the hatching ova of *Schistosoma mansoni*. Trans. of Royal Soc. of Trop. Med. Hyg. 45 (2): 221 - 241, 1951.
- STAVE, J.W. & ROBERSON, B.S. - Hydrocortisone suppress the chemiluminescent response of striped bass phagocytes. Dev. Comp. Immunol. 9: 77 - 84, 1985.
- STEIN, P.C. & BASCH, P.F. - Purification and binding properties of hemagglutinin from *Blomphalaria glabrata*. J. Invert. Pathol. 33: 10 - 18, 1979.
- STUMPF, J.L. & GILBERTSON, D.E. - Hemocytes of *Blomphalaria glabrata* = Factor affecting variability. J. Invert. Pathol. 32: 177 - 181, 1978.
- STUMPF, J.L. & GILBERTSON, D.E. - Differential leukocytic responses of *Blomphalaria glabrata* to infection with *Schistosoma mansoni*. J. Invert. Pathol. 35: 217 - 218, 1980.
- SULLIVAN, J.T.; RICHARDS, C.S.; LIE, K.J. & HEYNEMAN, D. - *Ribeiroa marinhoi*: Irradiated miracidia and induction of acquired resistance in *Blomphalaria glabrata*. Exp. Parasitol. 53: 17 - 25, 1982.

SULLIVAN, J.T.; CHENG, T.C. & HOWLAND, K.H. - Mitotic responses of the anterior pericardial wall of *Biomphalaria glabrata* (mollusca) subjected to challenge. J. Invert. Pathol. 44: 114 - 116, 1984.

SUPERINTENDENCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS (SUCEN) - Situação da esquistossomose no Estado de São Paulo (Relatório). São Paulo, Imprensa Oficial do Estado, Secretaria de Estado da Saúde, 1982.

VAN DER KNAAP, W.P.W.; BOERRIGTER - BARENDSEN, L.H.; VAN DER HOEVEN, D.S.P. & SMINIA, T. - Immunocytochemical demonstration of a humoral defence factor in blood cells (amoebocytes) of the pond snail, *Lymnaea stagnalis*. Cell Tiss. Res. 219: 291 - 296, 1981.

VAN DER KNAAP, W.P.W.; SMINIA, T.; SCHUTTE, R. & BOERRIGTER - BARENDSEN, L.H. - Cytophilic receptors for foreignness and some factors which influence phagocytosis by invertebrate leucocytes: In vitro phagocytosis by amoebocytes of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. Immunol. 48: 377 - 383, 1983.

VAN DER KNAAP, W.P.W. & LOKER, E.S. - Immune mechanisms in trematode - snail interactions. Parasitol. Today 6 (6): 175 - 182, 1990.

- VASTA, G.R.; CHENG, T.C. & MARCHALONIS, J.J. - A lectin on the hemocyte membrane - associated lectin of the oyster hemocyte. *J. Invert. Pathol.* 40: 367 - 377, 1982.
- VASTA, G.R.; CHENG, T.C. & MARCHALONIS, J.J. - A lectin on the hemocyte membrane of the oyster *Crassostrea virginica*. *Cell Immunol.* 88: 475 - 488, 1984.
- YOSHINO, T.P. - Selective acquisition of snail host antigens by larval *Schistosoma mansoni*: detection by monoclonal antibodies to snail hemocytes and hemolymph. In *Aspects of Developmental and Comparative Immunology* vol. 2 (ed. E. L. Cooper & R.K. Wright), p 225 (abstract). New York: Pergamon.
- YOSHINO, T.P. & GRANATH JR., W.O. - Surface antigens of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda) hemocytes: Functional heterogeneity in cell subpopulations recognized by a monoclonal antibody. *J. Invert. Pathol.* 45: 174 - 186, 1985.
- WAGGE, L.E. - The activity of amoebocytes and of alkaline phosphatase during the regeneration of wall of the snail *Helix aspersa*. *Quart. J. Microscop. Sci.* 92: 307 - 321, 1951.

WAGGE, L.E. & MITTLER, T. - Shell recognition in some
brithish molluscs. Nature 171: 528 - 529, 1953.

WAGGE, L.E. - Amoebocytes. Int. Rev. Cytol. 4: 31 - 78,
1955.

ZANOTTI MAGALHÆES, E.M.; MAGALHÆES, L.A.; CARVALHO,
J.F. & RANGEL, H.A. - RelaçãO entre a
susceptibilidade de planorbídeos à infecçãO por
Schistosoma mansoni e a nocividade produzida pelo
trematódeo em camundongos. Resumo do "International
Symposium on Schistosomiasis", Rio de Janeiro, 118,
1987.

ERRATA

No texto e tabelas onde a contagem de amebócitos está expressa em número de células por mm^3 , lê-se número de células por $0,1 \text{ mm}^3$.

APENDICE - TABELAS

Tabela 1

Contagem de amebócitos circulantes em *Blomphalaria glabrata* do grupo controle.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	10	1	9
2	11	1	10
3	15	3	12
4	14	6	8
5	11	0	11
6	16	2	14
7	20	5	15
8	14	8	6
9	12	2	10
10	9	4	5
total	132	32	100
x	13,2	3,2	10
D.P.	3,29	2,53	3,2

Tabela 2

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata* 30 min. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	19	0	19
2	44	4	40
3	12	6	6
4	16	3	13
5	0	0	0
total	91	13	78
x	23	3,25	19,5
D.P.	16,13	2,6	15,4

Tabela 3

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
2 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	10	2	8
2	60	12	48
3	22	4	18
4	15	9	6
5	14	4	10
total	121	31	90
x	24,2	6,2	18
D.P.	20,5	4,15	17,4

Tabela 4

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
3 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	8	0	8
2	19	3	16
3	7	2	5
4	9	4	5
5	8	1	7
total	51	10	41
x	10,2	2	8,2
D.P.	5	1,6	4,55

Tabela 5

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
4 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	5	4	1
2	5	1	4
3	11	8	3
4	11	3	8
5	11	3	8
6	13	5	8
total	56	24	32
X	9,3	4	5,3
D.P.	3,44	2,36	3,07

Tabela 6

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
5 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	21	10	11
2	8	6	2
3	4	0	4
4	9	2	7
5	19	8	11
6	8	1	7
7	16	3	13
total	85	30	55
X	12,14	4,3	8
D.P.	6,46	3,8	4

Tabela 7

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
8 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	14	2	12
2	9	3	6
3	27	11	16
4	18	4	14
5	11	4	7
total	79	24	55
X	16	5	11
D.P.	7, 12	3, 56	4, 36

Tabela 8

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
16 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	8	5	3
2	10	1	9
3	14	1	13
4	17	2	15
5	6	1	5
6	11	1	10
7	19	7	12
total	85	18	67
X	12, 14	2, 6	9, 6
D.P.	4, 74	2, 44	4, 31

Tabela 9

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
24 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	25	6	19
2	5	2	3
3	10	5	5
4	11	3	5
5	14	2	12
6	8	3	5
7	10	4	6
total	83	25	58
X	12	3,6	8,3
D.P.	6,4	1,5	5,53

Tabela 10

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
30 min. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	22	8	14
2	5	2	3
3	10	3	7
4	12	9	3
5	9	2	7
6	10	2	8
total	68	26	42
X	11,3	4,3	7
D.P.	5,7	3,26	4,05

Tabela 11

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
2 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	20	7	13
2	5	2	3
3	11	3	8
4	10	8	2
5	23	13	10
6	7	4	3
total	76	37	39
x	12,6	6	6,5
D.P.	7,23	4,07	4,5

Tabela 12

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
4 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	8	3	5
2	19	11	8
3	5	0	5
4	14	3	11
5	14	3	11
6	15	7	8
7	20	9	11
8	9	4	5
total	104	40	64
x	13	5	8
D.P.	5,3	3,66	2,8

Tabela 13

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
5 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	10	6	4
2	15	4	11
3	28	13	15
4	12	5	7
5	5	4	1
6	16	3	13
total	86	35	51
X	14,3	6	8,5
D.P.	7,76	3,65	5,43

Tabela 14

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
6 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	8	4	4
2	9	3	6
3	10	4	6
4	12	6	6
5	14	9	5
total	53	26	27
X	10,6	5,2	5,4
D.P.	2,4	2,4	0,89

Tabela 15

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
7 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	12	5	7
2	6	0	6
3	16	7	9
4	23	12	11
5	14	4	10
6	12	5	7
7	9	0	9
8	11	2	9
total	103	35	68
x	13	4,4	8,5
D.P.	5,08	4	1,7

Tabela 16

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
8 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	14	8	6
2	5	1	4
3	10	3	7
4	9	1	8
5	5	1	4
6	5	4	1
7	12	7	5
8	13	1	12
9	12	1	11
10	5	3	2
11	11	6	5
12	19	2	17
13	31	10	21
14	24	7	17
15	13	3	10
total	188	58	130
x	12,53	4	8,6
D.P.	7,39	3	5,93

Tabela 17

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
9 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	27	19	8
2	8	3	5
3	9	4	5
4	10	2	8
5	7	3	4
6	18	5	13
7	10	3	7
8	10	6	4
total	99	45	54
X	12,4	5,6	7
D.P.	6,78	5,55	3

Tabela 18

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
10 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	18	2	16
2	11	4	7
3	6	1	5
4	8	0	8
5	7	0	7
6	12	10	2
7	24	6	18
8	11	2	9
total	97	25	72
X	12,12	3,12	9
D.P.	6,08	3,44	5,39

Tabela 19

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
11 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	61	39	22
2	24	8	14
3	10	2	8
4	9	0	9
5	3	1	2
6	15	7	8
7	19	2	17
8	15	3	12
total	154	62	92
X	19,5	8	11,5
D.P.	17,95	12,93	6,18

Tabela 20

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
12 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	11	5	6
2	13	5	8
3	23	8	15
4	12	5	7
5	22	6	16
6	23	10	13
7	16	8	8
8	14	4	10
total	134	51	83
X	17	6,4	10,4
D.P.	5,12	2,06	3,8

Tabela 21

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
13 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	33	8	25
2	13	4	9
3	30	10	20
4	15	7	8
5	17	4	13
6	13	1	12
7	3	0	3
total	124	34	90
x	18	5	13
D.P.	10,43	3,67	7,47

Tabela 22

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
14 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	11	2	9
2	19	4	15
3	10	4	6
4	19	5	14
5	10	3	7
6	13	2	11
7	8	1	7
8	23	6	17
total	113	27	86
x	14,12	3,4	11
D.P.	5,46	1,68	4,16

Tabela 23

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
15 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	19	4	15
2	44	19	25
3	11	2	9
4	26	10	16
5	13	6	7
6	11	1	10
7	27	8	19
8	10	2	8
total	161	52	109
X	20,12	6,5	13,62
D.P.	11,8	5,95	6,27

Tabela 24

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
16 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	8	1	7
2	39	29	10
3	11	2	9
4	19	10	9
5	18	7	11
6	10	3	7
total	105	52	53
X	17,5	8,6	9
D.P.	11,43	10,5	1,6

Tabela 25

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
17 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	45	28	17
2	17	7	10
3	19	15	4
4	5	1	4
5	8	0	8
6	21	5	16
7	18	3	15
total	133	59	74
x	19	8,43	11
D.P.	12,92	9,96	5,53

Tabela 26

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
18 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	42	15	27
2	17	7	10
3	21	3	18
4	15	5	10
5	12	2	10
6	24	9	15
7	20	9	11
8	24	5	19
total	175	55	120
x	22	7	15
D.P.	9,15	4,15	6,09

Tabela 27

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
19 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	7	3	4
2	5	2	3
3	11	3	8
4	6	2	4
5	17	3	14
6	29	10	19
7	27	2	25
8	14	4	10
total	116	29	87
x	14,5	3,6	11
D.P.	9,3	2,66	7,93

Tabela 28

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
20 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	18	9	9
2	7	2	5
3	5	1	4
4	33	17	16
5	52	17	35
6	22	4	18
7	17	8	9
8	39	22	17
9	13	3	10
total	206	83	123
x	23	9,22	13,6
D.P.	15,57	7,68	9,46

Tabela 29

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
21 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	40	21	19
2	12	2	10
3	21	6	15
4	29	15	14
5	33	4	29
6	15	1	14
7	42	28	14
8	13	6	7
total	205	83	122
X	25,6	10,4	15,25
D.P.	12,07	9,87	6,58

Tabela 30

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
22 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	14	3	11
2	8	1	7
3	5	1	4
4	22	4	18
5	32	14	18
6	69	27	42
7	6	2	4
8	24	8	16
9	18	5	13
total	198	65	133
X	22	7,22	15
D.P.	19,8	8,48	11,58

Tabela 31

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
23 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	9	6	3
2	10	1	9
3	4	2	2
4	13	3	10
5	6	3	3
6	20	5	15
7	27	5	22
8	17	5	12
9	25	10	15
10	6	3	3
11	13	6	7
total	150	49	101
X	13,6	4,45	9,2
D.P.	7,77	2,46	6,41

Tabela 32

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
24 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	8	1	7
2	30	17	13
3	29	11	18
4	11	2	9
5	9	3	6
total	87	34	53
X	17,4	7	10,6
D.P.	11	6,94	4,93

Tabela 33

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
30 min. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	9	3	6
2	16	0	16
3	33	20	13
4	34	15	19
5	16	0	16
6	8	0	8
7	24	4	20
total	140	42	98
x	20	6	14
D.P.	10,63	8,14	5,32

Tabela 34

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
2 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	60	11	49
2	50	33	17
3	28	0	28
4	29	2	27
5	35	14	21
6	57	14	43
total	259	74	185
x	43,16	12,33	31
D.P.	14,27	11,77	12,56

Tabela 35

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
4 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	40	6	34
2	23	3	20
3	24	1	23
4	50	19	31
5	48	17	31
6	40	16	24
7	43	26	17
total	268	88	180
x	38,3	12,6	26
D.P.	10,78	9,32	6,37

Tabela 36

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
6 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	6	0	6
2	39	1	38
3	8	2	6
4	17	10	7
5	17	7	10
6	14	7	7
total	101	27	74
x	17	4,5	12,3
D.P.	11,78	4,03	16,66

Tabela 37

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
8 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	34	15	19
2	13	0	13
3	17	5	12
4	14	2	12
5	9	1	8
6	9	2	7
7	20	4	16
total	116	29	87
X	16,6	4,14	12,43
D.P.	8,65	5,08	4,19

Tabela 38

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
12 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	8	1	7
2	11	2	9
3	38	13	25
4	21	1	20
5	29	12	17
6	32	16	16
7	16	5	11
total	155	50	105
X	22,14	7,14	15
D.P.	11,24	6,36	6,4

Tabela 39

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
14 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	33	20	13
2	4	3	1
3	23	14	9
4	38	20	18
5	5	1	4
6	10	5	5
7	20	2	18
total	133	65	68
x	19	9,3	10
D.P.	13,39	8,48	6,82

Tabela 40

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
16 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	11	3	8
2	15	0	15
3	26	4	22
4	10	2	8
5	15	2	13
total	77	11	66
x	15,4	2,2	13,2
D.P.	6,35	1,48	5,8

Tabela 41

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
18 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	13	1	12
2	12	0	12
3	5	1	4
4	17	2	15
5	16	6	10
6	29	5	24
7	10	3	7
total	102	18	84
X	14,6	2,6	12
D.P.	7,5	2,22	6,4

Tabela 42

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
22 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	17	2	15
2	17	9	8
3	7	0	7
4	27	7	20
5	44	22	22
6	28	15	13
7	26	14	12
total	166	69	97
X	24	10	14
D.P.	11,65	7,73	5,63

Tabela 43

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
24 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	37	7	30
2	16	1	15
3	12	3	9
4	8	2	6
5	31	1	30
6	34	11	23
7	15	1	14
total	153	26	127
x	22	4	18,14
D.P.	11,76	3,86	9,68

Tabela 44

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
30 min. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	35	23	12
2	73	51	22
3	37	19	18
4	22	11	11
5	21	10	11
6	19	8	11
7	19	10	9
8	26	6	20
9	19	1	18
10	33	4	29
11	26	1	25
12	30	3	27
13	30	10	20
14	19	4	15
total	409	161	248
x	29,2	11,5	18
D.P.	14,09	13,01	6,48

Tabela 45

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
2 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	19	6	13
2	33	19	14
3	13	7	6
4	19	12	7
5	11	3	8
6	26	17	9
7	11	1	10
total	132	65	67
x	19	9,3	9,6
D.P.	8,25	6,9	2,99

Tabela 46

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
4 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	42	1	41
2	32	18	18
3	19	9	10
4	13	2	11
5	19	13	6
6	26	4	22
7	23	12	11
total	174	59	115
x	25	8,42	16,43
D.P.	9,65	6,34	11,9

Tabela 47

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
6 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	9	4	5
2	6	1	5
3	12	2	10
4	15	4	11
5	12	2	10
6	14	11	3
7	12	6	6
8	6	3	3
total	86	33	53
X	11	4,12	6,62
D.P.	3,4	3,18	3,24

Tabela 48

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
8 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	23	4	19
2	32	19	13
3	13	3	10
4	17	6	11
5	9	2	7
6	14	8	6
total	108	42	66
X	18	7	11
D.P.	8,29	6,26	4,69

Tabela 49

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
10 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	29	17	12
2	5	1	4
3	11	6	5
4	4	0	4
5	8	2	6
6	15	8	7
7	18	9	9
8	8	1	7
total	98	44	54
X	12,25	5,5	7
D.P.	8,27	5,78	2,7

Tabela 50

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
11 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	26	19	7
2	19	9	10
3	22	13	9
4	20	7	13
5	12	2	10
6	21	5	16
7	21	11	10
total	141	66	75
X	20,14	9,43	11
D.P.	4,22	5,59	2,92

Tabela 51

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
12 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	21	6	15
2	16	6	10
3	12	10	2
4	34	10	24
5	15	2	13
6	24	4	20
7	8	1	7
total	130	39	91
X	18,6	6	13
D.P.	8,63	3,55	7,52

Tabela 52

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
14 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	24	1	23
2	11	2	9
3	17	4	13
4	15	5	10
5	13	2	11
6	30	2	28
7	18	2	16
8	19	2	17
total	147	20	127
X	18,4	2,5	16
D.P.	6,14	1,3	6,68

Tabela 53

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
16 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	17	2	15
2	15	7	8
3	20	2	18
4	6	1	5
5	13	9	4
6	16	3	13
7	23	5	18
total	110	29	81
x	16	4,14	12
D.P.	5,4	2,96	5,91

Tabela 54

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
18 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	16	5	11
2	6	0	6
3	10	0	10
4	19	5	14
5	19	3	16
6	7	0	7
7	3	1	2
total	80	14	66
x	11,43	2	9,43
D.P.	6,55	2,3	4,82

Tabela 55

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
20 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	6	0	6
2	13	2	11
3	12	1	11
4	16	1	15
5	10	5	5
6	39	22	17
7	15	3	12
total	111	34	77
X	16	5	11
D.P.	10,73	4,85	4,35

Tabela 56

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
22 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	17	4	13
2	16	4	12
3	11	2	9
4	21	3	18
5	11	2	9
6	8	0	8
total	84	15	69
X	14	2,5	11,5
D.P.	4,81	1,51	3,72

Tabela 57

Contagem de amebócitos circulantes de *B. glabrata*
24 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	7	1	6
2	27	4	23
3	13	5	8
4	4	3	1
5	13	5	8
6	20	7	13
total	84	25	59
x	14	4,16	10
D.P.	8,44	2,04	7,52

Tabela 58

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
do grupo controle.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	20	9	11
2	21	8	13
3	10	0	10
4	21	13	8
5	8	0	8
6	9	2	7
7	31	19	12
8	11	5	6
total	131	56	75
x	16,4	7	9,4
D.P.	8,14	6,67	2,5

Tabela 59

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
30 min. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	12	4	8
2	2	1	1
3	15	7	8
4	8	2	6
5	11	4	7
6	13	2	11
7	17	3	14
total	78	23	55
x	11,14	3,3	8
D.P.	4,94	1,97	4,05

Tabela 60

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
2 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	6	0	6
2	5	1	4
3	9	3	6
4	17	7	10
5	29	14	15
6	22	9	13
7	16	10	6
total	104	44	60
x	15	6,3	8,6
D.P.	8,82	5,15	4,15

Tabela 61

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
4 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	13	5	8
2	16	10	6
3	15	9	6
4	5	1	4
5	18	9	9
6	8	3	5
7	6	3	3
8	9	5	4
total	90	45	45
x	11,25	5,6	5,6
D.P.	4,9	3,33	2,06

Tabela 62

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
6 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	41	15	26
2	6	1	5
3	2	0	2
4	9	2	7
5	26	13	13
6	11	5	6
7	9	3	6
total	104	39	65
x	15	6	9,3
D.P.	13,75	5,99	8,07

Tabela 63

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
8 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	3	2	1
2	15	3	12
3	10	1	9
4	13	6	7
5	9	3	6
6	7	1	6
7	15	12	3
total	72	28	44
X	10,3	4	6,3
D.P.	4,42	3,9	3,64

Tabela 64

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
10 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	9	6	3
2	21	9	12
3	10	3	7
4	10	2	8
5	10	2	8
6	7	3	4
7	13	8	5
8	14	0	14
total	94	33	61
X	12	4,12	7,62
D.P.	4,33	3,18	3,81

Tabela 65

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
12 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	11	8	3
2	10	5	5
3	12	3	9
4	4	1	3
5	5	1	4
6	6	3	3
7	8	4	4
total	56	25	31
X	8	3,6	4,42
D.P.	3,1	2,43	4,42

Tabela 66

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
14 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	48	25	23
2	16	13	3
3	6	1	5
4	17	16	1
5	7	5	2
6	14	6	8
7	22	7	15
total	130	73	57
X	18,6	10,43	8,14
D.P.	14,14	8,16	8,09

Tabela 67

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
16 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	22	9	13
2	10	3	7
3	19	10	9
4	9	6	3
5	18	5	13
6	10	6	4
7	25	9	16
total	113	48	65
x	16,14	7	9,3
D.P.	6,46	2,54	4,92

Tabela 68

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
18 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	62	37	25
2	44	31	13
3	30	18	12
4	7	4	3
5	7	5	2
6	27	12	15
7	11	4	7
total	188	111	77
x	27	16	11
D.P.	20,73	13,5	7,93

Tabela 69

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
20 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	20	0	20
2	10	3	7
3	15	8	7
4	10	3	7
5	8	1	7
6	12	5	7
7	13	6	7
total	88	26	62
X	12,6	4	9
D.P.	3,9	2,81	4,9

Tabela 70

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
22 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	13	7	6
2	10	6	4
3	15	3	12
4	15	6	9
5	5	3	2
6	18	8	10
7	5	2	3
total	81	35	46
X	11,6	5	6,6
D.P.	5,09	2,3	3,82

Tabela 71

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
24 hs. após infecção por *S. mansoni*.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	11	9	2
2	14	7	7
3	5	2	3
4	17	6	11
5	19	10	9
6	11	3	8
7	11	6	5
total	88	43	45
x	12,6	6,14	6,43
D.P.	4,6	2,9	3,25

Tabela 72

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
30 min. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	19	0	19
2	16	2	14
3	16	6	10
4	16	6	10
5	6	1	5
6	15	5	10
7	11	5	6
total	99	25	74
x	14,14	3,6	10,6
D.P.	4,29	2,5	4,75

Tabela 73

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
2 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	5	2	3
2	17	2	15
3	18	5	13
4	19	11	8
5	35	16	19
6	8	0	8
7	12	4	8
total	114	40	74
x	16,3	6	10,6
D.P.	9,79	5,73	5,38

Tabela 74

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
4 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	42	2	40
2	33	10	23
3	22	1	21
4	9	6	3
5	22	7	15
6	16	4	12
7	18	11	7
total	162	41	121
x	23,14	6	17,3
D.P.	11,05	3,8	12,28

Tabela 75

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
6 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	24	13	11
2	10	1	9
3	16	10	6
4	10	4	6
5	8	4	4
6	52	27	25
7	16	1	15
total	136	60	76
x	19,42	8,6	11
D.P.	15,34	9,28	7,24

Tabela 76

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
8 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	40	25	15
2	22	15	7
3	6	1	5
4	25	12	13
5	6	1	5
6	30	3	27
7	21	11	10
total	150	68	82
x	21,43	10	12
D.P.	12,3	8,8	7,76

Tabela 77

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
10 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	25	6	19
2	9	0	9
3	15	6	9
4	10	1	9
5	14	6	8
6	9	2	7
total	82	21	61
x	13,6	3,5	10,16
D.P.	6,12	2,8	4,4

Tabela 78

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
12 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	30	19	11
2	20	16	4
3	35	29	6
4	24	7	17
5	16	9	7
6	19	5	14
total	144	85	59
x	24	14,16	10
D.P.	7,23	9,04	5,03

Tabela 79

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
14 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	17	8	9
2	12	1	11
3	21	12	9
4	39	12	27
5	19	8	11
6	18	9	9
total	126	50	76
X	21	8,33	12,66
D.P.	9,3	4,03	7,08

Tabela 80

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
16 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	15	6	9
2	22	13	9
3	26	20	6
4	9	4	5
5	18	5	13
6	15	9	6
7	21	4	17
total	126	61	65
X	18	9	9,3
D.P.	5,59	5,93	4,34

Tabela 81

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
18 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	23	15	8
2	12	3	9
3	22	8	14
4	9	2	7
5	28	9	19
6	18	11	7
7	8	4	4
total	120	52	68
x	17,14	7,43	10
D.P.	7,66	4,72	5,09

Tabela 82

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
20 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	5	1	4
2	23	13	10
3	7	2	5
4	27	15	12
5	20	11	9
6	14	4	10
7	11	4	7
total	107	50	57
x	15,3	7,14	8,14
D.P.	8,3	5,7	2,9

Tabela 83

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
22 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	5	0	5
2	16	9	7
3	14	1	13
4	13	2	11
5	14	8	6
total	62	20	42
x	12,4	4	8,4
D.P.	4,27	4,18	3,43

Tabela 84

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
24 hs. após fratura da concha.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	17	2	15
2	16	3	13
3	21	14	7
4	31	9	22
5	11	3	8
6	16	9	7
7	19	10	9
total	131	50	81
x	19	7,14	11,6
D.P.	6,23	4,52	5,53

Tabela 85

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
30 min. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	49	28	21
2	23	1	22
3	32	0	32
4	21	4	17
5	23	7	16
6	20	2	18
total	168	42	126
x	28	7	21
D.P.	11,13	10,58	5,86

Tabela 86

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
2 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	38	1	37
2	22	1	21
3	17	1	16
4	56	30	26
5	40	7	33
6	45	5	40
7	50	1	49
total	268	46	222
x	38,3	6,6	32
D.P.	14,24	10,6	11,48

Tabela 87

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
4 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	47	2	45
2	36	1	35
3	38	1	37
4	47	0	47
5	48	2	46
6	17	7	10
7	21	2	19
total	254	15	239
X	36,3	2,14	34,14
D.P.	12,75	2,26	14,4

Tabela 88

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
6 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	48	11	37
2	32	4	28
3	31	4	27
4	48	4	44
5	76	50	26
6	60	20	40
7	43	13	30
total	338	106	232
X	48,3	15,14	33,14
D.P.	15,79	16,49	7,13

Tabela 89

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
8 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	33	1	32
2	52	11	41
3	25	1	24
4	47	15	32
5	41	7	34
6	30	1	29
7	36	1	35
8	43	4	39
total	307	41	266
x	38,4	5,12	33,25
D.P.	9,04	5,41	5,39

Tabela 90

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
10 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	31	11	20
2	36	26	10
3	27	12	15
4	23	7	16
5	27	5	22
6	16	1	15
7	39	3	36
8	32	8	24
total	231	73	158
x	29	9,12	19,75
D.P.	7,32	7,77	7,94

Tabela 91

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
12 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	18	6	12
2	15	8	7
3	30	2	28
4	35	10	25
5	38	14	24
6	31	16	15
7	24	8	16
8	17	1	16
9	30	12	18
10	36	21	15
total	274	98	176
x	27,4	9,8	17,6
D.P.	8,38	6,19	6,38

Tabela 92

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
14 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	62	1	61
2	22	0	22
3	18	0	18
4	36	4	32
5	48	6	42
6	23	4	19
7	13	2	11
total	222	17	207
x	32	2,43	29,3
D.P.	17,83	2,29	17,29

Tabela 93

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
16 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	39	0	39
2	39	3	36
3	45	2	43
4	46	2	44
5	41	5	36
6	41	1	40
7	22	5	17
total	273	18	255
x	39	2,6	36,43
D.P.	7,98	1,9	9,1

Tabela 94

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
18 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	14	2	12
2	31	3	28
3	10	4	6
4	26	2	24
5	42	2	40
6	27	2	25
7	17	2	15
8	13	2	11
total	180	19	161
x	22,5	2,4	20,12
D.P.	10,9	0,74	11,15

Tabela 95

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
20 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	15	3	12
2	19	4	15
3	17	4	13
4	26	13	13
5	16	7	9
6	23	1	22
total	116	32	84
x	19,3	5,3	14
D.P.	4,32	4,22	4,38

Tabela 96

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
22 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	20	8	12
2	13	7	6
3	11	1	10
4	28	11	17
5	34	16	18
6	17	1	16
7	25	0	25
8	17	5	12
9	15	4	11
total	180	53	127
x	20	6	14,1
D.P.	7,56	5,25	5,55

Tabela 97

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
24 hs. após inoculação de tinta Nanquim.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	36	9	27
2	37	3	34
3	14	13	1
4	26	17	9
5	23	11	12
total	136	53	83
X	27,2	10,6	16,6
D.P.	9,57	5,17	13,53

Tabela 98

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
30 min. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	62	9	53
2	77	4	73
3	55	3	52
4	69	16	53
5	74	8	66
6	50	5	45
7	50	3	47
total	437	48	389
X	62,43	7	55,6
D.P.	11,2	4,67	10,19

Tabela 99

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
2 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	27	3	24
2	47	2	45
3	44	2	42
4	35	7	28
5	64	2	62
6	51	3	48
7	52	3	49
total	320	22	298
X	46	3,14	42,6
D.P.	12,05	1,77	12,98

Tabela 100

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
4 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	51	2	49
2	32	8	24
3	25	3	22
4	27	3	24
5	25	4	21
6	29	5	24
7	39	3	36
total	228	28	200
X	32,6	4	28,6
D.P.	9,48	2	10,29

Tabela 101

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
6 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	21	10	11
2	39	0	39
3	45	13	32
4	31	5	26
5	32	3	29
6	21	1	20
7	34	6	28
8	30	6	24
total	253	44	209
X	31,6	5,5	26,12
D.P.	8,17	4,37	8,3

Tabela 102

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
8 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	20	2	18
2	43	3	40
3	56	29	27
4	45	16	29
5	26	9	17
6	15	3	12
7	11	0	11
8	40	23	17
total	256	85	171
X	32	10,6	21,4
D.P.	16,21	10,86	9,87

Tabela 103

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
10 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	34	3	31
2	30	4	26
3	42	26	16
4	26	6	20
5	19	10	9
6	23	8	15
7	18	7	11
8	20	0	20
total	212	64	148
X	26,5	8	18,5
D.P.	8,38	7,9	6,9

Tabela 104

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
12 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	15	6	9
2	22	0	22
3	32	15	17
4	21	0	21
5	30	10	20
6	12	2	10
total	132	33	99
X	22	5,5	16,5
D.P.	7,92	6,05	5,68

Tabela 105

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
14 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	44	9	35
2	49	4	45
3	15	0	15
4	20	0	20
5	24	2	22
6	17	1	16
total	169	16	153
x	28,16	2,6	25,5
D.P.	14,6	3,44	11,94

Tabela 106

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
16 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	39	0	39
2	22	0	22
3	23	1	22
4	30	0	30
5	48	23	25
6	33	2	31
7	42	2	40
total	237	28	209
x	34	4	30
D.P.	9,72	8,42	7,47

Tabela 107

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
18 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	43	5	38
2	34	0	34
3	21	1	20
4	27	1	26
5	18	1	17
6	33	1	32
total	176	9	167
X	29,3	1,5	28
D.P.	9,22	1,76	8,25

Tabela 108

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
20 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	54	6	48
2	12	0	12
3	35	1	34
4	47	4	43
5	26	5	21
6	14	0	14
7	6	0	6
total	194	16	178
X	28	2,3	25,4
D.P.	18,37	2,62	16,32

Tabela 109

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
22 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	32	13	19
2	3	0	3
3	25	0	25
4	16	3	13
5	9	1	8
total	85	17	68
X	17	3,4	13,6
D.P.	11,72	5,5	8,7

Tabela 110

Contagem de amebócitos circulantes de *B. tenagophila*
24 hs. após injeção simulada.

Caramujo	Amebócito total	Amebócitos estrelados	Amebócitos não estrelados
1	22	0	22
2	36	17	19
3	39	5	34
4	33	15	18
5	52	12	40
6	22	8	14
7	8	2	6
8	13	4	9
9	15	9	6
10	39	17	22
11	30	14	16
total	309	103	206
X	28,1	9,36	19
D.P.	13,33	6,07	10,75