



PATRÍCIA IVANA PIRES BONESSO-SABADINI

"AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DA LINHAGEM OUH (OURINHOS, VALE DO
PARANAPANEMA-SP) DE *Schistosoma mansoni* AO OXAMNIQUINE E
PRAZIQUANTEL"

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato(a)
Patrícia Ivana Pires
Bonesso-Sabadini
e aprovada pela Comissão Julgadora. 08
08
95

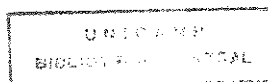
2. Ca. de M.

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade Estadual de
Campinas para a obtenção do título de
Mestre em Ciências Biológicas, na Área
de Parasitologia.

Orientador: Prof.Dr. Luiz Candido de Souza Dias

Campinas

1995



UNIDADE BC
 CHISMA 13a
 UNICAMP
 26 098
 433 95
 C ☐ D ☒
 REGO 78 11 00
 18 11 95
 CPU
 4000800498

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
 BIBLIOTECA CENTRAL - UNICAMP

Sabadini, Patrícia Ivana Pires Bonesso

Sa13a Avaliação da suscetibilidade da linhagem Ouh (Ourinhos, Vale do Paranapanema - SP) de *Schistosoma mansoni* ao oxamniquine e praziquantel / Patrícia Ivana Pires Bonesso Sabadini. - - Campinas, SP : [s.n.], 1995.

Orientador : Luiz Candido de Souza Dias.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.
 Instituto de Biologia.

1. Camundongo. 2. *Schistosoma mansoni*. 3. Esquistossomicida. I. Dias, Luiz Candido de Souza. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

LOCAL E DATA: Campinas, 08 de Agosto de 1995

BANCA EXAMINADORA:

TITULARES:

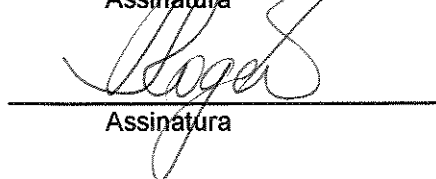
Prof. Dr. LUIZ CANDIDO DE SOUZA DIAS (Orientador)


Assinatura

Profa. Dra. MARLENE TIDUKO UETA


Assinatura

Prof. Dr. ROGÉRIO ANTUNES PEREIRA


Assinatura

SUPLENTE:

Profa. Dra. SELMA GIORGIO

Assinatura

APROVADA

Ao EDVALDO pelo constante incentivo, pela compreensão e por tudo que para mim representa; e a nossa filha JÚLIA.

Aos meus pais e ao meu irmão pelo
carinho.

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Luiz Candido de Souza Dias por tudo que aprendi nestes anos em que me orientou.

A todos os docentes do Departamento de Parasitologia, principalmente às profas. Dras. Ana Maria A. Guaraldo, Marlene Tiduko Ueta e Selma Giorgio pelas valiosas sugestões na análise prévia e pela amizade.

À profa. Dra. Marlene Tiduko Ueta pela constante disposição em esclarecer minhas dúvidas e pelo uso do microcomputador para a impressão dos gráficos.

Aos amigos: Angélica, André, Oswaldo, Lucila, Verônica, Ângela, Chico e Rubens pelas opiniões, discussões e pelos bons momentos que compartilhamos.

Ao prof. Bertran pela amizade e pelo uso do microcomputador para impressão da tese.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Fundo de Apoio ao Ensino e à Pesquisa (FAEP) pelo suporte financeiro.

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

A todos os colegas: alunos e funcionários, do Departamento de Parasitologia que de alguma forma colaboraram para a execução desta tese.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVO.....	15
MATERIAL e MÉTODOS.....	16
RESULTADOS.....	24
TABELAS.....	29
FIGURAS.....	39
DISCUSSÃO.....	48
CONCLUSÕES.....	64
RESUMO.....	66
SUMMARY.....	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
ANEXOS.....	83

INTRODUÇÃO

As esquistossomoses são ainda um sério problema de saúde pública mundial sendo endêmica em 74 países. É estimado que 200 milhões de pessoas possuam a infecção e que de 500 a 600 milhões estejam expostas ao risco de infecção (WHO, 1993). Somente a esquistossomose mansônica atinge 52 países.

No Brasil, o número de pessoas infectadas por *Schistosoma mansoni* Sambon 1907, é de aproximadamente 5 a 6 milhões, variando suas taxas de prevalência de Estado para Estado e no decorrer do tempo (DOUMENGE *et alii*, 1987), atingindo 11% da área nacional (SILVEIRA, 1989). Em nosso país, as áreas endêmicas de esquistossomose têm, geralmente, como hospedeiro intermediário *Biomphalaria glabrata* ou *B. straminea*. A *B. tenagophila* está restrita a algumas áreas (DOUMENGE *et alii*, 1987). No Estado de São Paulo a esquistossomose apresenta-se em focos distribuídos nas regiões do Vale do Paraíba, Grande São Paulo, Vale do Ribeira, Baixada Santista, Litoral Sul, Região de Campinas e Vale do Paranapanema (SUCEN, 1982). Exceto nesta última região onde o hospedeiro intermediário é *B. glabrata*, em todo o restante do Estado a espécie hospedeira é *B. tenagophila* (VAZ *et alii*, 1983; VAZ *et alii*, 1986; VAZ *et alii*, 1987; TELES & VAZ, 1987). *B. straminea* ainda não é considerada como hospedeiro intermediário de importância à Saúde Pública (SANTOS *et alii*, 1980) em território paulista.

Em áreas geográficas distintas, isolados de uma mesma espécie de *S. mansoni* diferem-se em certos aspectos morfológicos ou fisiológicos, tais como: tamanho, adaptabilidade a determinados moluscos hospedeiros, infectividade aos mamíferos no campo ou em laboratório, produção de ovos, períodos pré-patentes, patogenicidade, imunogenicidade e suscetibilidade a quimioterápicos (ROLLINSON & SOUTHGATE, 1987).

Diferenças também são encontradas a nível genômico, McCUTCHAN *et alii* (1984) demonstraram, pela técnica de “Southern blotting”, utilizando gene ribossomal como sonda, variações não somente entre linhagens de áreas geográficas distintas, como também dentro da mesma região.

Há cerca de 80 anos iniciou-se a quimioterapia das esquistossomoses quando se utilizou o tártaro emético, um antimonial trivalente (CHRISTOPHERSON, 1918). Porém, os efeitos colaterais tóxicos do tártaro e a necessidade de repetidos tratamentos por via parenteral levou à pesquisa de drogas ativas, livres de metal e administradas por via oral. Os primeiros experimentos, quimioterápicos sistemáticos em laboratório foram iniciados na Alemanha em 1932 por KIKUTH e GÖNNERT (1948), quando testaram um novo composto, Miracil A, uma aminoxantona alquilada, dentro de uma série de xantonas que ficaram conhecidas por compostos da série “Miracil”. Estudos com os compostos desta série possibilitaram a descoberta do Miracil D, que possuía o nome genérico de lucanthone (KIKUTH & GÖNNERT, 1948).

CERF *et alii* (1962) demonstraram propriedades esquistossomicidas de um composto organofosforado utilizado como inseticida, o metrifonato, efetivo na cura parasitológica de *S. haematobium*.

LAMBERT (1964) descreveu o niridazole, que possuía atividade contra as três principais espécies de esquistossomos que parasitam o homem (*S. mansoni*, *S. haematobium* e *S. japonicum*).

ROSI *et alii* (1965) descreveram o hycanthone, obtido pela ação de *Aspergillus sclerotiorum* sobre o lucanthone.

Lucanthone, hycanthone e niridazole, devido a efeitos colaterais tóxicos e outros problemas, não preencheram os requisitos para se tornarem drogas

seguras a fim de serem usadas em larga escala nas regiões endêmicas. Entretanto, as pesquisas prosseguiram com a obtenção de drogas mais seguras.

RICHARDS e FOSTER (1969) descreveram o oxamniquine. Este medicamento vem sendo usado em larga escala no tratamento de *S. mansoni*, não possuindo atividade sobre as outras duas espécies. A droga provoca um deslocamento dos vermes das veias mesentéricas para as intra-hepáticas. Os machos são mais suscetíveis à droga quando comparados às fêmeas; porém o restabelecimento das mesmas nas veias mesentéricas (KOHN *et alii*, 1979) nada acarreta por ter seu sistema reprodutivo atrofiado, devido a regressão da glândula vitelínica (POPIEL *et alii*, 1984a; POPIEL & ERASMUS, 1984), provavelmente por causa da ausência do macho (POPIEL *et alii* 1984a e 1984b). Portanto não eliminando ovos deixa de contribuir para a patologia da esquistossomose e sua epidemiologia. Embora a droga seja absorvida em maior quantidade por machos (24,5 ng/verme) do que fêmeas (5,9 ng/verme) (WOOLHOUSE & KAYE, 1977), a concentração da droga e metabólitos por unidade de peso é maior em fêmeas, já que quando adultas têm um terço do peso de vermes machos (LENNOX & SCHILLER, 1972), indicando que a maior suscetibilidade do verme macho não se deve à sua maior absorção da droga.

THOMAS *et alii* (1975) descreveram o praziquantel, uma pirazino-isoquinoleína com função anti-helmíntica de largo espectro, que inicialmente foi usada como cestocida de uso veterinário. Praziquantel é ativo contra todas as espécies de esquistossomos que infectam o homem, diferentes das outras que são consideradas drogas monoespecíficas: oxamniquine é efetivo somente contra *S. mansoni* e metrifonato, usado apenas em infecções por *S. haematobium* (DAVIS, 1993). Praziquantel não apresenta efeitos colaterais significantes, nem reações adversas no fígado, rins ou outras funções do corpo e é,

indubitavelmente, o avanço mais importante na quimioterapia anti-helmíntica das últimas décadas. Estudos *in vivo* e *in vitro* não têm relatado atividade esquistossomícida de quaisquer dos componentes resultantes da metabolização do praziquantel (DIEKMANN & BUHRING, 1976), mostrando ser ele mesmo o componente ativo (ANDREWS *et alii*, 1980). O primeiro efeito sobre o esquistossoma após o tratamento é a rápida contração muscular e subsequente paralisia do verme (COLES, 1979; MEHLHORN *et alii*, 1981) seguida por uma rápida vacuolização do tegumento sincicial (MEHLHORN *et alii*, 1981; BRICKER *et alii*, 1983), que *in vivo* pode resultar em um encapsulamento por células do hospedeiro e eliminação do verme (MEHLHORN *et alii*, 1981). Em camundongos, a droga é rapidamente absorvida pelo intestino e cerca de 80% da droga absorvida se liga a proteínas plasmáticas (DAVIS, 1993). Além disso, a eficiência terapêutica pode ser aumentada se a dose única for dividida em 5 vezes (GÖNNERT & ANDREWS, 1977). Vários estudos comprovam a eficácia do praziquantel na reversão da fibrose hepática (ZWINGENBERGER *et alii*, 1990; MORCOS *et alii*, 1992), com uma rápida reabsorção dos granulomas pelos tecidos do hospedeiro (REIS & ANDRADE, 1987).

Ainda na década de 70, STRIEBEL (1976) descreveu a atividade de uma substância denominada amoscanato, um isotiocianato que possui atividade contra vários helmintos inclusive esquistossomos.

LEROY *et alii* relataram em 1978 um novo esquistossomícida, o oltipraz. Embora ambos tenham atividade esquistossomícida de amplo espectro não são largamente utilizados devido a efeitos colaterais, relativamente tóxicos.

Segundo a Organização Mundial da Saúde a quimioterapia é o método mais efetivo de controle da esquistossomose humana (WHO, 1993), já que os outros alvos (hospedeiros intermediário e meio ambiente) requerem maior custo,

que não é possível de ser mantido na maioria dos países acometidos. Hoje abre-se a perspectiva de uso de vacina (CAPRON *et alii*, 1992). Atualmente, a OMS coloca o metrifonato, o oxamniquine e o praziquantel como as principais drogas para o tratamento das esquistossomoses humanas (WHO, 1993). Ressalta-se que é bem conhecida a existência de linhagens de *S. mansoni* com graus de suscetibilidade diferentes perante a estes esquistossomicidas (DIAS *et alii*, 1978; COLES *et alii*, 1986).

Vários estudos têm relatado que há uma grande variação na resposta terapêutica de linhagens distintas de *S. mansoni*, tanto em áreas geográficas diferentes como dentro da mesma área (COLES *et alii*, 1986). Esta variação na suscetibilidade a drogas é influenciada pela espécie, sexo e estágio de desenvolvimento do trematódeo. Todavia, ressalta-se que esses aspectos não podem ser confundidos com resistência. É importante chamar a atenção que resistência está presente quando uma população de vermes previamente suscetível não responde a dose terapêutica usual de uma droga. Já, tolerância é encontrada em uma população de vermes que nunca respondeu adequadamente ao tratamento (DAVIS, 1993). COLES e BRUCE (1990) propuseram que um isolado de esquistossomos era parcialmente resistente, devido a um aumento da frequência de vermes resistentes/tolerantes na população parental, quando a resposta a quimioterapia era significativamente menor do que aquela da linhagem mais suscetível. É considerada resistência completa de uma linhagem ou isolado do trematódeo quando não ocorre resposta a dose máxima tolerada pelo hospedeiro (DAVIS, 1993). Entre populações de *S. mansoni*, foi observado a ocorrência de ambos os fenômenos (PRICHARD *et alii*, 1980).

Existem diferenças nítidas na resposta à quimioterapia apresentada por linhagens originárias da América do Sul e da África. Devido a este fato, na

América do Sul e na África Ocidental o oxamniquine é administrado na dose de 15 mg/kg para adultos e 20 mg/kg para crianças. Já no restante do continente africano a posologia varia de região para região, oscilando de 30 a 60 mg/kg, e não havendo distinção entre crianças e adultos (WHO, 1985).

TAYLOR & NELSON (1971) observaram que uma linhagem de *S. mansoni* da Tanzânia era mais suscetível ao niridazole do que uma de Porto Rico. BUEDING *et alii* (1973) trabalhando com 6 diferentes linhagens (3 de Porto Rico, uma da Libéria, uma da Tanzânia e outra de Santa Lúcia, ilha inglesa no mar das Antilhas) reportaram diferenças na resposta ao tratamento com drogas esquistossomicidas.

Diferenças nas respostas a quimioterapia, apresentadas por linhagens de *S. mansoni* da mesma área geográfica foi demonstrada por ARAÚJO *et alii* (1980), quando estudaram em laboratório a suscetibilidade ao niridazole, hycanthone e oxamniquine de sete linhagens do trematódeo obtidas de quatro pacientes tratados e três não tratados, todos infectados no Estado de Minas Gerais. Até então, muitos estudos relatavam apenas a variação na suscetibilidade a drogas apresentadas por linhagens oriundas de regiões geográficas diferentes.

KINOTI (1987) frente a essa enorme variação na suscetibilidade a drogas encontrada no parasito, sugeriu que *S. mansoni* possui uma grande capacidade para desenvolver resistência a doses terapêuticas de determinada droga e que esta resistência pode ser esperada quando e onde o parasito sofrer pressão contínua da mesma. Na época, o Autor se referia ao oxamniquine, porém esta relação poderia se estender a qualquer quimioterápico.

Um grande número de estudos foi realizado para detectar variações na suscetibilidade a drogas apresentadas por isolados de *S. mansoni* de regiões

distintas, mostrando que eles diferiam em sua sensibilidade aos esquistossomicidas (LEE *et alii*, 1971; COLES *et alii*, 1986; BRUCE *et alii*, 1987).

A mesma advertência feita por KINOTI (1987) foi repetida por COLES *et alii* (1987), no mesmo ano, quando afirmou que o parasito poderia se tornar resistente à droga por meio de tratamentos repetidos. Provavelmente, os programas de tratamentos em massa são um dos principais fatores que favorecem o aparecimento de linhagens com suscetibilidade alterada aos esquistossomicidas (COLES & BRUCE, 1987). Os primeiros casos de linhagens experimentalmente resistentes aos esquistossomicidas foram relatadas por ROGERS & BUEDING (1971) quando após tratamento com uma dose relativamente alta de hycanthone em camundongos e hamsters infectados com *S. mansoni*, alguns vermes sobreviveram e retomaram a oviposição após um período de seis a doze meses.

JANSMA *et alii* (1977) induziram resistência do *S. mansoni* ao hycanthone após tratamento da geração parental e relataram que a resistência era geneticamente transferida, testando a resposta da linhagem ao esquistossomicida por aproximadamente 20 gerações consecutivas. DIAS e OLIVIER (1986) realizaram tentativas de indução de resistência ao oxamniquine, oltipraz e praziquantel na cepa brasileira BH, segundo o esquema de indução desenvolvido por JANSMA *et alii* em 1977. Houve insucesso nas tentativas com os três esquistossomicidas. FALLON e DOENHOFF (1994) induziram resistência ao praziquantel e oxamniquine a partir de tratamentos com uma das drogas em seis gerações consecutivas de um "pool" de linhagens previamente suscetíveis a estes medicamentos. Estes autores concluíram que a resistência obtida era droga-específica pois o "pool" selecionado pelo praziquantel foi resistente ao mesmo e

suscetível ao oxamniquine, não constatando resistência cruzada entre as duas drogas.

No Brasil, os primeiros casos de resistência aos esquistossomicidas apresentada por linhagens do trematódeo isoladas do homem foram registrados por KATZ *et alii* (1973); outros casos de resistência foram relatados por CAMPOS *et alii* (1976), DIAS *et alii* (1978) e GUIMARÃES *et alii* (1979).

DIAS *et alii* (1978) isolaram uma linhagem do verme de paciente mineiro (MAP) tratado sem sucesso com hycanthone e depois com oxamniquine; após infecção em camundongo demonstrou-se resistência a ambas as drogas da linhagem MAP de *S. mansoni*. DIAS e OLIVIER (1985) constataram a estabilidade da linhagem MAP na 14^a geração, ao hycanthone, oxamniquine, niridazole, praziquantel e oltipraz, persistindo resistência às duas primeiras drogas e suscetibilidade às demais. Mais recentemente, foi demonstrado que a linhagem MAP manteve sua resistência estável ao hycanthone e oxamniquine na 24^a geração do verme (DIAS *et alii*, 1988). A linhagem MAP foi ainda testada em sua 36^a geração, observando resistência às dosagens de 100, 200, 300 e 400 mg/kg de oxamniquine e suscetibilidade parcial às posologias de 500 a 700 mg comprovando, assim, estabilidade de resistência nesta progênie (GONÇALVES & DIAS, 1991; DIAS & GONÇALVES, 1992). Em sua 42^a geração a linhagem MAP foi submetida a nova avaliação de suscetibilidade ao oxamniquine, apresentando uma eficácia de apenas 37% (MAGALHÃES *et alii*, 1993), confirmando, assim, a manutenção da resistência a esse quimioterápico. Estimou-se a necessidade de 1.227 mg/kg da droga para matar 99% dos vermes (DE_{99}) (GONÇALVES & DIAS, 1991; DIAS & GONÇALVES 1992). Sabe-se que a dosagem de 1.300 mg/kg é letal para 50% dos camundongos (DL_{50}) (YEANG *et alii*, 1987); assim, segundo

DAVIS (1993), a linhagem MAP apresenta uma resistência completa ao oxamniquine.

Em área do Quênia onde oxamniquine não foi usado em larga escala, COLES *et alii* (1987) demonstraram, em laboratório, a existência de linhagem de *S. mansoni* resistente àquela droga. Esses autores suspeitam que nessa área possa existir vermes tolerantes ao praziquantel.

Cruzamentos genéticos entre *S. mansoni* fenotipicamente resistentes e *S. mansoni* sensíveis demonstraram que resistência ao hycanthone e oxamniquine comporta-se como um caráter recessivo (CIOLI *et alii*, 1989); cruzando duas linhagens diferentes pôde-se concluir, por meio de teste de complementação gênica, que o mesmo gene está envolvido em cepas distintas (PICA-MATTOCCIA *et alii*, 1991; 1993); tem sido sugerido que a resistência se deve à deficiência de algum fator, possivelmente uma enzima do parasito capaz de converter a droga a um éster reativo, possivelmente, um sulfato ou fosfato (CIOLI *et alii*, 1985). Este éster poderia, espontaneamente, dissociar-se, sendo capaz de alquilar o DNA e outras macromoléculas do esquistossomo. O trematódeo resistente, nesta hipótese, não possuiria a enzima que produz a esterificação e então escaparia da alquilação e consequente morte (PICA-MATTOCCIA & CIOLI, 1985). CIOLI *et alii* (1985) mostraram que várias formas de esquistossomos resistentes ao hycanthone, incluindo *S. mansoni* imaturo, vermes adultos de *S. mansoni* de linhagens resistentes e *S. japonicum* foram mortos por tratamento com hycanthone N-metilcarbamato, um éster sintético de hycanthone que age como agente alquilante. Como há sempre resistência cruzada de hycanthone e oxamniquine presume-se que o modo de ação de ambas as drogas seja semelhante (CIOLI *et alii*, 1989).

BRINDLEY *et alii* (1989), testando linhagens de Porto Rico, observaram uma mudança genética ocorrida em vermes hycanthone-resistentes, por meio de comparação a nível genômico entre esquistossomos resistentes a hycanthone e seus progenitores droga-sensíveis, após ser realizado indução de resistência através de tratamento com dose subletal da droga ao 28^o dia de infecção. VIEIRA (1992) tentando demonstrar esta diferença genética entre populações resistentes e sensíveis ao oxamniquine, isoladas do campo, não obteve sucesso. Este fato demonstra a necessidade de desenvolvimento de pesquisas em laboratório, utilizando-se linhagens obtidas do campo.

DIAS NETO *et alii* (1993) utilizando técnica de amplificação ao acaso de DNA polimórfico (RADP) demonstraram que é possível identificar espécies do gênero *Schistosoma* e linhagens de *S. mansoni*. Os referidos autores distiguiram linhagens brasileiras do trematódeo, de São Paulo, Minas Gerais e Alagoas. BARRAL *et alii* (1993) utilizando a mesma técnica conseguiram identificar diferenças não apenas entre espécies de *Schistosoma* e linhagens de *S. mansoni* mas também entre sexo de uma mesma linhagem.

Devido ao fenômeno da tolerância ou resistência, torna-se difícil a determinação da posologia mais eficaz no tratamento da esquistossomose mansônica. Há citações na literatura de doses efetivas (DEs) para matar 90 e 99% dos vermes machos, DE₉₀ e DE₉₉, respectivamente. SHAW e BRAMMER (1983) trabalhando com camundongos albinos infectados por *S. mansoni* e utilizando uma combinação de oxamniquine e praziquantel, estimaram valores para DE₉₉, dependendo da proporção de cada fármaco. Esses autores apontam que uma vantagem potencial da terapêutica combinada é diminuir a probabilidade de que linhagens de esquistossomos venham a se tornar resistentes quando usadas separadamente em tratamento em massa. Porém, FARID *et alii* (1990)

trabalhando com tratamento de 20 pacientes, com média de idade de 14,7 anos, não obtiveram resultados animadores com o tratamento combinado de 10 mg/kg de oxamniquine e 20 mg/kg de praziquantel. LIMA (1991), em tratamento de crianças com as duas drogas nas dosagens de: 20 mg/kg de oxamniquine, 60 mg/kg de praziquantel e 10 mg/kg de oxamniquine e 30 mg/kg de praziquantel, ambos simultaneamente; também não observou vantagens na combinação de oxamniquine e praziquantel, encontrando eficácias semelhantes para os três tratamentos, sendo os índices de cura de 78,4% para oxamniquine, 68,1% para praziquantel e 77,3% para as crianças que receberam ambas as drogas.

YEANG *et alii* (1987), por meio de curvas de resposta à droga, calcularam valores para DE_{90} e DE_{99} . Entre as linhagens testadas sob pressão de oxamniquine destacou-se a cepa brasileira MAP; a linhagem quando submetida a 1000 mg/kg de oxamniquine (DL_{50} = 1250-1300 mg/kg) diminuiu a carga parasitária em 85% e o pequeno número de vermes sobreviventes conseguiu, depois de nove meses, recuperar a capacidade de produzir ovos; esses ovos originaram a progênie MAP₂. Esta geração que sofreu pressão da droga, apresentou uma resistência surpreendente de 100% quando submetida a 1000 mg/kg de oxamniquine e não houve interrupção na produção de ovos.

Visando testar os níveis de suscetibilidade da 36ª geração da linhagem MAP à diferentes dosagens de oxamniquine, foi permitido o isolamento de uma sublinhagem de vermes resistentes à 700 mg dessa droga (GONÇALVES & DIAS, 1991). DIAS *et alii* (1992) avaliaram a suscetibilidade desta sublinhagem na 38ª geração, à 700 mg/kg de oxamniquine e obtiveram 22,2% de redução de vermes com um eficácia de apenas 49%.

A falha de cura após repetidos tratamentos não significa que, automaticamente, possamos concluir a presença de resistência à droga. Devem

ser realizados estudos detalhados em laboratório com camundongos ou outros roedores albergando vermes maduros tratados com diferentes posologias de uma droga com a finalidade de avaliar suas DEs. Os critérios amplamente utilizados por vários autores, para avaliar a suscetibilidade dos esquistossomos às drogas são a percentagem de alteração de oograma, a localização dos vermes no sistema porta-hepático, a percentagem de redução de vermes, as percentagens de vermes acasalados, mortos e sobreviventes, a eficácia e dose efetiva (DE).

Em nosso trabalho estudamos, *in vivo*, o comportamento da linhagem Ouh (Ourinhos humana) de *S. mansoni*, frente a drogas esquistossomicidas (oxamniquine e praziquantel). Essa linhagem foi isolada, em nosso laboratório, a partir de três portadores autóctones de Ourinhos (Vale do Paranapanema, São Paulo) que não haviam sido tratados com esquistossomicidas (GOMES *et alii*, 1993)

O Vale do Paranapanema representa uma das únicas regiões do Estado de São Paulo onde há *B. glabrata* albergando a larva do parasito. A esquistossomose mansônica foi assinalada na área em 1953 (REY, 1953); em Ourinhos, o primeiro caso autóctone data de 1951 (SUCEN, 1982). Em 1952, foi assinalado pela primeira vez em São Paulo a presença de *B. glabrata*, naturalmente infectada, no município de Ourinhos (REY, 1953). O Vale do Paranapanema é uma região paulista endêmica, controlada pela SUCEN (Superintendência de Controle de Endemias) e seus portadores vêm sendo submetidos ao tratamento pelo oxamniquine desde 1973, evidenciando assim uma área com pressão de droga há cerca de vinte anos. Trabalhos realizados com a linhagem Ouh de *S. mansoni*, demonstraram que esta possui tolerância ao oxamniquine (100 mg/kg, dose única, via oral) e ao praziquantel (100 mg/kg/5

dias, via oral) (GOMES *et alii*, 1993). Estes autores obtiveram tais resultados ao desenvolver estudo sobre caracterização biológica desta linhagem.

A quimioterapia experimental, *in vitro*, utilizando cultura de vermes (CIOLI, 1976) também tem permitido detectar populações de *S. mansoni* com suscetibilidade alterada a agentes terapêuticos; porém é o teste *in vivo* que nos possibilita verificar quais são as dosagens mais adequadas de esquistossomicidas que logram êxito na cura parasitológica do trematódeo. O isolamento de linhagens do campo onde está ocorrendo pressão de drogas, seguido da avaliação *in vivo* são etapas imprescindíveis para melhor análise das mesmas. A realização desse processo é que fornecerá material necessário para ensaios *in vitro* (como selecionar indivíduos resistentes de uma população de vermes e transferi-los a camundongos para estudos genéticos) e para técnicas de biologia molecular (como localização do gene de resistência e seu possível seqüenciamento), visando, assim contribuir efetivamente no controle da endemia no Brasil.

OBJETIVOS

Avaliar *in vivo* a suscetibilidade da linhagem Ouh (Ourinhos humana) de *Schistosoma mansoni*, frente a diferentes dosagens de oxfamiquine e praziquantel, segundo os seguintes critérios:

- percentagem de vermes nas veias intra-hepáticas;
- percentagem de vermes acasalados;
- percentagem de vermes machos e fêmeas mortos;
- percentagem de alteração de oograma;
- percentagem de vermes sobreviventes;
- percentagem de redução de vermes;
- percentagem de eficácia.

Determinar as doses efetivas (DEs) com base no número de vermes machos sobreviventes.

MATERIAL e MÉTODOS

1. Hospedeiro definitivo

Os camundongos heterogenéticos utilizados foram Swiss-SPF, fêmeas com idade ao redor de quatro semanas, fornecidos pelo Centro de Bioterismo da UNICAMP. Os animais foram mantidas em caixas plásticas com tampa metálica e alimentadas com ração de animal de laboratório e água "*ad libitum*". No manejo os animais recebiam maravalha autoclavada, em três trocas semanais.

2. Hospedeiro intermediário

Os moluscos planorbídeos *Biomphalaria glabrata* destinados à exposição foram mantidos em tanques de Eternit (50l) e alimentados, diariamente, com folhas de alface fresca e ração para rato triturada com adição de carbonato de cálcio 10% (SOUZA *et alii*, 1987).

3. Infecção do caramujo

Cinco miracídios recém eclodidos (STANDEN, 1952) de fezes de camundongos da linhagem Ouh foram colocados em um frasco de vidro ("snap-cap"), juntamente com um único exemplar de *B. glabrata*, medindo entre 5 a 8 mm de diâmetro (FIGUEIREDO, 1991). Os moluscos foram expostos, por duas horas, ao calor e à iluminação. Findo o período de exposição, os moluscos foram mantidos em aquários de vidro para futura obtenção de cercárias (SOUZA *et alii*, 1987). Foram expostos à infecção cerca de 200 moluscos para que fornecessem uma quantidade razoável de positivos (aproximadamente 30) a fim de se obter um equilíbrio entre os sexos do verme nos camundongos (PELLEGRINO & KATZ, 1968).

Decorridos 35-40 dias de infecção, os moluscos foram examinados, individualmente, para observar a eliminação de cercárias, usando-se pequenos

frascos de vidro ("snap-cap"), com água decolorada. Após exposição à luz e calor durante 2 horas, a presença de cercárias foi detectada mediante observação ao microscópio estereoscópico (OLIVER & STIREWALT, 1952).

4. Formação dos grupos experimentais

Foram utilizados 130 camundongos, que constituíram 10 grupos de 13 animais cada. Cinco desses grupos foram tratados com diferentes dosagens de oxamniquine e cinco com praziquantel. Foram realizados tratamentos com 0 [que receberam placebo, ou melhor, o veículo da droga: solução 1% de Cremophor (COLES *et alii*, 1986)], 100, 200, 300 e 400 mg/kg, via oral, dose única de oxamniquine e 0 (como referido para oxamniquine), 100, 150, 200 e 250 mg/kg/ 5 dias, via oral, de praziquantel. Para cada grupo de determinada dosagem haviam 13 camundongos dos quais 8 foram perfundidos após 15 dias do tratamento e 5 foram mantidos para acompanhamento da oviposição do verme (grupo de seguimento). A alocação dos camundongos aos grupos experimentais seguiu um esquema completamente aleatorizado. A seleção dos oito, em cada grupo, a serem perfundidos, e conseqüentemente dos cinco mantidos para observar a oviposição, seguiu o esquema de amostra aleatória simples.

Foram escolhidas as referidas dosagens de oxamniquine, devido a experiências em trabalhos anteriores (GONÇALVES & DIAS, 1991; DIAS & GONÇALVES, 1992); o mesmo aconteceu com praziquantel acrescentando que as dosagens foram menores uma vez que a linhagem em estudo (Ouh) é mais sensível (GOMES *et alii*, 1993).

O tamanho dos grupos foi determinado estatisticamente e com base em experiências anteriores em nosso laboratório.

5. Identificação e sorteio dos camundongos

Os camundongos foram marcados com ácido pícrico no pêlo, sendo separados em gaiolas (máximo de 10 animais por gaiola).

Tanto os animais dos grupos tratados quanto os de controle foram formados por camundongos fêmeas Swiss, com aproximadamente 25 g de peso corporal, escolhidos aleatoriamente.

6. Linhagem de *Schistosoma mansoni*

Foi utilizada a 4ª geração da linhagem Ouh, já isolada e mantida em nosso laboratório em *B. glabrata* simpátrica (GOMES *et alii*, 1993).

7. Infecção de camundongos albinos

Com as cercárias obtidas foram infectados camundongos pela cauda (OLIVIER & STIREWALT, 1952). Para conter os camundongos durante as duas horas de infecção foram utilizados dispositivos de contenção de camundongos (BROMME & RADKE, 1971, e modificados por FIGUEIREDO, 1991). Os animais foram infectados, individualmente, com 70 cercárias.

8. Tratamento dos camundongos

Após pesagem dos animais e sorteio para escolha do tratamento (droga e posologia), os mesmos foram medicados.

8.1. Oxamniquine

Após 50 dias de infecção os camundongos foram medicados com oxamniquine, sal puro dissolvido em solução 1% de cremophor (COLES *et alii*,

1986), por via oral e em dose única, com uma das dosagens já mencionadas (0, 100, 200, 300 ou 400 mg/kg)

8.2. Praziquantel

O tratamento seguiu o mesmo esquema da outra droga acima referida, diferindo apenas nas posologias (0, 100, 150, 200 e 250 mg/kg/5 dias). Foi utilizado sal puro da droga.

Ambas as drogas foram administradas com seringa tuberculina de vidro graduada em ml, com agulha especial para tubagem duodenal.

9. Perfusão

Os camundongos dos grupos destinados à perfusão do sistema porta-hepático (oito em cada grupo) foram sacrificados por deslocamento cervical após 15 dias do término da terapêutica. Após a perfusão, em separado do fígado e do mesentério (YOLLES *et alii*, 1947), os vermes foram coletados por aspiração e filtragem (RADKE *et alii*, 1961, modificado por DIAS *et alii*, não publicado). O fígado, após a perfusão, foi esmagado entre duas placas de vidro para verificação da existência de vermes não recolhidos pela perfusão (HILL, 1956).

Os vermes obtidos foram separados em placas de Petri, com salina 0,85%, contados e classificados, segundo sua localização, sexo e vitalidade.

10. Exame de fezes

Os cinco animais restantes (grupo de seguimento) foram acompanhados, por um ano, com exames de fezes quinzenais, pelo método de Kato-Katz (KATZ *et alii*, 1972), para seguimento da oviposição do trematódeo. Na semana que intercalava os exames quantitativos, era realizado eclosão de miracídio, obtido das fezes (STANDEN, 1952).

11. Oograma

O estudo quantitativo foi feito com uso de microscópio em fragmentos de intestino delgado, usando lâminas de vidro e lamínulas de plástico transparente (PELLEGRINO & KATZ, 1968). A classificação dos estágios de desenvolvimento dos ovos imaturos seguiu o seguinte critério (PELLEGRINO *et alii*, 1962): 1º estágio, o embrião ocupa um terço do diâmetro transversal do ovo; 2º estágio, o embrião tem tamanho aproximadamente igual ao diâmetro do ovo; 3º estágio, o embrião ocupa dois terços do diâmetro longitudinal do ovo; 4º estágio, o embrião ocupa praticamente todo o ovo. Os ovos maduros contém um miracídio completamente desenvolvido. Os ovos mortos e cascas de ovos também foram classificados. O oograma foi considerado alterado quando esteve ausente um ou mais estágios correspondentes a ovos imaturos.

12. Avaliação da suscetibilidade à droga

A suscetibilidade às drogas esquistossomicidas foi avaliada pelos seguintes critérios:

- percentagem de vermes nas veias intra-hepáticas;
- percentagem de vermes acasalados;
- percentagem de vermes machos e fêmeas mortos;
- percentagem de alteração de oograma;
- percentagem de vermes sobreviventes (JANSMA *et alii*, 1977)

$$\% \text{ vermes sobreviventes} = \frac{T}{C} \times 100$$

onde: T= número médio de vermes vivos encontrados no grupo teste;

C = número médio de vermes vivos encontrados no grupo controle (0 mg/kg da referida droga)

-percentagem de redução de vermes (GÖNNERT & ANDREWS, 1977)

$$\% \text{ redução de vermes} = \frac{\text{número de vermes mortos}}{\text{nº de vermes mortos e vivos}} \times 100$$

-percentagem de eficácia (KEMP *et alii*, 1956)

$$\% \text{ eficácia} = \frac{X - Y}{X} \times 100$$

onde: X=número médio de vermes vivos no grupo controle (0 mg/kg da referida droga)

Y=número médio de vermes vivos no grupo teste

12. Análise estatística

12.1. Doses efetivas (DEs)

Foram calculadas as doses efetivas (DEs) com base no número de vermes machos sobreviventes (FOSTER & CHEETHAM, 1973).

Estas doses foram determinadas através de “Análise de Probitos” (procedimento específico do SAS) a partir de resultados de vermes machos sobreviventes em cada dosagem de determinada droga e para cada camundongo submetido à mesma. Este tipo de análise fornece uma curva de resposta quantal, na qual se pode obter um determinado valor de dosagem a partir de uma percentagem de vermes machos sobreviventes.

12.2. Diagramas de caixas (“Box-plot”)

Alguns parâmetros de avaliação da suscetibilidade à droga, como percentagens de: vermes mortos no fígado, de vermes coletados (vivos e mortos)

no fígado, de vermes acasalados (vivos, mortos e total) e de redução foram analisados pelo diagrama de caixa ("box-plot"). O "box-plot" corresponde a um gráfico simples que fornece uma grande quantidade de informações sobre características de um conjunto de dados. Diagramas de caixa descrevem a massa dos dados por um retângulo (caixa cujos limites inferior e superior são, respectivamente, o primeiro (Q_1) e o terceiro (Q_3) quartis. A mediana (Q_2), ou segundo quartil, é designada por uma linha horizontal traçada dentro do retângulo. A média é denotada por um símbolo "+". Linhas verticais, são extraídas dos finais das caixas para um valor adjacente inferior ou superior. O valor adjacente superior é a maior observação que é menor ou igual a $Q_3 + 1,5 (Q_3 - Q_1)$. O valor adjacente inferior é a menor observação que é maior ou igual a $Q_1 - 1,5 (Q_3 - Q_1)$. Quaisquer valores que caiam fora dos valores adjacentes são destacados separadamente sobre o gráfico (com um símbolo $\square$), pois eles indicam observações discrepantes ("out-liers"). As posições relativas dos quartis Q_1 , Q_2 e Q_3 , bem como as observações discrepantes dão uma idéia da assimetria da distribuição.

RESULTADOS

No tratamento com oxamniquine na dosagem de 100 mg/kg, pudemos observar uma alta percentagem de vermes vivos (54,9%) (TABELA I), sendo encontrados machos e fêmeas além de vermes acasalados (TABELAS II e III), mostrando que muitos vermes não morreram com a terapêutica, permanecendo ainda no mesentério (6,9%) (TABELA I). Notamos também a ocorrência de um camundongo onde o oograma não se alterou, ou seja, não houve interrupção da oviposição. Registramos, no total, 87,5% de alteração de oograma (TABELA V). A sobrevivência dos vermes foi confirmada pelo grupo de seguimento no qual detectamos a recuperação da oviposição após 75 dias do término do tratamento (TABELA VI). Foi considerada como recuperação aquela registrada após 45 dias da terapêutica; no período antecedente, os ovos foram aceitos como eliminados por fêmeas que ainda não tinham sido tratadas. Ressalta-se a expressiva quantidade de ovos na primeira contagem, correspondente ao dia de tratamento, ou seja, quando os vermes ainda não haviam sofrido a ação da droga (TABELA VI).

No tratamento com 200 mg de oxamniquine/kg observamos uma menor, porém ainda alta percentagem de vermes vivos (23,3%) (TABELA I). No entanto, todos os vermes recuperados na perfusão eram fêmeas (TABELAS II e III), havendo interrupção de oviposição (TABELA V). Já no grupo de seguimento pudemos observar a presença de ovos nas fezes de dois camundongos após o 45º e 75º dia do término do tratamento (TABELA VI), indicando a presença de vermes machos além de fêmeas. Constatou-se pelo exame de eclosão de miracídios que estes ovos eram viáveis (TABELA VII).

As percentagens de eficácia encontradas nos tratamentos com oxamniquine nas dosagens de 100 e 200 mg/kg foram de 66,0% e 91,4%, respectivamente (TABELA V).

Nos demais grupos tratados com oxamniquine não notamos número significativo de vermes vivos, sendo recuperados apenas uma fêmea viva no grupo de 400 mg/kg (TABELAS I, II e III). Nestes grupos também nenhum animal recuperou a oviposição (TABELAS VI e VII).

No tratamento com praziquantel na dose de 100 mg/kg/5 dias, foi detectado um número relativamente elevado de vermes vivos (13,3%) (TABELA I), sendo machos, fêmeas e casais (TABELAS II e III). A percentagem de eficácia registrada neste grupo foi de 90,1%, e a percentagem de alteração de oograma foi de 83,3%, sendo que 3,4% dos vermes permaneceram no mesentério (TABELA V). No grupo de seguimento, dois animais recuperaram a oviposição após o 60° e o 105° dia do término do tratamento (TABELAS VI e VII).

No grupo tratado com 150 mg de praziquantel/kg/5 dias também foram observados vermes vivos distribuídos entre machos, fêmeas e casal, porém em menor número, apenas um por categoria (TABELAS II e III). Pôde ser observada retomada de oviposição dos vermes após 60 dias do término do tratamento em um camundongo (TABELAS VI e VII).

Nas demais dosagens de praziquantel não foi encontrado vermes machos nem casais vivos, apenas fêmeas (TABELAS II e III).

A maioria dos oogramas realizados em camundongos tratados apresentou alteração em contraposição aos dos grupos controles que permaneceram normais em todos os animais (TABELA V).

O número médio de vermes coletados nas perfusões variou de $12,9 \pm 6,5$ no grupo tratado com 200 mg de oxamniquine/kg a $33,8 \pm 3,0$ que foi encontrado no grupo tratado com a mesma droga porém na dosagem de 150 mg/kg (TABELA IV). Nos grupos controles foram recuperados $33,5 \pm 22,5$ vermes e $35,6 \pm 12,6$ para praziquantel e oxamniquine, respectivamente (TABELA IV).

A contagem de ovos, pelo método de Kato-Katz, dos grupos de camundongos que recuperaram a oviposição estão apresentados na tabela VI, notando irregularidade no número de ovos eliminados.

Com a detecção de ovos viáveis nas fezes de animais tratados (animais do grupo de seguimento) (TABELA VII) foram infectados moluscos, individualmente; alguns deles eliminaram cercárias que foram utilizadas para infecção de camundongos, possibilitando o isolamento de sublinhagens do trematódeo que correspondiam aos grupos tratados com oxamniquine 100 mg/kg, com praziquantel 100 mg/kg e 150 mg/kg; formando assim as sublinhagens OXA-100, PZQ-100 e PZQ-150, respectivamente. Porém devido ao pequeno número de caramujo positivo da sublinhagem PZQ-150 (apenas um) os camundongos infectados por cercárias eliminadas por ele não eliminaram ovos após 45 dias a infecção.

As curvas de doses efetivas para a linhagem Ouh, frente a diferentes dosagens de oxamniquine e praziquantel são apresentadas nas figuras 1 e 2. Pode-se observar que a dose efetiva para matar 99% dos vermes machos (DE_{99}) é de 159,4 mg/kg para oxamniquine (FIGURA 1) e de 129,2 mg/kg/5 dias para o praziquantel (FIGURA 2).

Os diagramas de caixa ("box-plot") das percentagens de vermes mortos no fígado, vermes coletados no fígado, vermes acasalados (vivos e/ou mortos) e redução estão apresentados nas figuras 3 a 14.

As percentagens de vermes coletados no fígado, para as diversas dosagens maior que zero das duas drogas, não tiveram diferenças significativas (FIGURAS 3 e 4). No grupo tratado com 0 mg/kg de oxamniquine um pequeno número de vermes mortos pode ser observado no fígado (FIGURA 5) e sua ausência pode ser observada para esta mesma dosagem no grupo de praziquantel (FIGURA 6).

As percentagens de vermes acasalados foram maiores para os grupos tratados com 0 mg/kg das drogas de oxamniquine ou praziquantel (FIGURAS 7 e 8), sendo que neste grupo os casais encontrados estavam vivos (FIGURA 9 a 12). O contrário ocorreu para as outras dosagens que mostraram um menor número de vermes acasalados (FIGURA 9 a 12) e que no caso do praziquantel a grande maioria estavam mortos (FIGURAS 10 e 12). Para as dosagens de 200, 300 e 400 mg de oxamniquine/kg foram encontrados raros casais e todos estavam mortos (FIGURA 9), os quais são representados pelos "outliers". Para a dosagem de 100 mg/kg de oxamniquine e praziquantel foram encontrados um número razoável de casais vivos (FIGURAS 9 e 10).

Pelos diagramas de caixa para as percentagens de redução (FIGURA 13), constatamos que para a dosagem de 100 mg/kg de oxamniquine os valores são relativamente baixos; grande amplitude pode ser observada para as dosagens de 100 e 200 mg de oxamniquine/kg (FIGURA 13). Para as dosagens de praziquantel as variações foram menores porém não estiveram ausentes (FIGURA 14).

Detalhes sobre a análise estatística estão nas tabelas do Anexo.

TABELAS

TABELA I - Número total e distribuição de vermes coletados nos grupos oxamniquine e praziquantel de camundongos infectados com 70 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem Ouñ.

Droga	Dose mg/kg	Nº de camundongos		Vermes Coletados				Distribuição dos vermes		
		Tratados	Examinados	Vivos		Mortos		Total	Fígado	
				n	%	n	%		n	%
OXA	0	8	7	245	98,4	4	1,6	249	64	25,7
OXA	100	8	8	95	54,9	78	45,1	173	161	93,1
OXA	200	8	7	21	23,3	69	76,7	90	89	98,9
OXA	300	8	8	0	0,0	146	100,0	146	146	100,0
OXA	400	8	8	1	0,7	148	99,3	149	149	100,0
PZQ	0	8	4	134	100,0	0	0,0	134	42	31,3
PZQ	100	7	7	23	13,3	153	86,9	176	170	96,6
PZQ	150	7	5	4	2,4	165	97,6	169	169	100,0
PZQ	200	8	7	4	2,5	154	97,5	158	158	100,0
PZQ	250	4	4	5	5,3	89	94,7	94	93	98,9

Obs: Oxa - oxamniquine (dose única, via oral)

PZQ - praziquantel (5 dias de tratamento, via oral)

TABELA II - Número total e percentagem de vermes coletados em camundongos dos grupos oxamniquine e praziquantel infectados com 70 cercárias de *Shistosoma mansoni* da linhagem Ouñ.

		VERMES COLETADOS																			
		VIVOS						MORTOS													
Droga	Dose mg/kg	Macho		Fêmea		Casal		Subtotal	Macho		Fêmea		Casal		Subtotal	Total					
		n	%	n	%	n	%		n	%	n	%	n	%							
OXA	0	52	21,2	37	15,1	78	31,8	245	4	100,0	0	0,0	0	0,0	4	249					
OXA	100	16	16,8	75	78,9	2	2,1	95	61	78,2	15	19,2	1	1,3	78	173					
OXA	200	0	0,0	21	100,0	0	0,0	21	26	37,7	41	59,4	1	1,4	69	90					
OXA	300	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	66	45,2	78	53,4	1	0,7	146	146					
OXA	400	0	0,0	1	100,0	0	0,0	1	57	38,5	91	61,5	0	0,0	148	149					
PZQ	0	23	17,2	13	9,7	49	36,6	134	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	134					
PZQ	100	4	17,4	13	56,5	3	13,0	23	49	28,3	64	37,0	20	11,6	153	176					
PZQ	150	1	25,0	1	25,0	1	25,0	4	84	49,7	49	29,0	16	9,5	165	169					
PZQ	200	0	0,0	4	100,0	0	0,0	4	44	27,8	60	38,0	25	15,8	154	158					
PZQ	250	0	0,0	5	100,0	0	0,0	5	38	40,4	31	33,0	10	10,6	89	94					

Obs: OXA - oxamniquine (dose única, via oral)

PZQ - praziquantel (5 dias de tratamento, via oral)

TABELA III - Número médio e desvio padrão de vermes coletados em camundongos dos grupos oxamniquine e praziquantel infectados com 70 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem Ouh.

Droga	Dose mg/kg	NÚMERO MÉDIO DE VERMES COLETADOS					
		VIVOS			MORTOS		
		Macho	Fêmea	Casal	Macho	Fêmea	Casal
OXA	0	7,4±5,2	5,3±3,5	11,1±6,4	0,6±1,0	0,0±0,0	0,0±0,0
OXA	100	2,0±2,9	9,4±5,4	0,3±0,5	7,6±7,0	1,9±3,0	0,1±0,3
OXA	200	0,0±0,0	3,0±3,8	0,0±0,0	3,7±3,3	5,9±4,1	0,1±0,4
OXA	300	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	8,3±2,9	9,8±5,7	0,1±0,4
OXA	400	0,0±0,0	0,1±0,4	0,0±0,0	8,1±6,3	13,0±4,1	0,0±0,0
PZQ	0	5,8±4,6	3,3±3,6	12,3±8,4	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
PZQ	100	0,6±1,5	1,9±2,1	0,4±0,8	7,0±3,7	9,1±5,1	2,9±1,6
PZQ	150	0,2±0,4	0,2±0,4	0,2±0,4	16,8±2,4	9,8±4,1	3,2±1,1
PZQ	200	0,0±0,0	0,6±1,5	0,0±0,0	6,3±1,8	8,6±2,5	3,6±2,1
PZQ	250	0,0±0,0	1,3±1,5	0,0±0,0	9,5±3,8	7,8±3,3	2,5±0,6

Obs: OXA - oxamniquine (dose única, via oral)

PZQ - praziquantel (5 dias de tratamento, via oral)

TABELA IV - Número médio e desvio padrão de vermes coletados (vivos e mortos) em camundongos dos grupos oxamniquine e praziquantel infectados com 70 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem Ouh.

Droga	Dose(mg/kg)	NÚMERO MÉDIO DE VERMES COLETADOS			
		Macho	Fêmea	Casal	Total
OXA	0	8,0±6,2	5,3±3,5	11,1±6,4	35,6±12,6
OXA	100	9,6±9,6	11,3±6,5	0,4±0,5	21,6±4,8
OXA	200	3,7±3,3	8,9±4,0	0,1±0,4	12,9±6,5
OXA	300	8,3±2,9	9,8±5,7	0,1±0,4	18,3±5,9
OXA	400	8,1±6,3	13,1±4,1	0,0±0,0	21,3±8,9
PZQ	0	5,8±4,6	3,3±3,6	12,3±8,4	33,5±22,5
PZQ	100	7,6±3,8	11,0±5,3	3,3±2,1	25,1±10,4
PZQ	150	17,0±2,5	10,0±4,3	3,4±1,1	33,8±3,0
PZQ	200	6,3±1,8	9,1±3,2	3,6±2,1	22,6±6,0
PZQ	250	9,5±3,8	9,0±4,5	2,5±0,6	23,5±5,3

Obs: OXA - oxamniquine (dose única, via oral)

PZQ - praziquantel (5 dias de tratamento, via oral)

TABELA V - Atividade esquistossomícida de oxamniquine e praziquantel em camundongos infectados com 70 cercárias da linhagem Ouh de *Schistosoma mansoni*.

Droga	Dose (mg/kg)	% de vermes coletados Fígado	Mesentério	% de vermes mortos no fígado	% de alteração de oogramas	% de redução de vermes	% de vermes sobreviventes	Eficácia (%)
OXA	100	93,1	6,9	77,0	87,5	45,1	34,0	66,0
OXA	200	98,9	1,1	75,6	100,0	76,7	8,6	91,4
OXA	300	100,0	0,0	100,0	100,0	100,0	0,0	100,0
OXA	400	100,0	0,0	99,3	100,0	99,3	0,3	99,7
PZQ	100	96,6	3,4	86,9	83,3	86,9	9,9	90,1
PZQ	150	100,0	0,0	97,6	100,0	97,6	2,4	97,6
PZQ	200	100,0	0,0	97,5	100,0	97,5	1,8	98,2
PZQ	250	98,9	1,1	94,7	100,0	94,7	3,9	96,1

TABELA VI - Resultados dos exames de fezes quinzenais, pelo método de Kato-Katz, dos grupos de seguimento formados por camundongos infectados com 70 cercárias da geração F₄ da linhagem Ouh de *Schistosoma mansoni*, e tratados com oxamniquine ou praziquantel.

camundongo número	droga	dose mg/kg	OVOS POR GRAMA DE FEZES / DIAS DE SEGUIMENTO APÓS TRATAMENTO											
			1	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165
38	OXA	0	50	3792	1580	1967	2256	960	1272	+				
51	OXA	0	125	3408	+									
79	OXA	0	1300	864	+									
111	OXA	0	NR	1632	1320	325	540	360	528	+				
117	OXA	0	18650	3233	+									
36	OXA	100	400	0	24	0	NR	72	192	120	72	0	0	0
45	OXA	100	936	0	0	0	0	NR	0	0	0	0	0	0
72	OXA	100	200	NR	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
83	OXA	100	696	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
92	OXA	100	1267	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	OXA	200	NR	0	0	0	0	48	0	0	0	24	0	0
91	OXA	200	2640	24	0	216	0	48	0	24	0	24	0	0
95	OXA	200	30100	+										
97	OXA	200	5976	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
122	OXA	200	1950	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	PZQ	0	NR	+										
8	PZQ	0	120	167	168	24	48	144	+					
14	PZQ	0	120	312	72	432	288	456	336	72	336	576	120	24
65	PZQ	0	24	+										
70	PZQ	0	696	+										
3	PZQ	100	552	0	0	0	0	0	0	29	0	0	0	0
33	PZQ	100	192	0	0	0	48	24	0	24	72	24	120	0
99	PZQ	100	3033	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
128	PZQ	100	2100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
129	PZQ	100	840	+										
26	PZQ	150	288	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	PZQ	150	240	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
41	PZQ	150	533	+										
58	PZQ	150	2060	0	0	0	56	0	0	0	24	0	0	0
110	PZQ	150	1512	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Obs: OXA: tratamento com oxamniquine em dose única, via oral;

PZQ: tratamento com praziquantel por 5 dias, via oral;

+ : óbito do camundongo;

* : ovos por grama de fezes;

NR: não realizado

TABELA VI - continuação

camundongo número	droga	dose mg/kg	OVOS POR GRAMA DE FEZES / DIAS DE SEGUIMENTO APÓS TRATAMENTO												
			180	195	210	225	240	255	270	285	300	315	330	345	360
38	OXA	0													
51	OXA	0													
79	OXA	0													
111	OXA	0													
117	OXA	0													
36	OXA	100	96	72	0	144	24	24	24	0	72	48	0	0	24
45	OXA	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
72	OXA	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
83	OXA	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
92	OXA	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	OXA	200	0	0	0	0	0	0	24	168	24	0	0	48	48
91	OXA	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
95	OXA	200													
97	OXA	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
122	OXA	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	PZQ	0													
8	PZQ	0													
14	PZQ	0	312	144	193	264	72	240	144	96	48	120	0	96	72
65	PZQ	0													
70	PZQ	0													
3	PZQ	100	0	0	0	0	0	0	24	120	0	0	0	+	
33	PZQ	100	0	24	0	0	0	96	48	24	48	120	24	24	144
99	PZQ	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
128	PZQ	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
129	PZQ	100													
26	PZQ	150	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0
30	PZQ	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
41	PZQ	150													
58	PZQ	150	0	0	48	0	0	0	46	0	24	0	24	0	0
110	PZQ	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Obs: OXA: tratamento com oxamniquine em dose única, via oral;

PZQ: tratamento com praziquantel por 5 dias, via oral;

+ : óbito do camundongo;

* : ovos por grama de fezes;

NR: não realizado

TABELA VII – Resultados dos exames de fezes quinzenais, por eclosão de miracídios, dos grupos de seguimento formados por camundongos infectados com 70 cercárias da geração F₄ da linhagem Ouh de *Schistosoma mansoni*, e tratados com oxamniquine ou praziquantel.

camundongo número	droga	dose mg/kg	MIRACÍDIOS / DIAS DE SEGUIMENTO APÓS TRATAMENTO											
			7	22	37	52	67	82	97	112	127	142	157	172
38	OXA	0	+	+	+	+	+	+	+	*				
51	OXA	0	+	+	*									
79	OXA	0	+	+	*									
111	OXA	0	+	+	+	+	+	+	+	*				
117	OXA	0	+	+	*									
36	OXA	100	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
45	OXA	100	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72	OXA	100	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
83	OXA	100	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
92	OXA	100	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	OXA	200	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
91	OXA	200	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
95	OXA	200	+	*										
97	OXA	200	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
122	OXA	200	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	PZQ	0	+	*										
8	PZQ	0	+	+	+	+	+	+	*					
14	PZQ	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
65	PZQ	0	+	*										
70	PZQ	0	+	*										
3	PZQ	100	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
33	PZQ	100	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
99	PZQ	100	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
128	PZQ	100	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
129	PZQ	100	+	*										
26	PZQ	150	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	PZQ	150	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	PZQ	150	+	*										
58	PZQ	150	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
110	PZQ	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Obs: OXA: tratamento com oxamniquine em dose única, via oral;

PZQ: tratamento com praziquantel por 5 dias, via oral;

*: óbito do camundongo

TABELA VII - continuação

camundongo número	droga	dose mg/kg	MIRACÍDIOS / DIAS DE SEGUIMENTO APÓS TRATAMENTO												
			187	202	215	232	247	262	277	292	307	322	337	352	367
38	OXA	0													
51	OXA	0													
79	OXA	0													
111	OXA	0													
117	OXA	0													
36	OXA	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45	OXA	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72	OXA	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
83	OXA	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
92	OXA	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	OXA	200	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
91	OXA	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
95	OXA	200													
97	OXA	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
122	OXA	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	PZQ	0													
8	PZQ	0													
14	PZQ	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
65	PZQ	0													
70	PZQ	0													
3	PZQ	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*	
33	PZQ	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
99	PZQ	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
128	PZQ	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
129	PZQ	100													
26	PZQ	150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	PZQ	150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	PZQ	150													
58	PZQ	150	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
110	PZQ	150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Obs: OXA: tratamento com oxamniquine em dose única, via oral;

PZQ: tratamento com praziquantel por 5 dias, via oral;

* : óbito do camundongo

FIGURAS

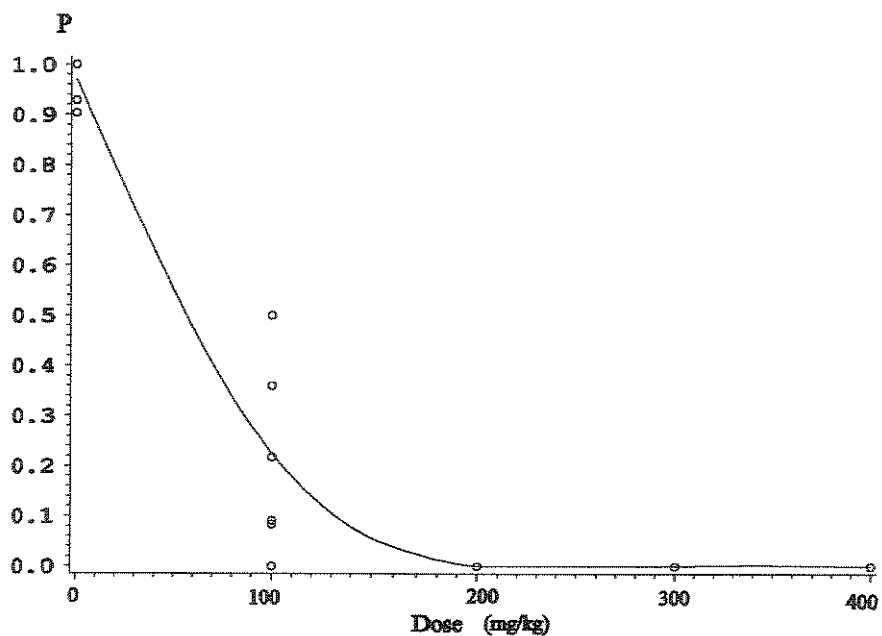


FIGURA 1 - Curva dose-resposta, por análise de probitos, em relação aos vermes sobreviventes, adquiridas com as diferentes dosagens de oxamniquine, para a linhagem Ouh de *Schistosoma mansoni*.

P= probabilidade de se encontrar vermes machos sobreviventes

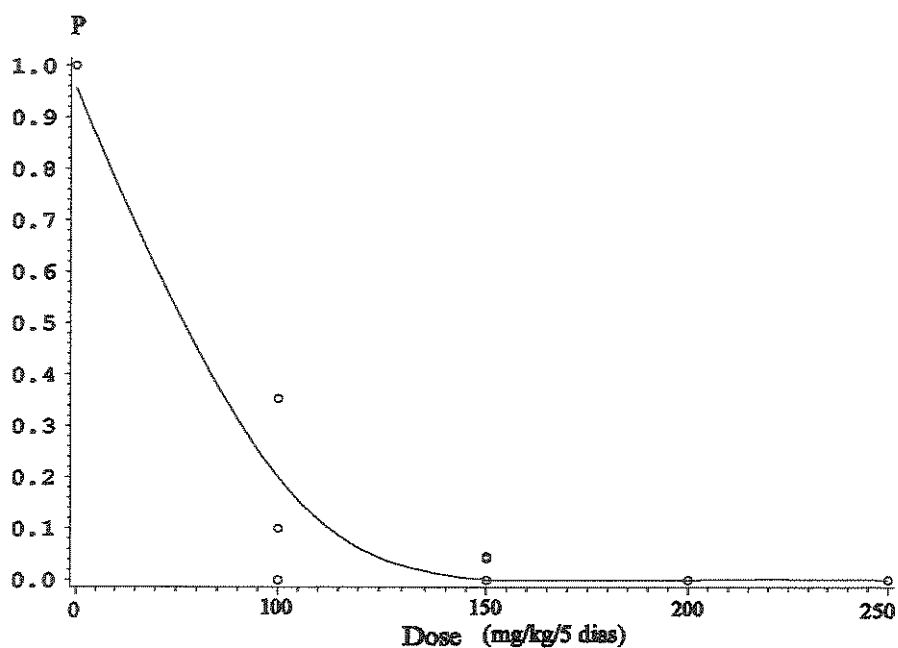


FIGURA 2 - Curva dose-resposta, por análise de probitos, em relação aos vermes machos sobreviventes, adquiridas com as diferentes dosagens de praziquantel, para a linhagem Ouh de *Schistosoma mansoni*.

P= probabilidade de se encontrar vermes machos sobreviventes

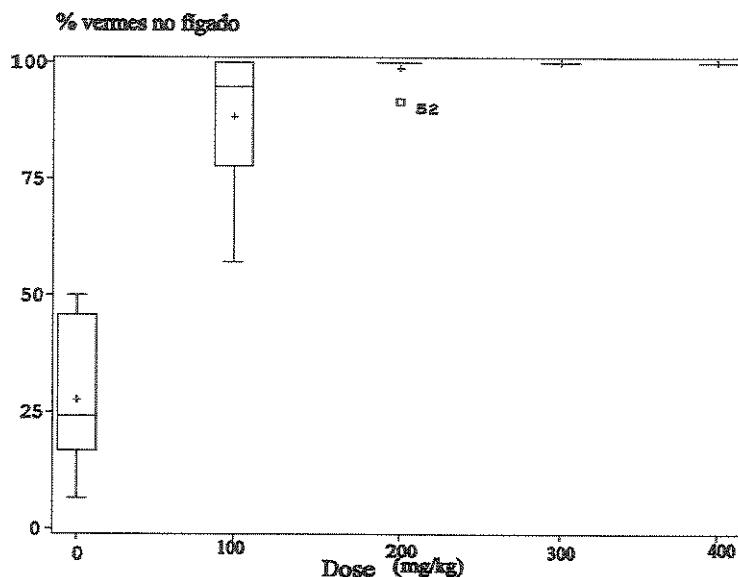


FIGURA 3 - Diagrama de caixas ("Box-plots") para a distribuição de vermes coletados no fígado, de camundongos do grupo de oxamniquine nas várias dosagens, infectados com 70 cercárias de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh.

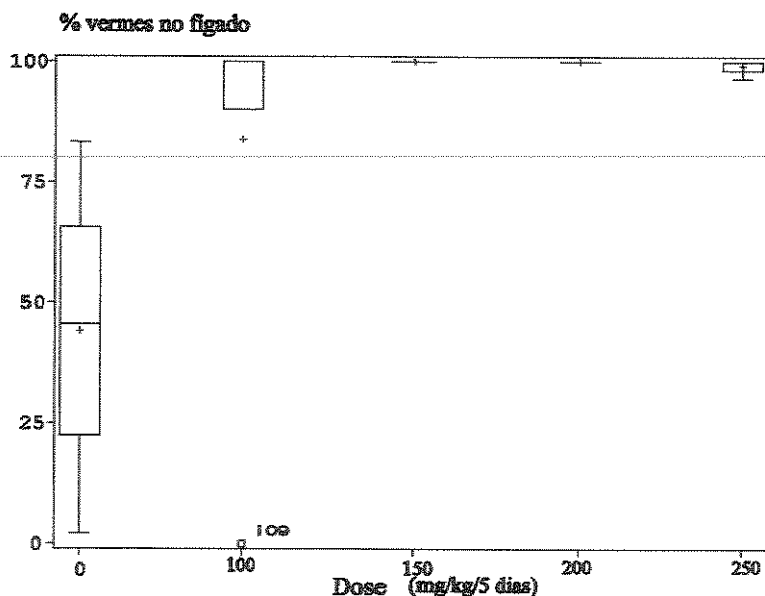


FIGURA 4 - Diagrama de caixas ("Box-plots") para a distribuição de vermes coletados no fígado, de camundongos do grupo de praziquantel nas várias dosagens, infectados com 70 cercárias de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh.

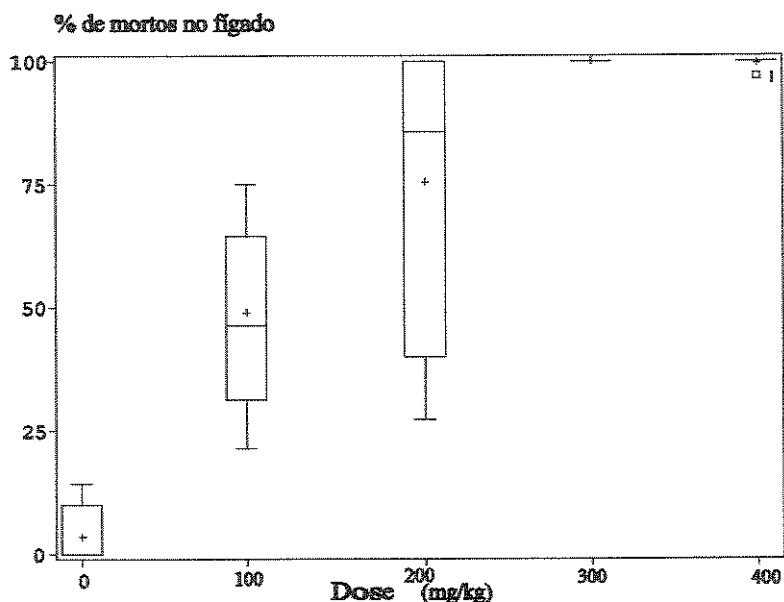


FIGURA 5 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição de vermes coletados mortos no fígado, de camundongos do grupo de oxamniquine nas várias dosagens, infectados com 70 cercárias de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh.

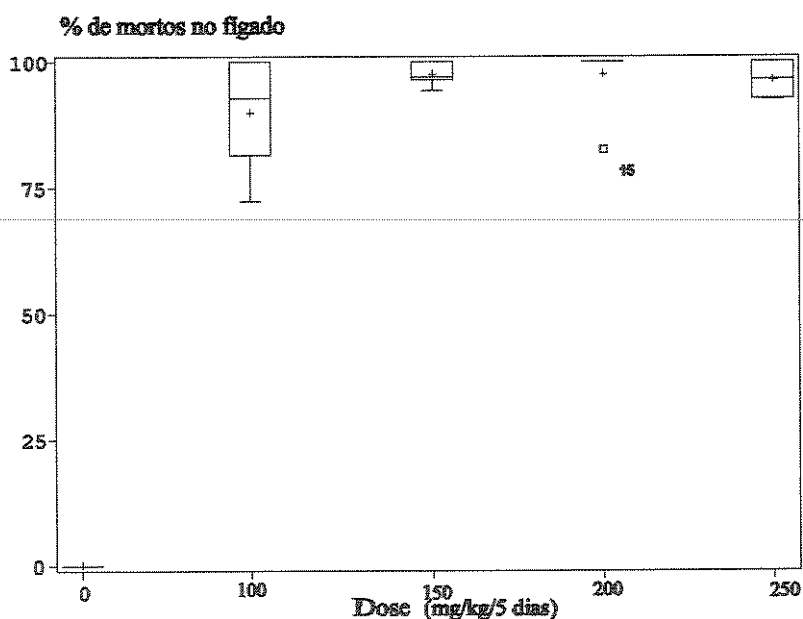


FIGURA 6 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição de vermes coletados mortos no fígado, de camundongos do grupo de praziquantel nas várias dosagens, infectados com 70 cercárias de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh.

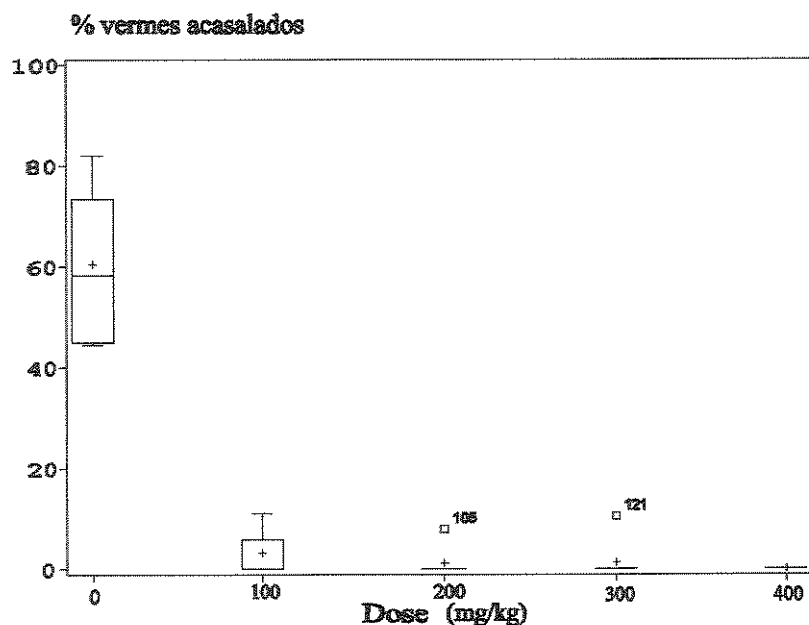


FIGURA 7 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição de vermes acasalados, coletados de camundongos do grupo de oxamniquine nas várias dosagens, infectados com 70 cercárias de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh.

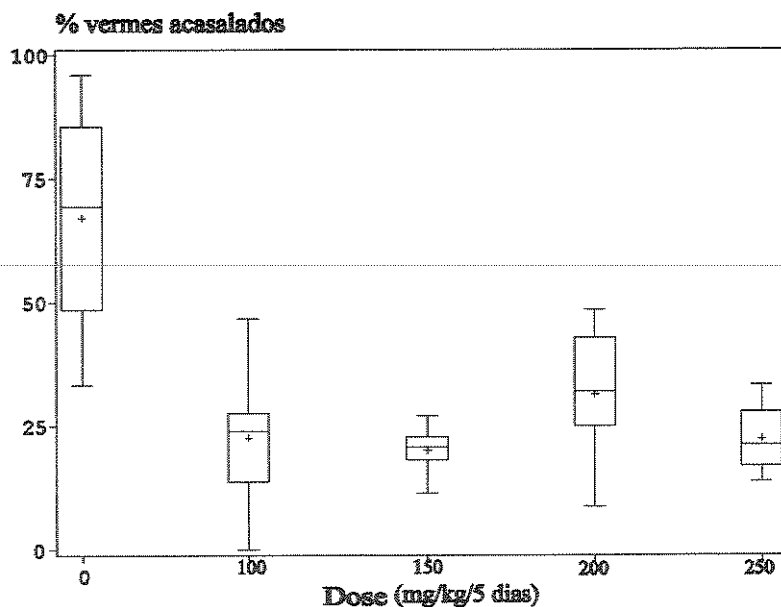


FIGURA 8 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição de vermes acasalados, coletados de camundongos do grupo de praziquantel nas várias dosagens, infectados com 70 cercárias de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh.

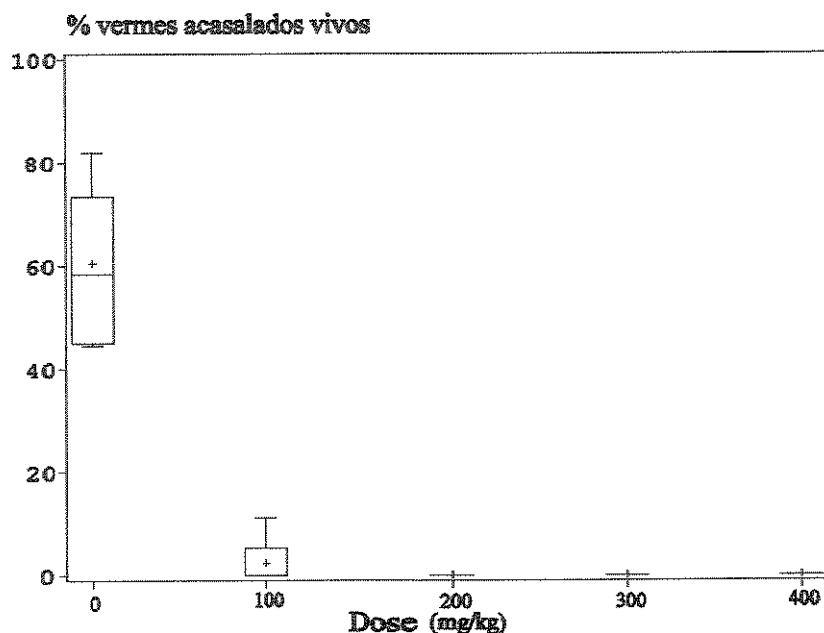


FIGURA 9 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição de vermes vivos acasalados, coletados de camundongos do grupo de oxamniquine nas várias dosagens, infectados com 70 cercárias de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh.

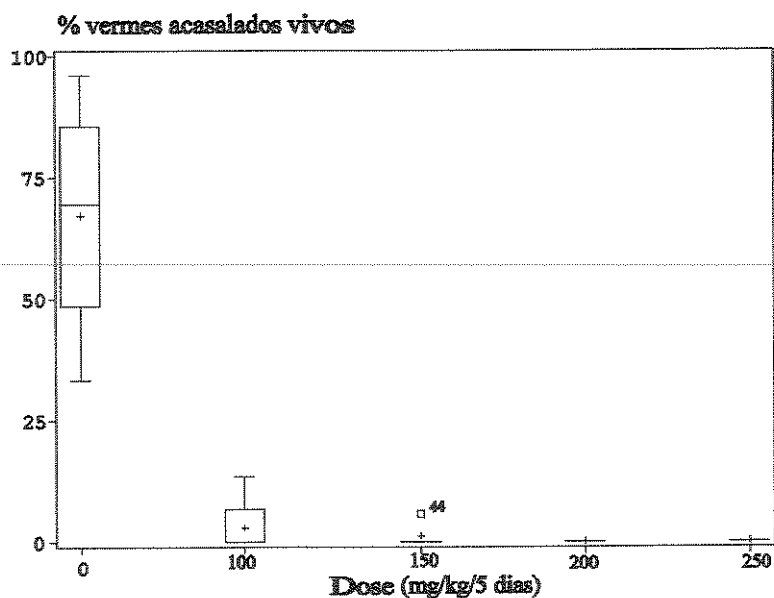


FIGURA 10 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição de vermes vivos acasalados, coletados de camundongos do grupo de praziquantel nas várias dosagens, infectados com 70 cercárias de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh.

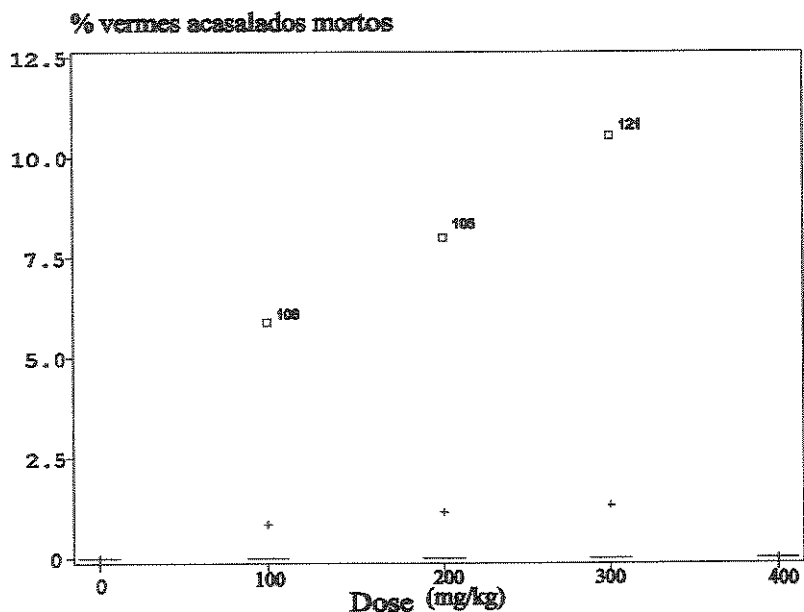


FIGURA 11 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição de vermes acasalados mortos, coletados de camundongos do grupo de oxamniquine nas várias dosagens, infectados com 70 cercárias de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh.

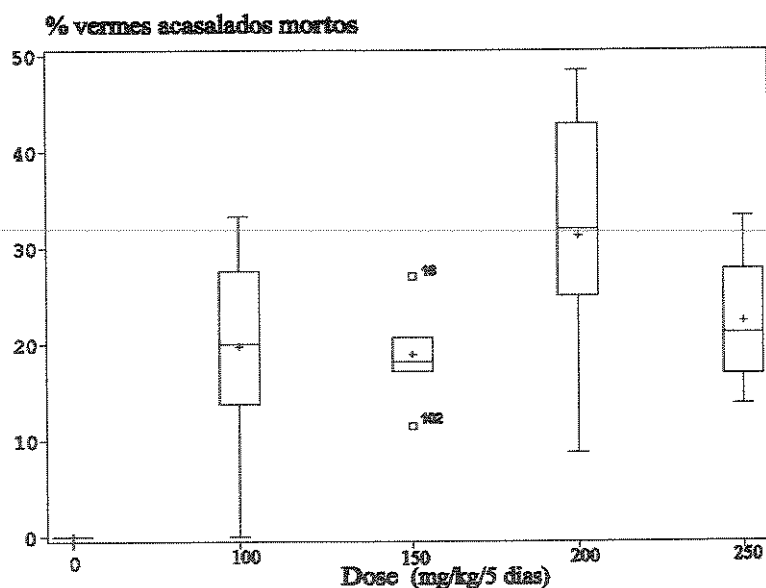


FIGURA 12 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição de vermes acasalados mortos, coletados de camundongos do grupo de praziquantel nas várias dosagens, infectados com 70 cercárias de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh.

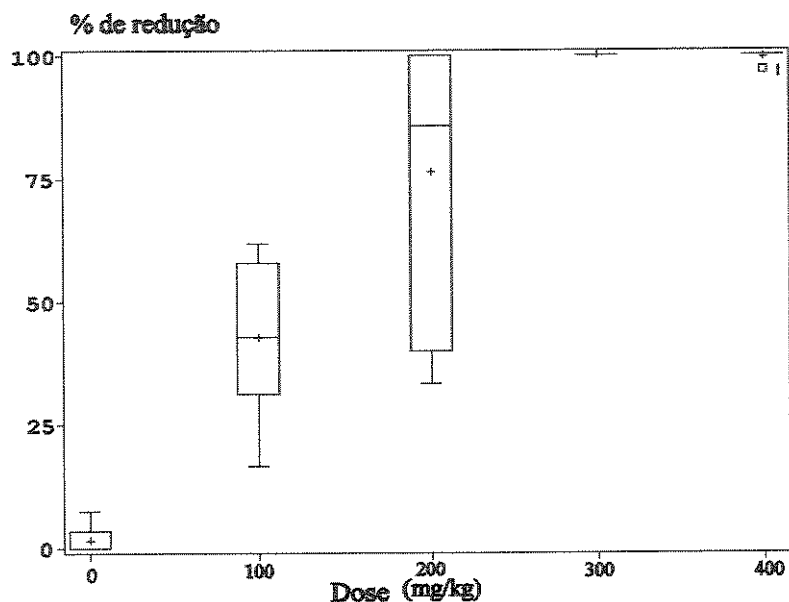


FIGURA 13 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição de percentagens de redução de vermes, obtidos de camundongos do grupo de oxamniquine nas várias dosagens, infectados com 70 cercárias de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh.

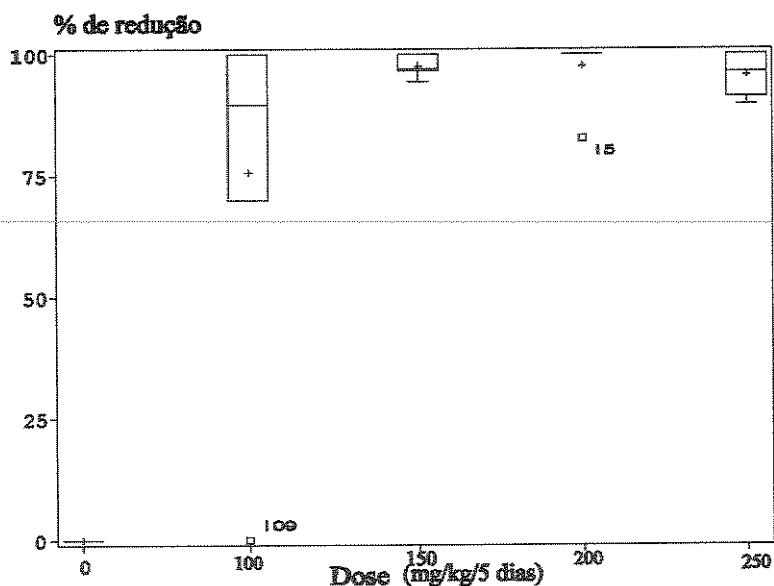


FIGURA 14 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição de percentagens de redução de vermes, obtidos de camundongos do grupo de praziquantel nas várias dosagens, infectados com 70 cercárias de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh.

DISCUSSÃO

Muito tem se estudado sobre quimioterapia em esquistossomose que representa hoje uma das mais importantes doenças parasitárias mundiais, atingindo cerca de 200 milhões de pessoas e expondo ao risco cerca de 600 milhões (WHO, 1993).

Oxamniquine foi por muito tempo a droga de escolha para tratamento nos esquemas de controle de endemia, fosse ele individual ou em massa.

Porém vários casos de resistência a esta droga têm sido documentados (DIAS *et alii*, 1978; YEANG *et alii*, 1987), legando ao praziquantel o papel de substituto do oxamniquine em tratamentos da parasitose.

Este trabalho traz o estudo de variação na suscetibilidade, apresentada por uma linhagem isolada do campo, não apenas ao oxamniquine, já bem conhecida para outras linhagens (DIAS *et alii*, 1978; DRESCHER *et alii*, 1993), como também ao praziquantel. Este fato levou-nos a pesquisar, em laboratório, a linhagem em questão frente a diferentes dosagens de ambas as drogas (oxamniquine e praziquantel).

A variação no número de camundongos perfundidos (TABELA I) ocorreu devido a mortalidade dos mesmos antes ou até mesmo durante o tratamento. Provavelmente, a maior mortalidade nos grupos de camundongos tratados com praziquantel possa ser atribuída à tubagem esôfago-gástrica diária, durante cinco dias. Já nos medicados com oxamniquine a mortalidade foi menor com apenas uma tubagem.

A avaliação da suscetibilidade da linhagem Ouh, na 4ª geração, apresentou percentagens de eficácia relativamente baixas para a dosagem de 100 mg/kg/dose única de oxamniquine e 100 mg/kg/5 dias de praziquantel: 66,0% e 90,1%, respectivamente (TABELA V). Estas são as dosagens, usualmente, referidas em trabalhos de avaliação de suscetibilidade aos quimioterápicos (oxamniquine e praziquantel) quando se utiliza camundongos como hospedeiro

definitivo (BRUCE *et alii*, 1987; DIAS *et alii*, 1988). Os resultados de tolerância da linhagem Ouh a essas drogas (oxamniquine e praziquantel) na dosagem de 100 mg/kg foram confirmados pela segunda vez em nosso laboratório, onde no primeiro experimento foi conseguido uma eficácia de 69,7% para o oxamniquine e 87,5% ao praziquantel (GOMES *et alii*, 1993).

Estes nossos resultados (100 mg/kg) de eficácia trazem um valor de 54,9% de vermes vivos no grupo tratado com oxamniquine e 13,3% no tratado com praziquantel, sendo que 6,9% e 3,4%, oxamniquine e praziquantel respectivamente, permaneciam ainda no mesentério (TABELA I); e onde pudemos encontrar machos e fêmeas não apenas separados como ainda acasalados (TABELAS II e III). Pelo grupo de seguimento (TABELA VI) pudemos comprovar que os vermes sobreviventes foram capazes de recuperar a oviposição, fato observado 75 dias após o tratamento, em um animal que havia recebido oxamniquine e em 2 animais tratados com praziquantel (um após 60 dias e outro após 105 dias do término do tratamento).

Para a dosagem seguinte (200 mg/kg para o oxamniquine e 150 mg de praziquantel/kg) os resultados de eficácia para as duas drogas foram maiores, 91,4% e 97,6% respectivamente, sendo já valores consideráveis. Porém, no grupo de seguimento tivemos uma recuperação de oviposição em dois animais tratados com oxamniquine (um após 45 dias e outro após 75 dias do término do tratamento), não concordando com os resultados de perfusão, onde, embora pudessemos observar um valor de vermes vivos no grupo tratado com 200 mg/kg de oxamniquine (23,3%) (TABELA I), nenhum macho vivo foi encontrado (TABELAS II e III). Para o grupo tratado com 150 mg/kg de praziquantel o número de machos e fêmeas sobreviventes não se comparam aos registrados com a dosagem anterior (100 mg/kg); já no grupo de seguimento observamos um animal que recuperou a oviposição 60 dias após o término do tratamento.

Estes resultados, relativos aos vermes, apresentam uma variabilidade muito grande de um camundongo para outro, podendo ser percebida pela grande amplitude apresentada pelos diagramas de caixas (FIGURAS 3 a 12) com estas dosagens, e talvez explicando o porquê de apenas alguns camundongos, do grupo de seguimento recuperarem a oviposição.

Nos demais grupos tratados, apenas fêmeas foram encontradas vivas e nenhum animal do grupo de seguimento recuperou a oviposição dentro do período de um ano (TABELA VI). Isto mostra que, provavelmente, esta situação observada no grupo perfundido tenha se repetido no grupo de seguimento. É bem conhecido que fêmeas de *S. mansoni* não amadurecem sexualmente na ausência do macho (ARMSTRONG, 1965; ERASMUS, 1973). POPIEL e ERASMUS (1982) tratando camundongos infectados com *S. mansoni* com 50 mg de oxamniquine, observaram uma regressão nas glândulas vitelínicas e até mesmo no tamanho das fêmeas sobreviventes; não foi detectada ação esquistossomicida quando se administrou uma segunda dose de 50 mg/kg de oxamniquine nas fêmeas com estas alterações.

A maior sobrevivência de fêmeas está relacionado com o fato do macho ser mais suscetível ao oxamniquine e praziquantel do que as fêmeas (FOSTER & CHEETHAM, 1973; GOLDBERG *et alii*, 1980; POPIEL & ERASMUS, 1982).

No caso do oxamniquine, de modo similar ao hycanthone, a droga age por interferir na síntese de ácidos nucleicos do parasito (PICA-MATTOCCIA & CIOLI, 1985). Com o tratamento ocorre um deslocamento dos vermes para o fígado, o que é observado para várias linhagens (DIAS *et alii*, 1988) e ocorre mesmo com dosagens que o verme tolera (100 mg/kg de oxamniquine e praziquantel - TABELAS I e V). O que parece ocorrer é que o verme, ao sofrer ação parcial da droga, é deslocado para o fígado como decorrência do desprendimento de suas ventosas da parede do vaso e é arrastado pela corrente sangüínea. No caso de

linhagens resistentes, como é o caso da linhagem MAP (BRUCE *et alii*, 1987; DIAS *et alii*, 1988; MAGALHÃES *et alii*, 1993), passado algum tempo do tratamento, a posição nas veias mesentéricas é restabelecida, assim como a oviposição. É sabido que para o oxamniquine e hycanthone isso ocorre devido a uma fraca ligação da droga ao DNA do parasito a qual é desfeita assim que o contato com a droga também o é, e essa simples intercalação provocaria uma inibição apenas temporária na síntese de ácidos nucleicos do parasito (CIOLI *et alii*, 1985; PICA-MATTOCCIA & CIOLI, 1985; PICA-MATTOCCIA *et alii*, 1989). Já para os suscetíveis ao oxamniquine o verme possui uma enzima, controlada por um único gene autossômico recessivo (CIOLI *et alii*, 1992), que alquila a droga tornando-a um éster reativo que se liga covalentemente ao DNA do parasito, inibindo a síntese de ácidos nucleicos do verme levando-o a morte (CIOLI *et alii*, 1985; PICA-MATTOCCIA & CIOLI, 1985; PICA-MATTOCCIA *et alii*, 1989).

No caso de tolerância, como acontece com a linhagem Ouh, ainda não se tem explicação. Talvez haja uma mistura de populações em nossa linhagem, onde algumas sejam resistentes e outras suscetíveis ao oxamniquine, quando o tratamento, então, exerceria uma pressão selecionando as populações resistentes. Este fato seria comprovado com subseqüentes tratamentos com a dosagem a que a linhagem se mostrou tolerante e aí, caso seja uma seleção por pressão de droga, adquiriríamos valores cada vez menor de eficácia.

Para o praziquantel, a ação farmacológica não está completamente esclarecida mas lipídios de membranas na superfície do verme perdem sua estabilidade como uma conseqüência da lipofilicidade da droga e grande área molecular da mesma (SCHEPERS *et alii*, 1988). O mecanismo proposto para a eliminação do esquistossoma envolve a perda da capacidade de aderência à parede dos vasos sangüíneos, decorrente de uma paralisia induzida pela droga (COLES, 1979). Esta paralisia ocorre devido a diferentes efeitos da droga na

membrana levando a um aumento na permeabilidade ao cálcio. Este influxo de cálcio causa uma paralisia do verme devido à contração dos feixes musculares, arrastando-o para o fígado (HARDER *et alii*, 1987). Um dos primeiros resultados morfológicos do dano induzido pelo praziquantel visto por microscopia eletrônica de varredura é a formação de vacúolos e vesículas no tegumento (SHAW & ERASMUS, 1983; MODHA *et alii*, 1990), com interrupção da integridade da membrana sobre os tubérculos da superfície dorsal do verme macho de *S. mansoni* (SHAW & ERASMUS, 1987). Ocorre também um aumento na antigenicidade parasito-específico que é detectável após tratamento *in vitro* (HARNET & KUSEL, 1986). Os vermes machos apresentam o tegumento danificado muito mais rapidamente do que as fêmeas, porém neste período elas mostram forte vacuolização no tecido subtegumentar (SHAW & ERASMUS, 1983); como em geral elas se encontram no canal ginecóforo pode-se concluir que o mesmo não oferece proteção aos efeitos da droga. Estas alterações aparecem mesmo com dose subletais (SHAW & ERASMUS, 1983). A formação destas vesículas proporciona uma desestruturação do tegumento do verme, danificando-o e expondo-o, no fígado, à ação do sistema imune do hospedeiro, sendo destruído por granulócitos (MEHLHORN *et alii*, 1981). Experimentos *in vivo* demonstraram que praziquantel expõe um restrito número de antígenos da superfície do verme e que dois destes, localizados nos tubérculos do macho, estão diretamente envolvidos no sinergismo droga-anticorpo (DOENHOFF *et alii*, 1987; DOENHOFF *et alii*, 1988; BRINDLEY *et alii*, 1989; DOENHOFF, 1989).

Este sinergismo tem sido muito estudado. Vermes expostos ao praziquantel, em camundongos imunologicamente competentes não sobrevivem porque os parasitos danificados pela droga são atacados pelo sistema imune do hospedeiro (BRINDLEY & SHER, 1987). SHAW e ERASMUS (1987), em estudo com camundongos, mostraram que adultos de *S. mansoni* tratados *in vivo* com

uma dose subcurativa de praziquantel requerem um período relativamente longo para reparar os danos induzidos pela droga no tegumento, sinais estes que, em machos, persistem por mais de 100 dias. *In vitro*, o tempo de regeneração do tegumento é bem menor, podendo chegar até a 3 dias (POPIEL *et alii*, 1985). A mais provável explicação para esta diferença no tempo de reparo do tegumento entre os experimentos *in vivo* e *in vitro* está relacionado ao papel exercido pelo sistema imune do hospedeiro. Os esquistossomos mortos são envolvidos por reação granulomatosa hepática e reabsorvidos (MEHLHORN *et alii*, 1981). Já em camundongos imunologicamente suprimidos os vermes podem se recuperar dos efeitos diretos da droga.

Tem também sido estudado as conseqüências de se administrar esteróides juntamente com a droga (não apenas com praziquantel como também com oxamniquine) e comprovou-se vantagens em utilizá-los conjuntamente para tratar esquistossomose aguda; a combinação não provoca a redução da carga de vermes, mas a redução no número de ovos nos tecidos do fígado e intestino, diminuindo a patologia da doença (LAMBERTUCCI, 1989; LAMBERTUCCI *et alii*, 1989).

Quanto ao mecanismo envolvido na resistência ao praziquantel, nada é conhecido. Isto ocorre, provavelmente, devido a não detecção, até o momento, de linhagens resistentes.

A linhagem Ouh é a primeira a ser isolada do campo e apresentar tolerância ao praziquantel na dosagem de 100 mg/kg/5 dias.

Recentemente, FALLON e DOENHOFF (1994) demonstraram, em laboratório, indução de resistência ao praziquantel em camundongo. Estes autores submeteram a linhagem a tratamentos com praziquantel em 7 gerações consecutivas; os dois primeiros foram feitos com 2 dosagens de 100 mg/kg (dose subletais) entre o 35º e o 37º dia de infecção, os vermes sobreviventes voltaram a

ovipor e seus miracídios eclodidos foram utilizados para novas infecções. Nas cinco passagens restantes, o tratamento foi feito no 28º dia (ou seja, antes do começo da oviposição, seguindo o método de indução proposto por JANSMA *et alii*, 1977) e com dosagens maiores. No final, ou seja, na 7ª passagem foi conseguido uma percentagem de redução de 7%, utilizando três doses de 300 mg/kg, demonstrando-se, assim, indução de resistência ao praziquantel. Na área clínica, raros casos de falha no tratamento com praziquantel têm sido reportados: KATZ *et alii* (1991) encontraram pessoas que não se curaram com a dose terapêutica da droga, porém eram suscetíveis ao oxamniquine; estes autores defendem a alternância de tratamento em vez de repeti-lo com a mesma droga, para evitar seleção de linhagens resistentes. Outra falha terapêutica foi encontrada em uma comunidade senegalesa onde um surto de esquistossomose mansônica foi presenciado (*TDR news*, 1992); não foi considerado resistência à droga já que a parasitose havia sido introduzida recentemente nesta área. Estes fatos não indicam, necessariamente, presença de resistência, tendo em vista que o estado imunológico da pessoa é muito importante; deve-se levar em conta também que indivíduos residentes em zona de alta endemicidade estão sujeitos à freqüente reinfecção.

Devido a alteração na suscetibilidade às duas drogas (oxamniquine e praziquantel) já nos primeiros estudos, em nosso laboratório, com a linhagem Ouh (GOMES *et alii*, 1993), achamos necessário a realização de tratamentos com várias dosagens para determinação das doses efetivas (DEs) para as drogas em questão (FIGURAS 1 e 2).

Os cálculos das doses efetivas foram realizados com base no número de vermes machos sobreviventes, devido ao fato deles serem mais sensíveis a ambas as drogas (FOSTER & CHEETHAM, 1973).

A curva de doses efetivas do oxamniquine (FIGURA 1) mostra um valor de 119,8 mg/kg para matar 90% dos vermes machos (DE_{90}) e 159,4 mg/kg para provocar a morte de 99% dos mesmos (DE_{99}). O valor de DE_{50} (dose efetiva necessária para matar 50% dos vermes machos) foi de 71,3 mg/kg, resultado superior aos encontrados por DRESCHER *et alii* (1993) para as linhagens sensíveis BH e K (34 mg/kg e 62 mg/kg, respectivamente) sendo porém inferiores aos apresentados pelos mesmos autores em relação a linhagens resistentes ao oxamniquine, MAP e MPR-1 (320 e 512 mg/kg, respectivamente). É importante lembrar que as DE_{50} apresentadas pelos autores acima referidos se tratam de doses necessárias para matar 50% de todos os vermes e não apenas o macho que é sabido ser mais sensível à droga (PICA-MATTOCCIA & CIOLI, 1985). Sendo assim, as nossas DEs teriam seu valor aumentado caso incluíssemos os valores de fêmeas sobreviventes no cálculo. Resultados de DE_{50} , em relação ao total de vermes sobreviventes, revelaram um valor de 127,2 mg/kg.

YEANG *et alii* (1987) obtiveram valores de DE_{50} e DE_{90} para o oxamniquine das linhagens de Porto Rico, Kênia, Liverpool (proveniente provavelmente do Egito), Libéria (LIB) e Brasil (Olinda, MAP), considerando apenas vermes machos. As DE_{50} obtidas foram 29, 23, 19 e 48 mg/kg para as linhagens de Olinda, Porto Rico, Kênia e Liverpool, respectivamente, sendo inferior às calculadas por nós para a linhagem Ouh: 71,3 mg/kg (FIGURA 1). As DE_{90} destas linhagens estudadas por YEANG *et alii* (1987) foram de: 95, 75, 64 e 159 mg/kg, sendo as 3 primeiras linhagens, Olinda, Porto Rico e Kênia, mais suscetíveis que a Ouh. Esta apresentou 119,8 mg/kg para DE_{90} , porém a linhagem de Liverpool mostrou valor superior, 159 mg/kg. Já as linhagens resistentes ao oxamniquine (MAP e LIB) apresentaram valores bem maiores aos obtidos para Ouh. As dose efetivas 50% (DE_{50}) foram de 298 mg/kg para MAP e 394 mg/kg para LIB e 990 e 579 mg/kg foram os valores de DE_{90} calculados para

MAP e LIB, respectivamente. Pode-se observar que o valor de DE_{50} para a linhagem MAP apresentado por YEANG *et alii* (1987) foi menor ao obtido por DRESCHER *et alii* (1993): 320 mg/kg; isso se deve à utilização, por estes últimos autores, de todos os vermes sobreviventes e não apenas os machos.

Pode-se observar que na prática (dados dos animais do grupo de seguimento) a dose efetiva, biologicamente, é maior do que a apresentada pela curva do modelo estatístico (FIGURA 1), pois com a dosagem de 200 mg de oxamniquine/kg ainda pôde-se detectar recuperação de oviposição (TABELA VI).

Para o praziquantel a curva de doses efetivas confeccionada com base no número de vermes machos sobreviventes revelou um valor de 108,6 mg/kg/5 dias para matar 90% dos machos (DE_{90}) e 129,2 para matar 99% (DE_{99}) (FIGURA 2). Porém, de modo similar ao ocorrido com o oxamniquine, com a dosagem de 150 mg/kg/5 dias (dose superior à DE_{99}) ainda se obteve recuperação de oviposição dos vermes (TABELAS VI e VII).

DRESCHER *et alii* (1993) trabalhando com praziquantel em quatro linhagens distintas obtiveram os seguintes resultados de DE_{50} : 42, 36, 13 e 46 mg/kg/5 dias para as linhagens BH, K, MAP e MPR-1, respectivamente. Pode-se observar que para a nossa linhagem o valor da DE_{50} foi significativamente maior: 66,8 mg/kg/5 dias (FIGURA 2).

Para a dosagem de 100 mg/kg de oxamniquine e praziquantel foram encontrados um número razoável de casais vivos (FIGURAS 9 e 10). Estes resultados concordam com os do grupo de seguimento que apresentaram animais com oviposição recuperada após um período relativamente curto, dois meses e meio para oxamniquine e dois para praziquantel (TABELA VI). Estes dados de parasitos acasalados são muito importantes quando vistos em conjunto com os das doses efetivas, pois constata-se que se pode matar 80% dos vermes machos com aproximadamente 100 mg/kg das drogas, ou melhor, 103,2 e 99,9 mg/kg de

oxamniquine e praziquantel, respectivamente (FIGURAS 1 e 2); porém parte destes vermes que sobrevivem continuam acasalados podendo recuperar a oviposição.

Com isso podemos comprovar que a linhagem Ouh apresenta uma variação de suscetibilidade tanto ao oxamniquine, já conhecido para outras linhagens, quanto ao praziquantel (DIAS & OLIVIER, 1985; YEANG *et alii*, 1987; CIOLI *et alii*, 1989).

De acordo com o exposto, a linhagem Ouh pode ser considerada tolerante ao oxamniquine e praziquantel à dosagem de 100 mg/kg (por 5 dias no caso da última droga) por não responder adequadamente ao tratamento. Os resultados das curvas dose-resposta reforçam essa afirmação, onde os resultados apresentados são superiores aos de uma linhagem suscetível às duas drogas.

Alguns animais tratados e acompanhados pelo período de um ano, por exames de fezes quinzenais, recuperaram a oviposição (TABELA VI) e suas fezes foram, constantemente, coletadas para infecção de moluscos. Todos os animais que retomaram a oviposição, o fizeram até o quarto mês após o tratamento. O animal 91 (tratado com 200 mg/kg de oxamniquine) interrompeu a oviposição a partir do 150º dia após o tratamento (TABELA VI). Este resultado foi confirmado com o teste de eclosão de miracídio que também foi negativo (TABELA VII). Isto deve ter ocorrido devido à morte ou interrupção natural da oviposição dos poucos vermes que sobreviveram ao tratamento ou irregularidade na eliminação dos ovos pelo hospedeiro, ou até mesmo cronificação da doença decorrente do longo tempo de infecção.

Um animal, número 3, tratado com praziquantel na dosagem de 100 mg/kg/5 dias, morreu no 345º dia após o tratamento (TABELA VI) com presença de ascite, fato comprovado por necrópsia; detectando mais um elemento de falha terapêutica.

Pode-se perceber que todos os animais apresentavam um grande número de ovos do trematódeo por grama de fezes no primeiro exame que foi realizado no dia do tratamento. Quinze dias após o término do tratamento este número já era bem menor, na maioria das vezes nulo, evidenciando a atuação da droga. Em certos animais houve recuperação da oviposição, como já relatado acima, porém o número de ovos por grama de fezes encontrados foi bem menor, representando uma diminuição da carga parasitária provocada pela droga. Portanto, mesmo havendo recuperação da oviposição na linhagem Ouh exposta a certas dosagens de oxamniquine ou praziquantel, o pequeno número de ovos encontrados nas fezes, indica que nem todos os parasitos toleram a ação esquistossomicida do medicamento empregado.

Em adição, foram realizados testes de eclosão de miracídio das fezes de animais que em nenhum momento eliminaram ovos do trematódeo após o tratamento (TABELA VII). Estes animais foram negativos para todos os testes feitos. A realização do teste teve como intuito confirmar o resultado do exame de fezes pelo método de Kato-Katz que poderia estar apresentando falso negativo por se tratar de uma pequena quantidade de ovos eliminados, tendo em vista que o tratamento com a droga esquistossomicida provocou a diminuição da carga parasitária. SLEIGH *et alii* (1982), em um estudo de campo realizando exame de fezes, pelo método de Kato-Katz, utilizando apenas uma lâmina, encontraram resultado frequentemente negativo para pacientes com infecções leves de *S. mansoni*. CUNHA *et alii* (1987) observaram diferentes índices de cura em pacientes com esquistossomose quando se utilizavam três métodos distintos: oograma quantitativo, método de sedimentação e Kato-Katz, sendo que o último apresentava elevado número de falso negativos; assim, estes autores consideram que o oograma quantitativo (biópsia retal) consiste no método mais fidedigno para avaliar a eficácia terapêutica de novas drogas. Infelizmente, este é um método

impossível de se utilizar em camundongos para exames quinzenais por um longo período, como em nosso caso, um ano. BARRETO *et alii* (1990), em estudo com pacientes sabidamente positivos, encontraram variações consideráveis nas contagens, reforçando o fato de que são necessárias várias lâminas, principalmente quando se trata de infecções brandas. Quando se tem amostras positivas com uma contagem de 10 ovos por grama de fezes a probabilidade de encontro é de 34% e esta passa a 99% quando a contagem for de 100 ovos por grama de fezes (REY, 1992). ALARCON de NOYA *et alii* (1992) observaram que o método de Kato-Katz se torna pouco sensível quando o indivíduo apresenta menos de 100 ovos/g de fezes. Evidentemente, são necessárias múltiplas lâminas. Porém quando se trata de fezes de camundongos isto se torna impraticável, em decorrência da pequena quantidade de fezes eliminadas e, principalmente, devido à consistência das mesmas. Além do pequeno número de ovos eliminados, decorrente do reduzido número de vermes presentes, deve-se considerar também a irregularidade de eliminação destes ovos, pelo hospedeiro, através da mucosa intestinal para o meio ambiente

Estudos sobre o efeito da quimioterapia sobre os ovos de *S. mansoni* têm mostrado que a administração de praziquantel provoca a necrose e por vezes calcificação dos miracídios nos tecidos a partir do quarto dia do início do tratamento (REIS & ANDRADE, 1987). Estes mesmos autores detectaram que a administração conjunta de oxamniquine/hycanthone, embora muito efetiva para eliminar os vermes adultos não tem ação sobre os miracídios no interior dos granulomas, tendo os testes de eclosão sido positivos até o 15º dia após o tratamento.

Experimentos do efeito do praziquantel sobre os ovos de *S. mansoni* indicam que a droga é letal a ovos maduros, sendo que após 11 dias do início do tratamento predominam ovos mortos no oograma (RICHARDS *et alii*, 1989). As

percentagens obtidas na eclosão de miracídio após o tratamento, sugerem que o praziquantel é ativo somente contra ovos que já atingiram a maturidade. Ovos em embriogênese sofrem pouca toxicidade relacionada à droga, e, se o tratamento não é continuado acima do tempo requerido pela maturação dos ovos, os mais jovens (ou seja, os últimos a serem depositados antes da interrupção da oviposição) sobrevivem e atingem, saudavelmente, a maturidade, eclodindo naturalmente (RICHARDS *et alii*, 1989). Frente a isto, GIBODA e SMITH (1994) defendem o tratamento em duas doses separadas por 9 dias para que os ovos imaturos tenham possibilidade de amadurecer e aí serem atacados pela droga.

Sabemos que em nosso esquema de tratamento com praziquantel (5 dias consecutivos) não conseguimos atingir todos os ovos imaturos e que estes poderiam ter sido eliminados naturalmente. Isto porém, não influenciaria os nossos achados de recuperação de oviposição que além de serem registrados somente após 45 dias o término do tratamento, não cessaram depois das primeiras semanas, como aconteceria se não houvesse vermes sobreviventes mas apenas ovos que escaparam do medicamento.

Em nossos experimentos constatamos uma recuperação da oviposição dos vermes sobreviventes muito mais rápida do que a assinalada por ROGERS e BUEDING (1971) que relataram um período de 6 a 12 meses para que isto ocorresse em uma linhagem resistente ao hycanthone, a qual havia sido induzida em laboratório. Estes autores assinalaram ainda que miracídios recuperados das fezes dos camundongos eram capazes de infectar moluscos e após 5 a 6 semanas eliminavam cercárias que eram utilizadas para infecção de novos camundongos. Estes camundongos quando tratados com hycanthone apresentaram 100% dos vermes vivos, sem que eles ao menos migrassem para o fígado ou deixassem de eliminar ovos após serem medicados. Esta resistência à droga foi mantida estável por três gerações subseqüentes de vermes. JANSMA *et*

alii (1977) também comprovaram a manutenção de resistência ao hycanthone através de sucessivas gerações, após a mesma ter sido induzida na geração parental do verme. YEANG *et alii* (1987) expondo *in vivo* linhagens do parasito, isoladas do campo, ao oxamniquine, obtiveram sublinhagens altamente resistentes; a sublinhagem MAP isolada a partir de tratamento com 700 mg/kg de oxamniquine foi submetida a esta mesma dosagem apresentando uma eficácia de 49% (DIAS *et alii*, 1992). É interessante lembrar que estas sublinhagens não foram induzidas mas apenas selecionadas.

Dois outros grupos de seguimentos que apresentaram camundongos eliminando ovos após o tratamento (OXA-200 e PZQ-150) foram analisados periodicamente e suas fezes utilizadas para infecção de caramujos para a tentativa de isolamento de mais duas sublinhagens, o que não foi possível durante o período observado.

A linhagem Ouh apresentou alterações de sensibilidade ao oxamniquine e praziquantel não apenas tolerando como também possibilitando o isolamento de duas sublinhagens, por não cessar irreversivelmente sua oviposição após o tratamento.

Estas duas sublinhagens servirão para novos testes, com novas dosagens, para se avaliar o seu comportamento em relação a linhagem parental. É interessante estudo, principalmente a nível genômico, das possíveis alterações de tolerância desta linhagem ao praziquantel em relação a outra sensível, como as já bem estudadas diferenças entre linhagens sensíveis e resistentes ao hycanthone\oxamniquine (BRINDLEY *et alii*, 1989; BRINDLEY *et alii*, 1991; PICA-MATTOCCIA *et alii*, 1993). O que já se sabe é que a resistência induzida ao praziquantel e oxamniquine é droga específica (FALLON & DOENHOFF, 1994), diferentemente à encontrada para oxamniquine e hycanthone que são controladas

pelo mesmo gene (CIOLI *et alii*, 1992; PICA-MATTOCCIA *et alii*, 1992; PICA-MATTOCCIA *et alii*, 1993), apresentando resistência cruzada.

Praziquantel representa hoje uma droga de escolha no caso de falhas no tratamento com oxamniquine da esquistossomose mansônica no Brasil. Todavia, mesmo antes do conhecimento de linhagens resistentes a esta droga, casos de falha terapêutica têm sido documentada (KATZ *et alii*, 1991; TDR News, 1992) e experiências mostram que linhagens de *S. mansoni* podem se tornar resistentes ao praziquantel, por indução (FALLON & DOENHOFF, 1994).

Frente a este problema alguns grupos de pesquisa têm se preocupado na obtenção de drogas que sejam efetivas contra o trematódeo (PENIDO, 1994; PENIDO *et alii*, 1995). Estas drogas se encontram apenas em fase laboratorial de pesquisa, onde o camundongo é o hospedeiro definitivo testado. Ainda nada se sabe sobre a eficácia e tolerância no homem. Assim, muito tem que se caminhar para se chegar a uma droga que possa substituir o praziquantel no controle da esquistossomose em uma área, onde a linhagem apresentar resistência/tolerância ao mesmo; também é necessário rever as posologias da droga utilizada. Por outro lado, uma nova droga segura é uma alternativa para o clínico frente a efeitos colaterais relatados, às vezes, com praziquantel.

CONCLUSÕES

- ◆ A linhagem Ouh de *Schistosoma mansoni* apresentou, *in vivo*, baixa eficácia ao oxamniquine na dosagem de 100 mg/kg: 66,0%; estando 6,9% dos vermes no mesentério (91,7% de vivos). A percentagem de vermes sobreviventes para esta dosagem foi de 34,0%.
- ◆ Para as outras dosagens de oxamniquine (200, 300 e 400 mg/kg) foram observados maiores valores de eficácia: 91,4%, 100,0% e 99,7%, respectivamente.
- ◆ Foi observado recuperação irreversível de oviposição em 2 grupos tratados com oxamniquine (100 e 200 mg/kg). Para o grupo que recebeu 100 mg/kg de oxamniquine a oviposição foi retomada no 75^o dia após o tratamento; já para a outra dosagem a recuperação ocorreu no 45^o dia e 75^o dia.
- ◆ Para a dosagem de 100 mg/kg/5 dias de praziquantel foi obtido um valor de eficácia relativamente baixo, 90,1%, sendo encontrado 3,4% dos vermes nos vasos mesentéricos (100,0% de vivos).
- ◆ As percentagens de eficácia para o praziquantel nas dosagens restantes (150, 200 e 250 mg/kg/5 dias) foram consideradas elevadas: 97,6%, 98,2% e 96,1%, respectivamente.

- ♦ No grupo de seguimento, dois camundongos que haviam sido tratados com praziquantel na dosagem de 100 mg/kg/5 dias, recuperaram a oviposição aos 60 e 105 dias após o tratamento.
 - ♦ A determinação das doses efetivas para matar 99% dos vermes machos (DE_{99}) revelaram um valor de 159,4 mg/kg, em dose única para oxamniquine e 129,2 mg/kg/5 dias para praziquantel, valores superiores aos obtidos, rotineiramente, em experimentos laboratoriais com camundongos tratados com 100 mg/kg. Estes resultados também foram maiores aos apresentados para outras linhagens sensíveis aos esquistossomicidas em questão.
 - ♦ Frente aos resultados de eficácia, doses efetivas e curto período de recuperação de oviposição a linhagem Ouh foi considerada tolerante ao oxamniquine (100 mg/kg/dose única) e ao praziquantel (100 mg/kg/5 dias). A retomada da oviposição nos certifica do não comprometimento do aparelho reprodutor da fêmea. Sendo assim, é necessário rever as posologias de ambas as drogas no homem.
-

RESUMO

É bem conhecida a existência de linhagens de *S. mansoni* com resistência e/ou tolerância a drogas esquistossomicidas como hycanthone e oxamniquine. Devido a constatação de linhagens do verme isolado do campo com tolerância ao oxamniquine e praziquantel, impôs-se estudo de suscetibilidade a esses medicamentos para determinação de doses efetivas (DEs) e juntamente ao acompanhamento de oviposição dos animais tratados. Pesquisou-se, *in vivo*, o comportamento da linhagem Ouh, isolada de 3 portadores autóctones, não tratados, do município de Ourinhos, SP. Foram infectados 10 grupos de 13 camundongos, que receberam, oralmente, tratamento após 50 dias; 5 grupos foram medicados com oxamniquine nas dosagens de 0, 100, 200, 300 e 400 mg/kg (dose única) e os restantes praziquantel a 0, 100, 150, 200 e 250 mg/kg (por 5 dias). Para cada grupo haviam 2 subgrupos: A) perfusão - formados por 8 animais perfundidos após 15 dias do término do tratamento e B) seguimento - com 5 camundongos acompanhados, quinzenalmente, com exames de fezes, método de Kato-Katz e eclosão de miracídeos. Os valores de DEs foram determinados através de análise de probitos (procedimento específico do SAS) a partir dos resultados da perfusão. A eficácia para as dosagens de 100 mg/kg de oxamniquine e de praziquantel foi de 66,0% e 90,1%, respectivamente, e a percentagens de vermes sobreviventes foi de 34,0% para a primeira droga e 9,9% para a segunda, sendo encontrados vermes machos, fêmeas e casais. Houve sobrevivência de vermes no grupo com 150 mg/kg/5 dias de praziquantel (2,4%), com vermes de ambos os sexos e casais; porém para as outras doses constatou-se apenas sobrevivência de fêmeas, isso ocorrendo para as outras dosagens de oxamniquine e praziquantel. Nos exames quinzenais dos grupos de seguimento observou-se recuperação de oviposição após 60 dias do término do tratamento com 100 (em um camundongo) e 150 (em um animal) mg/kg de praziquantel e após 75 dias com 100 (em um camundongos) e 200 mg/kg de oxamniquine (em dois animais), indicando a presença de vermes vivos de ambos os sexos e interrompimento temporário da postura de ovos, certificando o não comprometimento do aparelho reprodutor da fêmea. Nas análises de doses efetivas determinou-se a dosagem necessária para matar 99% dos vermes machos (DE₉₉) que foi de 129,2 e 159,4 mg/kg de praziquantel e oxamniquine, respectivamente. Assim, é necessário rever as posologias de ambas as drogas no homem, com finalidade de proporcionar maiores percentagem de cura parasitológica, evitando seleção de linhagens do verme resistentes e/ou tolerantes no campo. Frente a estes resultados a linhagem Ouh foi considerada tolerante ao oxamniquine e praziquantel na dosagem de 100 mg/kg, por apresentar alterações de sensibilidade a ambas as drogas e por não cessar irreversivelmente sua oviposição após o tratamento.

SUMMARY

The existence of resistant and/or tolerant *Schistosoma mansoni* strains to schistosomicides drugs as hycanthone and oxamniquine is well known. Because of strains isolated from the field having tolerance to oxamniquine and praziquantel, the main foccus of this study was to determine the suscetibility to medicaments in order to find the effective doses (EDs). In addition, the treated animals were monitored to verify the oviposition pattern of worms. The Ouh strain was isolated, *in vivo*, from 3 autochthonous non-treated patient, from Ourinhos city, São Paulo state. Ten groups of 13 mice each were infected and received "per os" treatment after 50 days. Five groups were medicated with oxamniquine in doses of 0, 100, 200, 300 and 400 mg/kg in a single dose, and five with praziquantel in daily doses of 0, 100, 150, 200 and 250 mg/kg for five days. For each group there were 2 subgroups: A) perfusion - formed by 8 animals perfused 15 days after the treatment; B) follow-up - formed by 5 mice that were followed with faeces exams, Kato-Katz method, and miracidia eclosion tests every 15 days. The EDs values from the perfusion results were determined through the probit analysis (procedure of SAS). The efficacies of the dosage of 100 mg/kg of oxamniquine and praziquantel were 66,0% and 90,1%, respectively, and the percentages of surviving worms were of 34,0% for the first drug and 9,9% for the latter. Live males, females and couples were found. The was 2,4% worms survival in the group treated with 150 mg/kg/5 days of praziquantel and both sexes and couples were also found alive. However, for the other doses of praziquantel and oxamniquine only females survived. During the follow-up group some egg recovering was observed 60 days after the treatment, with 100 mg/kg of praziquantel (one animal) and 150 mg/kg of praziquantel (one animal); and after 75 days with 100 mg/kg of oxamniquine (one animal) and 200 mg/kg of oxamniquine (two animals) indicating the presence of living worms of both sexes and temporary interruption of oviposition, indicating that the reproductive system of female was not affected. The 99% effective dilling doses for male worms (ED₉₉) were 129,2 and 159,4 mg/kg for praziquantel and oxamniquine, respectively. Hence, it is necessary to review the posology in humans for both drugs, with the purpose to achieve higher percentages of parasitological cure, thus preventing the selection of resistant and/or tolerant worm strains. In face to these results, the Ouh strain was considered tolerant to oxamniquine and praziquantel in dosage of 100 mg/kg, for it showed sensibility changes to both drugs, and by not-stopping irreversibly oviposition afer treatment.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALARCON de NOYA, B.; NOYA, O.; BALZAN, C. & CESARI, I.M. - New approaches for the control and eradication of schistosomiasis in Venezuela. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de J.**, v.87(suppl. IV), p.227-231, 1992.
- ANDREWS, P.; THOMAS, H. & WEBER, H. - The *in vivo* uptake of ^{14}C praziquantel by cestodes, trematodes and a nematode. **J. Parasitol.**, v.66, p.920-925, 1980.
- ARAÚJO, N.; KATZ, N.; DIAS, E.P. & SOUZA, C.P. - Susceptibility to chemotherapeutic agents of strains of *Schistosoma mansoni* isolated from treated and untreated patients. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.29, p.890-894, 1980.
- ARMSTRONG, J.C. - Mating behaviour and development of schistosomes in the mouse. **J. Parasitol.**, v.51, p.605-616, 1965.
- BARRAL, V.; THIS, P.; IMBERT-ESTABLET, D.; COMBES, C. & DELSENY, M. - Genetic variability and evolution of the *Schistosoma mansoni* analysed by using random amplified polymorphic DNA markers. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v.59, p.211-222, 1993.
- BARRETO, M.L.; SMITH, D.H. & SLEIGH, A.C. - Implications of faecal egg count variation when using the Kato-Katz method to assess *Schistosoma mansoni* infections. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.84, p.554-555, 1990.
- BRICKER, C.S.; DEPENBUSCH, J.W.; BENNETT, J.L. & THOMPSON, D. - The relationship between tegumental disruption and muscle contraction in *Schistosoma mansoni* exposed to various compounds. **Z. Parasitenkd.**, v.69, p.61-71, 1983.
- BRINDLEY, P.J. & SHER, A. - Anti-schistosomal drugs: observations on the mechanism of drug resistance to hycanthone, and on the involvement of host antibodies in the mode of action of praziquantel. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de J.**, v.82 (suppl. IV), p.157-161, 1987.
- BRINDLEY, P.J.; LEWIS, F.A.; McCUTCHAN, T.F.; BUEDING, E. & SHER, A. - A genomic change associated with the development of resistance to hycanthone in *Schistosoma mansoni*. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v.36, p. 243-252, 1989.

- BRINDLEY, P.J.; HEATH, S.; WATERS, A.P.; McCUTCHAN, T.F. & SHER, A. - Characterization of a programmed alteration in an 18S ribosomal gene that accompanies the experimental induction of drug resistance in *Schistosoma mansoni*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.88, p.7754-7758, 1991.
- BROOME, P.B. & RADKE, M.G. - An improved mouse restrain chamber. **Jpn. J. Parasitol.**, v.20, p.81-82, 1971.
- BRUCE, J.I.; DIAS, L.C.S.; LIANG, Y.S. & COLES, G.C. - Drug resistance in schistosomiasis: a review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de J.**, v.82 (suppl. IV), p.143-150, 1987.
- BUEDING, E.; FISCHER, J. & BRUCE, J. - The antischistosomal activity of a chloroindazole analog of hycanthone in mice infected with *Schistosoma mansoni*. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.186, p.402-407, 1973.
- CAMPOS, R.; MOREIRA, A.A.B.; SETTE Jr., H.; CHAMONE, D.A.F. & SILVA, L.C. - Hycanthone resistance in a human strain of *Schistosoma mansoni*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.70, p.261-262, 1976.
- CAPRON, A.; DESSAINT, J.P.; CAPRON, M. & PIERCE, R.J. - Vaccine strategies against schistosomiasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de J.**, v.87 (suppl. V), p.1-19, 1992.
- CERF, J.; LEBRUM, A. & DIERICHK, J. - A new approach to helminthiasis control. The use of an organophosphorus compound. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.11, p.514-517, 1962.
- CHRISTOPHERSON, J.B. - The successful use of antimiony in bilharziasis. **Lancet**, v.2, p.325-327, 1918.
- CIOLI, D. - Transfer of *Schistosoma mansoni* into the mesenteric veins of hamsters. **Int. J. Parasitol.**, v. 6, p.355-362, 1976.

- CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; ROSENBERG, S. & ARCHER, S. - Evidence for the mode of antischistosomal action of hycanthone. **Life Sci.**, v.37, p.161-167, 1985.
- CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L. & ARCHER, S. - Resistance of schistosomes to hycanthone and oxamniquine. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de J.**, v. 84 (suppl. I), p.38-45, 1989.
- CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L. & MORONI, R. - *Schistosoma mansoni*: hycanthone/oxamniquine resistance is controlled by a single autosomal recessive gene. **Exp. Parasitol.**, v.75, p.425-432, 1992.
- COLES, G.C. - The effect of praziquantel on *Schistosoma mansoni*. **J. Helmintol.**, v.53, p.31-33, 1979.
- COLES, G.C. & BRUCE, J.I. - *In vitro* selection of drug resistant *Schistosoma mansoni*. **Int. J. Parasitol.**, v.17, p.767-771, 1987.
- COLES, G.C. & BRUCE, J.I. - Resistance in *Schistosoma*. In: Round Table conference. VII International Congress of Parasitology. Paris. August, p.1-12, 1990.
- COLES, G.C.; BRUCE, J.I.; KINOTI, G.K.; MUTAHI, W.T.; DIAS, E.P. & KATZ, N. - Drug resistance in schistosomiasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.80, p.347, 1986.
- COLES, G.C.; MUTAHI, W.T.; KINOTI, G.K.; BRUCE, J.I. & KATZ, N. - Tolerance of Kenyan *Schistosoma mansoni* to oxamniquine. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.81, p.782-785, 1987.
- CUNHA, A.S.; CANÇADO, J.R. & REZENDE, G.L. - Therapeutical evaluation of different dose regimes of praziquantel in schistosomiasis mansoni, based on the quantitative oogram technique. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.29, p.295-304, 1987.
- DAVIS, A. - Antischistosomal drugs and clinic practice. In: Human schistosomiasis. Jordan, P., Webbe, G. & Sturrock, R.F. ed. CAB International, Cap. 10, p. 367-404, 1993.

- DIAS, L.C.S. & GONÇALVES, E.R. - O *Schistosoma mansoni* diz não às drogas. **Ciência Hoje**, v.14, p.22-25, 1992.
- DIAS, L.C.S. & OLIVIER, C.E. - Stability of *Schistosoma mansoni* progeny to antischistosomal drugs. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.27, p.186-189, 1985.
- DIAS, L.C.S. & OLIVIER, C.E. - Failure at inducing resistance to schistosomicidal drugs in a Brazilian human strain of *Schistosoma mansoni*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.28, p.352-357, 1986.
- DIAS, L.C.S.; BRUCE, J.I. & COLES, G.C. - Strain variation in the infectivity of *Schistosoma mansoni* for *Biomphalaria glabrata*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.30, p.86-90, 1988.
- DIAS, L.C.S.; FIGUEIREDO, A.C. & ADANI, I.A.B. - Variação na suscetibilidade de sublinhagem MAP de *Schistosoma mansoni* isolada após tratamento com 700 mg/kg de oxamniquine. XXVIII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, p.50, 1992.
- DIAS, L.C.S.; PEDRO, R.J.; RIGO, E.; GOTO, M.M. & MAFRA, G.L. - Linhagem humana de *Schistosoma mansoni* resistente a esquistossomicidas. **Rev. Saúde Pública**, v.12, p.110, 1978.
- DIAS NETO, E.; SOUZA, C.P.; ROLLINSON, D.; KATZ, N.; PENA, S.D.J. & SIMPSON, A.J.G. - The random amplification of polymorphic DNA allows the identification of strains and species of schistosome. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v.57, p.83-88, 1993.
- DIEKMANN, H.W. & BÜHRING, K.U. - The fate of praziquantel in the organism. III. Metabolism in rat, beagle dog and rhesus monkey. **Eur. J. Drug Metabol. Pharmacokinet.**, v.1, p.107-112, 1976.
- DOENHOFF, M.J. - The immune-dependence of chemotherapy in experimental schistosomiasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de J.**, v.84 (suppl. I), p.31-37, 1989.

- DOENHOFF, M.J.; MODHA, J. & LAMBERTUCCI, J.R. - Anti-schistosome chemotherapy enhanced by antibodies specific for a parasite esterase. **Immunology**, v.65, p.507-510, 1988.
- DOENHOFF, M.J.; SABAH, A.A.; FLETCHER, C.; WEBBE, G. & BAIN, J. - Evidence for a immune-dependent action of praziquantel on *Schistosoma mansoni* in mice. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.81, p.947-951, 1987.
- DOUMENGE, J.P.; MOTT, K.E.; CHEUNG, C.; VILLENAVE, D.; CHAPUIS, O.; PERRIN, M.F. & REAUD-THOMAS, G. - Atlas of the global distribution of schistosomiasis. Université de Bordeaux III, França, 1987.
- DRESCHER, K.M.; ROGERS, E.J.; BRUCE, J.I.; KATZ, N.; DIAS, L.C.S. & COLES, G.C. - Response of drug resistant isolates of *Schistosoma mansoni* to antischistosomal agents. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de J.**, v.88, p.89-95, 1993.
- ERASMUS, D.A. - A comparative study of the reproductive system of mature, immature and "unisexual" female *Schistosoma mansoni*. **Parasitology**, v.67, p.165-183, 1973.
- FALLON, P.G. & DOENHOFF, M.J. - Drug-resistant schistosomiasis: resistance to praziquantel and oxamniquine induced in *Schistosoma mansoni* in mice is drug specific. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.51, p.83-88, 1994.
- FARID, Z.; EL-MASRY, N.A.; BASSILY, S.; KAMAL, M. & KILPATRICK, M.E. - Combined praziquantel-oxamniquine treatment of schistosomiasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.84, p.807, 1990.
- FIGUEIREDO, A.C. - **Estudo de características biológicas e morfológicas de cepa paulista de *Schistosoma mansoni* do Vale do Ribeira**. Campinas, S.P., 1991. [Tese de Mestrado - Inst. Biologia da UNICAMP]
- FOSTER, R. & CHEETHAM, B.L. - Studies with the schistosomicide oxamniquine (UK-4271) I. Activity in rodents and *in vitro*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.67, p.674-684, 1973.

- GIBODA, M. & SMITH, J.M. - *Schistosoma mansoni* eggs as a target for praziquantel: efficacy of oral application in mice. **J. Trop. Med. Hyg.**, v.97, p.998-102, 1994.
- GOLDBERG, M.; GOLD, D.; FLESCHER, E. & LENGY, J. - Effect of oxamniquine on *Schistosoma mansoni*: some biological and biochemical observations. **Biochem. Pharmacol.**, v.29, p.838-840, 1980.
- GOMES, E.; DIAS, L.C.S.; TAKAKU, L. & STANGENHAUS, G. - Biological and morphological characteristics of *Schistosoma mansoni* from the Paranapanema Valley (Ourinhos), São Paulo Brasil. IV International Symposium on Schistosomiasis, p.51, 1993. [Resumo]
- GONÇALVES, E.R. & DIAS, L.C.S. - Resposta da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni* a diferentes doses de oxamniquine. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.33 (supl. 8), S45, 1991. [Resumo]
- GÖNNERT, R. & ANDREWS, P. - Praziquantel, a new broad-spectrum antischistosomal agent. **Z. Parasitenkd.**, v.52, p.129-150, 1977.
- GUIMARÃES, R.X.; TCHAKERIAN, A.; DIAS, L.C.S.; ALMEIDA, F.M.R.; VILELA, M.P.; CABEÇA, M. & TAKEDA, A.K. - Resistência ao hycanthone e oxamniquine em doentes com esquistossomose forma clínica hepatointestinal. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v.25, p.48-50, 1979.
- HARDER, A.; ANDREWS, P. & THOMAS, H. - Praziquantel: mode of action. **Biochem. Soc. Trans.**, v.15, p.68-70, 1987.
- HARNET, W. KUSEL, J. - Increased exposure of parasite antigens at the surface of adult male *Schistosoma mansoni* exposed to praziquantel *in vitro*. **Parasitology**, v.93, p.401-405, 1986.
- HILL, J. - Chemotherapeutic studies with laboratory infections of *Schistosoma mansoni*. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v.56, p.39-48, 1956.
- JANSMA, W.B.; ROGERS, S.H.; LIU, C.L. & BUEDING, E. - Experimentally produced resistance of *Schistosoma mansoni* to hycanthone. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.26, p.926-936, 1977.

KATZ, N.; CHAVES, A. & PELLEGRINO, J. - A simple device for quantitative stool thick smear technique in schistosomiasis mansoni. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 14, p.397-400, 1972.

KATZ, N.; DIAS, E.P.; ARAÚJO, N. & SOUZA, C.P. - Estudo de uma cepa humana de *Schistosoma mansoni* resistente a agentes esquistossomicidas. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.7, p.381-387, 1973.

KATZ, N.; ROCHA, R.S.; SOUZA, C.; COURA F^O, P.; BRUCE, J.I.; COLES, G.C. & KINOTI, G.K. - Efficacy of alternating therapy with oxamniquine and praziquantel to treat *Schistosoma mansoni* in children following failure of first treatment. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.44, p.509-512, 1991.

KEMP, H.A.; HUNTER, G.W.; WILKINS, O.P.; SMALLEY, H. & DASHIEL, M.A. - Some ointments examined for protection against *Schistosoma mansoni* cercarie in preliminary tests. **Milit. Med.**, v.119, p. 1-10, 1956.

KIKUTH, E. & GÖNNERT, R. - Experimental studies on the therapy of schistosomiasis. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v.42, p.256-267, 1948.

KINOTI, G.K. - The significance of variation in the susceptibility of *Schistosoma mansoni* to the antischistosomal drug oxamniquine. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de J.**, v.82 (suppl. IV), p.151-156, 1987.

KOHN, A.; SERAPIÃO, C.J.; KATZ, N. & DIAS, E.P. - Ação do oxamniquine sobre o *Schistosoma mansoni* em camundongos experimentalmente infectados. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.21, p.217-227, 1979.

LAMBERT, C.R. - Chemotherapy of experimental *Schistosoma mansoni* infection with a nitro-thiazole derivative, CIBA 32,644-Ba. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v.58, p. 293-303, 1964.

LAMBERTUCCI, J.R. - A new approach to the treatment of acute schistosomiasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de J.**, v.84 (suppl. I), p.23-30, 1989.

- LAMBERTUCCI, J.R.; MODHA, J.; CURTIS, R. & DOENHOFF, M. - The association of steroids and schistosomiasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.83, p.354-357, 1989.
- LEE, H.G.; CHEEVER, A.W. & FAIRWEATHER, W.R. - Influence of parasite strains on chemotherapy of murine infections with *Schistosoma mansoni*. **Bull. WHO**, v.45, p.147-155, 1971.
- LENNOX, R.W. & SCHILLER, E.C. - Changes in dry weight and glycogen content as criteria for measuring the pos-cercarial growth and development of *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v.58, p.489-494, 1972.
- LEROY, J.P.; BARREAU, M.; COTREL, C.; JEANMART, C.; MESSER, M. & BENAZET, F. - Laboratory studies of 35,972 R.P., a new schistosomicidal compound. In: "Current Chemotherapy", Proceedings of 10th International Congress of Chemotherapy, p.148-150, 1978.
- LIMA, J.N. - **Estudo clínico e terapêutico da esquistossomose mansônica em menores de 15 anos do Vale do Ribeira - SP. Comparação da oxamniquina, praziquantel e associação dessas drogas em baixas doses.** Campinas, S.P., 1991. [Tese de Mestrado - Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP]
- MAGALHÃES, V.C.; DIAS, L.C.S. & STANGENHAUS, G. - Oxamniquine resistance strain of *Schistosoma mansoni* from Minas Gerais State - Brazil: biological and morphological characteristics. VI International Symposium on Schistosomiasis, p.73, 1993. [Resumo]
- MCCUTCHAN, T.F.; SIMPSON, A.J.G.; MULLINS, J.A.; SHER, A.; NASH, T.; LEWIS, F. & RICHARDS, C. - Differentiation of schistosomes by species, strain, and sex by using cloned DNA markers. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.81, p.889-893, 1984.
- MEHLHORN, H.; BECKER, B.; ANDREWS, P.; THOMAS, H. & PRENKEL, J.K. - *In vitro* and *in vivo* experiments on the effects of praziquantel on *Schistosoma mansoni*. A light and electron microscopy study. **Arzneim. Forsch./Drug Res.**, v.31, p.544-554, 1981.

- MODHA, J.; LAMBERTUCCI, J.R.; DOENHOFF, M.J. & McLAREN, D.J. - Immune dependence of schistosomicidal chemotherapy: an ultrastructural study of *Schistosoma mansoni* adult worm exposed to praziquantel and immune serum *in vivo*. **Parasit. Immunol.**, v.12, p.321-334, 1990.
- MORCOS, S.H.; MANSOUR, M.M.; KHAYYAL, M.T.; SALEH, S.; ISHAK, E.A. & GIRGIS, N.I. - Evaluation of hepatic fibrosis after oxamniquine therapy of murine schistosomiasis. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v.86, p.511-516, 1992.
- OLIVIER, L. & STIREWALT, M.A. - An efficient method for exposure of mice to cercariae of *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v.38, p.19-23, 1952.
- PELLEGRINO, J. & KATZ, N. - Experimental chemotherapy of schistosomiasis mansoni. **Adv. Parasitol.**, v.6, p.233-290, 1968.
- PELLEGRINO, J.; OLIVEIRA, C.A.; FARIA, J. & CUNHA, A.S. - New approach to the screening of drugs in experimental schistosomiasis mansoni in mice. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.11, p.201-215, 1962.
- PENIDO, M.L.O. - **Ácidos alquilaminoalcanotiosulfúricos: metabolismo e atividade esquistossomicida**. Belo Horizonte, M.G., 1994 [Tese de Doutorado - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais]
- PENIDO, M.L.O.; NELSON, D.L.; VIEIRA, L.Q. & COELHO, P.M.Z. - Schistosomicidal activity of alkylaminooctanethiosulfuric acids. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de J.**, v.89, p.595-602, 1994.
- PICA-MATTOCCIA, L. & CIOLI, D. - Studies on the mode of action of oxamniquine and related schistosomicidal drugs. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.34, p.112-118, 1985.
- PICA-MATTOCCIA, L.; CIOLI, D. & ARCHER, S. - Binding of oxamniquine to the DNA of schistosomes. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.83, p.373-376, 1989.
- PICA-MATTOCCIA, L.; DIAS, L.C.S. & CIOLI, D. - Genetic complementation analysis of two independently isolated hycanthone-resistant strains of *Schistosoma mansoni*. III International Symposium on Schistosomiasis, 1991. [Resumo]

- PICA-MATTOCCIA, L.; DIAS, L.C.S. & CIOLI, D. - Genetic complementation analysis of two independently isolated hycanthone-resistant strains of *Schistosoma mansoni*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de J.**, v.87 (suppl. IV), p.211-214, 1992.
- PICA-MATTOCCIA, L.; DIAS, L.C.S.; MORONI, R. & CIOLI, D. - *Schistosoma mansoni*: genetic complementation analysis shows that two independent hycanthone/oxamniquine-resistant strains are mutated in the same gene. **Exp. Parasitol.**, v.77, p.445-449, 1993.
- POPIEL, I. & ERASMUS, D.A. - *Schistosoma mansoni*: the survival and reproductive status of mature infections in mice treated with oxamniquine. **J. Helminthol.**, v.56, p.257-261, 1982.
- POPIEL, I. & ERASMUS, D.A. - *Schistosoma mansoni*: ultrastructure of adults from mice treated with oxamniquine. **Exp. Parasitol.**, v.58, p.254-262, 1984.
- POPIEL, I.; CIOLI, D. & ERASMUS, D.A. - The morphology and reproductive status of female *Schistosoma mansoni* following separation from male worms. **Intern. J. Parasitol.**, v.14, p.183-190, 1984a.
- POPIEL, I.; CIOLI, D. & ERASMUS, D.A. - Reversibility of drug-induced regression in female *Schistosoma mansoni* upon pairing with male worms *in vivo*. **Z. Parasitenkd.**, v.70, p.421-424, 1984b.
- POPIEL, I.; IRVING, D.L. & BASCH, P.F. - Wound healing in the trematode *Schistosoma*. **Tissue and Cell**, v.17, p.69-77, 1985.
- PRICHARD, K.K.; HALL, C.A.; KELLY, J.D.; MARTIN, I.C.A. & DONALD, A.D. - The problem of anthelmintic resistance in nematodes. **Austr. Vet. J.**, v.56, p.239-250, 1980.
- RADKE, M.G.; BERRIOS-DURAN, L.A.; MORAN, K. - A perfusion procedure, perfusion - suction, for recovery of schistosome worms. **J. Parasitol.**, v.47, p. 366-368, 1961.

- REIS, M.G. & ANDRADE, Z.A. - Efeito da quimioterapia sobre os ovos de *Schistosoma mansoni*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de J.**, v.82, p.161-165, 1987.
- REY, L. - A frequência provável da esquistossomose mansônica em São Paulo. **Hospital**, v.64, p.9-19, 1953.
- REY, L. - Epidemiologia e Controle da Esquistossomose nas Américas. In: Bases da Parasitologia Médica. Guanabara-Koogan, Cap. 18, p.160-170, 1992.
- RICHARDS, H.C. & FOSTER, R. - A new series of 2-aminomethyltetra hydroquinaline derivatives displaying schistosomicidal activity in rodents and primates. **Nature**, v.222, p.581-582, 1969.
- RICHARDS Jr., F.; SULLIVAN, J.; RUIZ-TIBEN, E.; EBERHARD, M. & BISHOP, H. - Effect of praziquantel on the eggs of *Schistosoma mansoni* with a note on the implications for managing central nervous system schistosomiasis. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v.83, p.465-472, 1989.
- ROGERS, S.H. & BUEDING, E. - Hycanthone resistance: development in *Schistosoma mansoni*. **Science**, v.172, p.1057-1058, 1971.
- ROLLINSON, D. & SOUTHGATE, V.R. - The genus *Schistosoma*: a taxonomic appraisal. In: The Biology of Schistosomes from genes to latrines. Rollinson, D. & Simpson, A.J.G., ed. Academic Press, Cap 1, pp 1-49, 1987.
- ROSI, D.; PERUZZOTI, G.; DENNIS, E.W.; BERBERIAN, D.A.; FREELE, H. & ARCHER, S. - A new active metabolite of Miracil D. **Nature**, v.208, p.1005-1006, 1965.
- SANTOS, L.; COSTA, I.B.; FIGUEIREDO, C.C.S.B. & ALTOMANI, M.A.G. - Primeiro encontro de *Biomphalaria straminea* Dunker, 1848, no município de Cruzeiro, Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, naturalmente infectada por cercárias de *Schistosoma mansoni*. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.40, p.165-6, 1980.

- SCHEPERS, H.; BRASSEUR, R.; GOORMAGHTIGH, E.; DUQUENOY, P. & RUYSSCHAERT, J.M. - Mode of insertion of praziquantel and derivatives into lipid membranes. **Biochem. Pharmacol.**, v.37, p.1615-1623, 1988.
- SHAW, J.R. & BRAMMER, K.W. - The treatment of experimental schistosomiasis with a combination of oxamniquine and praziquantel. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.77, p.39-40, 1983.
- SHAW, M.K. & ERASMUS, D.A. - *Schistosoma mansoni*: dose-related tegumental surface changes after *in vivo* treatment with praziquantel. **Z. Parasitenkd.**, v.69, p.643-653, 1983.
- SHAW, M.K. & ERASMUS, D.A. - *Schistosoma mansoni*: structural damage and tegumental repair after *in vivo* treatment with praziquantel. **Parasitology**, v.94, p.243-254, 1987.
- SILVEIRA, A.C. - Controle da Esquistossomose no Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de J.**, v.84 (suppl. I), p.91-104, 1989.
- SLEIGH, A.; HOFF, R.; MOTT, K.; BARRETO, M.; MAISK de PAIVA, T.; SOUZA PEDROSA, J. & SHERLOCK, I. - Comparison of filtration staining (Bell) and thick smear (Kato) for the detection and quantitation of *Schistosoma mansoni* eggs in faeces. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.76, p.403-406, 1982.
- SOUZA, C.P.; ARAÚJO, N.; JANNOTTI, L.K. & GAZZINELLI, G. - Fatores que podem afetar a criação e manutenção de caramujos infectados e a produção de cercárias de *Schistosoma mansoni*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de J.**, v.82, p.73-79, 1987.
- STANDEN, O.D. - Experimental infection of *Australorbis glabratus* with *Schistosoma mansoni*. I. Individual and mass infection of snails, and the relationship of infection to temperature and season. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v.46, p.48-53, 1952.
- STRIEBEL, H.P. - 4-Isothiocyanato-4-nitrodiphenylamine (C-9333-GO/CGP4540) an anthelmintic with an unusual spectrum of activity against intestinal nematodes, filariae and schistosomes. **Experientia**, v.32, p.457-458, 1976.

SUCEN (Superintendência de Controle de Endemias) - **Situação da esquistossomose no Estado de São Paulo**. II Encontro sobre Esquistossomose. São Paulo, Imprensa Oficial do Estado, 1982. [Relatório]

TAYLOR, M.G. & NELSON, G.S. - A comparison of the susceptibility to niridazole of two geographical strains of *Schistosoma mansoni* in mice with a note of the susceptibility of *Schistosoma mattheei*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.63, p.169-174, 1971.

TDR News - Praziquantel shows unexpected failure in recent schistosomiasis outbreak. **TDR News**, v.41, p.1-2, 1992.

TELES, H.M.S. & VAZ, J.F. - Distribuição de *Biomplalaria glabrata* (Say, 1818) (Pulmonata, Planorbidae), no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v.21, p.508-512, 1987.

THOMAS, H.; GÖNNERT, R.; POHLKE, R. & SEUBERT, J. - A new compound against adult tapeworms. Proceedings of the 7th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Thessaloniki, Abstract 51, 1975.

VAZ, J.F.; ELMÔR, M.R.D.; GONÇALVES, L.M.C. & ISHIHATA, G.K. - Resultados do levantamento planorbídico da área de Presidente Prudente - Estado de São Paulo. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.25, p.120-126, 1983.

VAZ, J.F.; TELES, H.M.S.; LEITE, S.P.S.; CORRÊA, M.A. FABBRO, A.L.D. & ROSA, W.S. - Levantamento planorbídico do Estado de São Paulo. **Rev. Saúde Pública**, v.20, p.352-361, 1986.

VAZ, J.F.; MANTEGAZZA, E.; TELES, H.M.S.; LEITE, S.P.S. & MORAIS, L.V.C. - Levantamento planorbídico do Estado de São Paulo (Brasil): 4 região administrativa. **Rev. Saúde Pública**, v.21, p.371-379, 1987.

VIEIRA, L.Q. - Variação genética no *Schistosoma mansoni*. **Ciência Hoje**, v.14, p.25-29, 1992.

- WOOLHOUSE, N.M. & KAYE, B. - Uptake of [^{14}C] oxamniquine by *Schistosoma mansoni*. **Parasitology**, v.75, p.111-118, 1977.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Control de la esquistosomiasis** - Informe de un Comité de Expertos de la OMS, Ginebra, 1985.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - **The control of schistosomiasis** - second report of the WHO Expert Committee, Geneva, 1993.
- YEANG, F.S.W.; MARSHALL, I. & HUGGINS, M. - Oxamniquine resistance in *Schistosoma mansoni*: fact or fiction? **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v.81, p.337-339, 1987.
- YOLLES, T.K.; MOORE, P.V.; DEGINSTI, D.L.; RIPSON, C.A. & MELENEY, H.E. - A technique for the perfusion of laboratory animals for the recovery of schistosomes. **J. Parasitol.**, v.33, p.419-426, 1947.
- ZWINGENBERGER, K.; HARMS, G. & POGGENSEE, U. - Re-infection in human schistosomiasis mansoni: a prospective field study 18 months after praziquantel therapy. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v.84, p.457-465, 1990.

ANEXOS

Determinação de doses efetivas com base no número de vermes machos sobreviventes. Análise de probitos da resposta a oxaquinolona e praziquantel. Referentes às figuras 1 e 2.

% de vermes machos sobreviventes	DE (mg/kg)	Dose de oxaquinolona (mg/kg)	Dose de praziquantel/ 5 dias (mg/kg)
1	99	159,4	129,2
2	98	149,0	123,8
3	97	142,5	120,4
4	96	137,6	117,9
5	95	133,6	115,8
6	94	130,1	114,0
7	93	127,2	112,5
8	92	124,5	111,1
9	91	122,1	109,8
10	90	119,8	108,6
15	85	110,6	103,8
20	80	103,2	99,9
25	75	96,9	93,4
30	70	91,2	87,4
35	65	85,9	82,0
40	60	80,9	76,8
45	55	76,1	71,7
50	50	71,3	66,8
55	45	66,6	61,8
60	40	61,8	56,8
65	35	56,8	51,6
70	30	51,5	46,1
75	25	45,8	40,2
80	20	39,5	33,6
85	15	32,1	25,9
90	10	22,8	16,3
91	9	20,6	14,0

Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados no fígado, em camundongos infectados com 70 cercárias da geração F_4 de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh, tratados com oxamniquine ou praziquantel nas diferentes dosagens. Referentes às figuras 3 e 4.

Droga	Dose (mg/kg)	Estatísticas						
		n	min	Q ₁	Q ₂	Q ₃	máx	média
OXA	0	7	6,6	16,7	24,1	45,8	50,0	27,6
OXA	100	7	57,1	77,8	94,7	100,0	100,0	88,3
OXA	200	7	91,7	100,0	100,0	100,0	100,0	98,8
OXA	300	8	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
OXA	400	7	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
PZQ	0	4	2,1	22,5	45,4	65,7	83,3	44,1
PZQ	100	7	0,0	90,0	100,0	100,0	100,0	83,8
PZQ	150	5	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
PZQ	200	7	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
PZQ	250	4	96,5	98,3	100,0	100,0	100,0	99,1

Obs:

OXA-0, OXA-100, OXA-200, OXA-300 e OXA-400: tratamento com oxamniquine nas dosagens de 0, 100, 200, 300 e 400 mg/kg, respectivamente;

PZQ-0, PZQ-100, PZQ-150, PZQ-200 e PZQ-250: tratamento com praziquantel nas dosagens de 0, 100, 150, 200 e 250 mg/kg/5 dias, respectivamente.

Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes mortos no fígado, em camundongos infectados com 70 cercárias da geração F_4 de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh, tratados com oxamniquine ou praziquantel nas diferentes dosagens. Referentes às figuras 5 e 6.

Droga	Dose (mg/kg)	Estatísticas						
		n	min	Q ₁	Q ₂	Q ₃	máx	média
OXA	0	7	0,0	0,0	0,0	10,0	14,3	3,5
OXA	100	7	21,4	31,3	46,3	64,5	75,0	49,0
OXA	200	7	27,3	40,0	85,7	100,0	100,0	75,4
OXA	300	8	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
OXA	400	7	97,0	100,0	100,0	100,0	100,0	99,6
PZQ	0	4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PZQ	100	6	72,4	81,5	92,8	100,0	100,0	89,9
PZQ	150	5	94,3	96,6	97,0	100,0	100,0	97,6
PZQ	200	7	82,6	100,0	100,0	100,0	100,0	97,5
PZQ	250	4	92,6	92,7	96,4	100,0	100,0	96,4

Obs:

OXA-0, OXA-100, OXA-200, OXA-300 e OXA-400: tratamento com oxamniquine nas dosagens de 0, 100, 200, 300 e 400 mg/kg, respectivamente;

PZQ-0, PZQ-100, PZQ-150, PZQ-200 e PZQ-250: tratamento com praziquantel nas dosagens de 0, 100, 150, 200 e 250 mg/kg/5 dias, respectivamente.

Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes acasalados, em camundongos infectados com 70 cercárias da geração F_4 de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh, tratados com oxamniquine ou praziquantel nas diferentes dosagens. Referentes às figuras 7 e 8.

Droga	Dose (mg/kg)	Estatísticas						
		n	min	Q ₁	Q ₂	Q ₃	máx	média
OXA	0	7	44,4	45,0	58,3	73,3	82,0	60,4
OXA	100	7	0,0	0,0	0,0	5,9	11,1	3,2
OXA	200	7	0,0	0,0	0,0	0,0	8,0	1,1
OXA	300	8	0,0	0,0	0,0	0,0	10,5	1,3
OXA	400	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PZQ	0	4	33,3	48,6	69,4	85,5	96,0	67,0
PZQ	100	7	0,0	13,8	24,0	27,6	46,7	22,6
PZQ	150	5	11,4	18,2	20,7	22,9	27,0	20,0
PZQ	200	7	8,7	25,0	32,0	42,9	48,5	31,3
PZQ	250	4	13,8	16,9	21,1	27,8	33,3	22,3

Obs:

OXA-0, OXA-100, OXA-200, OXA-300 e OXA-400: tratamento com oxamniquine nas dosagens de 0, 100, 200, 300 e 400 mg/kg, respectivamente;

PZQ-0, PZQ-100, PZQ-150, PZQ-200 e PZQ-250: tratamento com praziquantel nas dosagens de 0, 100, 150, 200 e 250 mg/kg/5 dias, respectivamente.

Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes vivos acasalados, em camundongos infectados com 70 cercárias da geração F_4 de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh, tratados com oxamniquine ou praziquantel nas diferentes dosagens. Referentes às figuras 9 e 10.

Droga	Dose (mg/kg)	Estatísticas						
		n	min	Q ₁	Q ₂	Q ₃	máx	média
OXA	0	7	60,4	45,0	58,3	73,3	82,0	60,4
OXA	100	7	0,0	0,0	0,0	5,3	11,1	3,2
OXA	200	7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
OXA	300	8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
OXA	400	7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PZQ	0	4	33,3	48,6	69,4	85,5	96,0	67,0
PZQ	100	7	0,0	0,0	0,0	6,7	13,3	2,9
PZQ	150	5	0,0	0,0	0,0	0,0	5,7	1,1
PZQ	200	7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PZQ	250	4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Obs:

OXA-0, OXA-100, OXA-200, OXA-300 e OXA-400: tratamento com oxamniquine nas dosagens de 0, 100, 200, 300 e 400 mg/kg, respectivamente;

PZQ-0, PZQ-100, PZQ-150, PZQ-200 e PZQ-250: tratamento com praziquantel nas dosagens de 0, 100, 150, 200 e 250 mg/kg/5 dias, respectivamente.

Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes mortos acasalados, em camundongos infectados com 70 cercárias da geração F_4 de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh, tratados com oxamniquine ou praziquantel nas diferentes dosagens. Referentes às figuras 11 e 12.

Droga	Dose (mg/kg)	Estatísticas						
		n	min	Q ₁	Q ₂	Q ₃	máx	média
OXA	0	7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
OXA	100	7	0,0	0,0	0,0	0,0	5,9	0,8
OXA	200	7	0,0	0,0	0,0	0,0	8,0	1,1
OXA	300	8	0,0	0,0	0,0	0,0	10,5	1,3
OXA	400	7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PZQ	0	4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PZQ	100	7	0,0	13,8	20,0	27,6	33,3	19,7
PZQ	150	5	11,4	17,1	18,2	20,7	27,0	18,9
PZQ	200	7	8,7	25,0	32,0	42,9	48,5	31,3
PZQ	250	4	13,8	16,9	21,1	27,8	33,3	22,3

Obs:

OXA-0, OXA-100, OXA-200, OXA-300 e OXA-400: tratamento com oxamniquine nas dosagens de 0, 100, 200, 300 e 400 mg/kg, respectivamente;

PZQ-0, PZQ-100, PZQ-150, PZQ-200 e PZQ-250: tratamento com praziquantel nas dosagens de 0, 100, 150, 200 e 250 mg/kg/5 dias, respectivamente.

Estatísticas sumárias referentes aos dados de percentagens de redução, em camundongos infectados com 70 cercárias da geração F₄ de *Schistosoma mansoni*, da linhagem Ouh, tratados com oxamniquine ou praziquantel nas diferentes dosagens. Referentes às figuras 13 e 14.

Droga	Dose (mg/kg)	Estatísticas						
		n	min	Q ₁	Q ₂	Q ₃	máx	média
OXA	0	7	0,0	0,0	0,0	3,4	7,5	1,6
OXA	100	7	16,7	31,3	42,9	57,9	61,8	42,7
OXA	200	7	33,3	40,0	85,7	100,0	100,0	76,3
OXA	300	8	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
OXA	400	7	97,0	100,0	100,0	100,0	100,0	99,6
PZQ	0	4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PZQ	100	7	0,0	70,0	89,7	100,0	100,0	75,6
PZQ	150	5	94,3	96,5	97,0	100,0	100,0	97,6
PZQ	200	7	82,6	100,0	100,0	100,0	100,0	97,5
PZQ	250	4	889,7	91,1	96,3	100,0	100,0	95,6

Obs:

OXA-0, OXA-100, OXA-200, OXA-300 e OXA-400: tratamento com oxamniquine nas dosagens de 0, 100, 200, 300 e 400 mg/kg, respectivamente;

PZQ-0, PZQ-100, PZQ-150, PZQ-200 e PZQ-250: tratamento com praziquantel nas dosagens de 0, 100, 150, 200 e 250 mg/kg/5 dias, respectivamente.