



ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS E MORFOLÓGICAS DA LINHAGEM MAP DE *Schistosoma mansoni*

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por (a) candidato a) Verônica de Carvalho Magalhães e aprovada pela Comissão Julgadora. 11/7/96 J. Candido de S. Dias.

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas, área de concentração em Parasitologia, do Instituto de Biologia, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestrado.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Candido de Souza Dias.

Campinas

1996



9611284

CM-00091201-6

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA	UNICAMP
M27e	
V. E.	
I. D. B.	28169
PRC.	667/96
C	☐
D	☒
PREC.	R\$ 11,00
DATA	10/08/96
N.º CPO	

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL DA UNICAMP

M27e Magalhães, Verônica de Carvalho
Estudo das características biológicas e morfológicas
da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni* / Verônica de
Carvalho Magalhães. -- Campinas, SP : [s.n.], 1996.

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

1. *Schistosoma mansoni*. 2. Drogas - Dosagem. 3.
Esquistossomose mansônica. I. Dias, Luiz Cândido de
Souza. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
Biologia. III. Título.

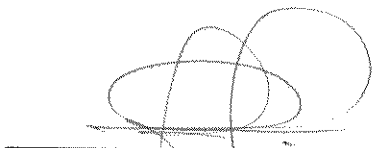
Campinas, 11 de julho de 1996.

BANCA EXAMINADORA

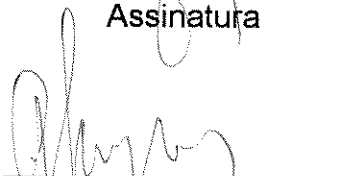
Prof. Dr. Luiz Candido de Souza Dias (orientador)


Assinatura

Prof. Dr. Oswaldo Marçal Júnior


Assinatura

Profa. Dra. Gabriele Stangenhau


Assinatura

SUPLENTE

Profa. Dra. Marlene Tiduko Ueta


Assinatura

AOS MEUS QUERIDOS
MARIDO E FILHO

PAULO SÉRGIO E MARCO ANTÔNIO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Candido de Souza Dias, pela intensiva orientação, paciência, amizade e atenção dedicados a esse trabalho.

Aos professores e amigos Gabriela Stagenhaus e Damião pela amizade e orientação na elaboração da análise estatística dos dados obtidos neste trabalho.

Às professoras Dra. Marlene Tiduko Ueta, Dra. Ana Maria Aparecida Guaraldo e Dra. Urara Kawazoe pelas importantes sugestões, críticas, dedicação e paciência.

Ao querido Prof. Dr. Arício Xavier Linhares pela ajuda no inglês.

Aos queridos amigos Angélica, Cláudia, Chico, Rubinho, Inês, Luciane, Mô Kassar, Patrícia e Veronikita, pela colaboração, amizade e opiniões que de alguma forma ajudaram na idealização deste trabalho.

À todos os funcionários do Departamento de Parasitologia pela dedicação e auxílio na elaboração deste trabalho.

Ao meu querido pai Prof. Dr. Luiz Augusto Magalhães pela amizade, paciência, compreensão e apoio constante nos momentos mais difíceis.

À querida Profa. Dra. Eliana Maria Zanotti-Magalhães pela amizade, convivência e sugestões.

À FAEP pelos recursos financeiros fornecidos.

ÍNDICE

1 - INTRODUÇÃO.....	1
2 - OBJETIVOS.....	14
3 - MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1 - LINHAGEM DE <i>Schistosoma mansoni</i>	15
3.2 - MANUTENÇÃO DE <i>Biomphalaria glabrata</i> EM LABORATÓRIO....	15
3.3 - ESTUDO DA LINHAGEM MAP DE <i>Schistosoma mansoni</i> EM <i>Biomphalaria glabrata</i>	16
3.3.1 - GRUPOS EXPERIMENTAIS DOS MOLUSCOS.....	16
3.3.2 - OBTENÇÃO DOS MIRACÍDIOS.....	16
3.3.3 - INFECÇÃO DOS MOLUSCOS.....	17
3.3.4 - AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DOS MOLUSCOS.....	17
3.3.5 - EXAME DOS MOLUSCOS.....	18
3.3.6 - MORTALIDADE DE MOLUSCOS.....	18
3.4 - GRUPOS EXPERIMENTAIS DOS CAMUNDONGOS.....	19
3.4.1 - SORTEIO DOS TRATAMENTOS PARA OS CAMUNDONGOS.....	20
3.4.2 - INFECÇÃO DE CAMUNDONGOS.....	21
3.4.3 - CAPACIDADE DE PENETRAÇÃO DAS CERCÁRIAS.....	21
3.4.4 - PERCENTAGEM DE RECUPERAÇÃO DOS VERMES.....	22
3.4.5 - MORTALIDADE DOS CAMUNDONGOS.....	22
3.4.6 - TRATAMENTO DOS CAMUNDONGOS COM DROGAS ESQUISTOSSOMICIDAS.....	22
3.4.7 - PERFUSÃO DOS CAMUNDONGOS E COLETA DOS VERMES.....	23
3.4.8 - MORFOLOGIA DOS VERMES.....	23
3.4.9 - AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DO VERME ÀS DROGAS ESQUISTOSSOMICIDAS.....	24
3.4.10 - OOGRAMA.....	25

3.4.11 - VERIFICAÇÃO DO PESO CORPORAL, DO FÍGADO E DO BAÇO.....	25
3.4.12 - VERIFICAÇÃO DAS DIMENSÕES DOS GRANULOMAS HEPÁTICOS.....	26
3.4.13 - MEDIDAS DOS OVOS DE <i>Schistosoma mansoni</i>	26
3.4.14 - ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	27
4 - RESULTADOS.....	29
4.1 - SUSCETIBILIDADE DOS MOLUSCOS (<i>Biomphalaria glabrata</i>)....	29
4.2 - SUSCETIBILIDADE DOS CAMUNDONGOS SWISS.....	30
4.2.1 - CERCÁRIAS PENETRANTES.....	30
4.2.2 - PESOS CORPORAIS.....	31
4.2.3 - PESOS DO FÍGADO E DO BAÇO.....	32
4.2.4 - DIÂMETRO MÉDIO DOS GRANULOMAS.....	33
4.3 - ESTUDO MORFOLÓGICO DA LINHAGEM MAP DE <i>Schistosoma mansoni</i>	34
4.3.1 - OVOS.....	34
4.3.2 - VERMES ADULTOS.....	34
4.4 - ESTUDO DA SUSCETIBILIDADE DE <i>Schistosoma mansoni</i> À DROGAS ESQUISTOSSOMICIDAS.....	35
5 - DISCUSSÃO.....	60
5.1 - CAPACIDADE DE PENETRAÇÃO DAS CERCÁRIAS E RECUPERAÇÃO DOS VERMES.....	63
5.2 - PESO CORPORAL DOS CAMUNDONGOS.....	64
5.3 - PESOS DO FÍGADO E DO BAÇO DOS CAMUNDONGOS.....	66
5.4 - DIMENSÃO DAS REAÇÕES GRANULOMATOSAS DO FÍGADO.....	68
5.5 - ESTUDO MORFOLÓGICO DOS OVOS E VERMES DA LINHAGEM MAP DE <i>Schistosoma mansoni</i>	70
5.5.1 - OVOS.....	70
5.5.2 - VERMES.....	71
5.6 - SUSCETIBILIDADE DE <i>Schistosoma mansoni</i> ÀS DROGAS ESQUISTOSSOMICIDAS OXAMNIQUINE E PRAZICUANTEL.....	73
6 - CONCLUSÕES.....	85

7 - RESUMO..... 87

8 - SUMMARY..... 88

9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 89

ANEXO..... 103

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I - Suscetibilidade de <i>Biomphalaria glabrata</i> infectada com 1 e 10 miracidios, da geração F ₄₁ da cepa MAP de <i>Schistosoma mansoni</i>	40
Tabela II - Pesos corporais de camundongos infectados com 70 cercárias da geração F ₄₁ da linhagem MAP de <i>Schistosoma mansoni</i> ...	41
Tabela III - Número de vermes coletados em camundongos dos grupos controle, praziquantel e oxamniquine infectados com 70 cercárias da geração F ₄₁ da linhagem MAP de <i>Schistosoma mansoni</i>	41
Tabela IV - Distribuição média de vermes coletados em camundongos dos grupos controle, praziquantel e oxamniquine infectados com 70 cercárias da geração F ₄₁ da linhagem MAP de <i>Schistosoma mansoni</i>	41
Tabela V - Percentagem média de vermes coletados no fígado, vermes acasalados, redução de vermes e vermes mortos no fígado nos grupos de camundongos (praziquantel, oxamniquine e controle) infectados com 70 cercárias da geração F ₄₁ da linhagem MAP de <i>Schistosoma mansoni</i>	42
Tabela VI - Avaliação da suscetibilidade de camundongos infectados com 70 cercárias da geração F ₄₁ da linhagem MAP de <i>Schistosoma mansoni</i> , às drogas esquistossomicidas (praziquantel e oxamniquine).....	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Modelo experimental para obtenção e estudo da linhagem de <i>Schistosoma mansoni</i>	43
Figura 2 - Cinética da eliminação de cercárias de <i>Biomphalaria glabrata</i> infectadas com 1 ou 10 miracídios da geração F ₄₁ da linhagem MAP de <i>Schistosoma mansoni</i> , isolado de paciente de Minas Gerais.....	44
Figura 3 - Mortalidade de <i>Biomphalaria glabrata</i> não-infectadas (controle) e infectadas com 1 ou 10 miracídios da geração F ₄₁ da linhagem MAP de <i>Schistosoma mansoni</i> , isolado de paciente de Minas Gerais.....	44
Figura 4 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para as distribuições das percentagens de cercárias penetrantes (CP) e vermes recuperados (VR), dos camundongos do grupo controle (C), infectados com 70 cercárias da geração F ₄₁ da linhagem MAP de <i>Schistosoma mansoni</i> , isolado de paciente de Minas Gerais e dos grupos tratados com oxamniquine (O) e praziquantel (P).....	45
Figura 5 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição dos pesos corporais, nas datas da infecção e perfusão, de camundongos sadios (S) e infectados (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), com 70 cercárias da geração F ₄₁ da linhagem MAP de <i>Schistosoma mansoni</i> , isolado de paciente de Minas Gerais.....	46
Figura 6 - Diagrama de caixas ("Box-plots") para a distribuição do ganho de peso corporal entre as datas da infecção e perfusão, de camundongos sadios (S) e infectados (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel) com 70 cercárias da geração F ₄₁ da linhagem MAP de <i>Schistosoma mansoni</i> , isolado de paciente de Minas Gerais.....	47
Figura 7 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição do peso do fígado de camundongos sadios (S) e infectados (C - controle infectado não-tratado, S -controle sadio) com 70 cercárias da geração F ₄₁ da linhagem MAP de <i>Schistosoma mansoni</i> , isolado de paciente de Minas Gerais.....	48

- Figura 8** - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição do peso do baço de camundongos sadios (S) e infectados (C - controle, S - Controle Sadio) com 70 cercárias da geração F_{41} da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais..... 49
- Figura 9** - Distribuição amostral do produto das medidas de comprimento e largura dos granulomas hepáticos de *Schistosoma mansoni* (linhagem MAP isolada de paciente de Minas Gerais) dos camundongos do grupo controle infectado não tratado (C3)..... 50
- Figura 10**- Distribuição amostral do produto das medidas de comprimento e largura dos ovos de *Schistosoma mansoni* (linhagem MAP isolada de paciente de Minas Gerais) de fezes dos camundongos do grupo controle infectado não tratado (C3)..... 51
- Figura 11** - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição dos comprimentos dos vermes machos e fêmeas de *Schistosoma mansoni* (linhagem MAP isolada de paciente de Minas Gerais), dos camundongos do grupo controle infectado não tratado (C3)..... 52
- Figura 12** - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição por sexo, dos vermes coletados nos camundongos dos grupos (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), infectados com 70 cercárias da geração F_{41} da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais..... 53
- Figura 13** - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição por vitalidade, dos vermes coletados nos camundongos dos grupos (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), infectados com 70 cercárias da geração F_{41} da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais..... 54
- Figura 14** - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição por localização, dos vermes coletados nos camundongos dos grupos (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), infectados com 70 cercárias da geração F_{41} da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais..... 55

- Figura 15** - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição das percentagens de vermes coletados no fígado, de camundongos dos grupos (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais..... 56
- Figura 16** - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição das percentagens de vermes acasalados nos grupos (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), de camundongos infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais..... 57
- Figura 17** - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição das percentagens de vermes mortos no fígado, dos camundongos dos grupos (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais..... 58
- Figura 18** - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição das percentagens de redução de vermes dos camundongos dos grupos (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais..... 59

1 - INTRODUÇÃO

A prevalência da esquistossomose mansônica foi estimada entre 5 a 6 milhões de pessoas infectadas no Brasil (Doumenge e cols., 1987) e avaliou-se que cerca de 30 milhões de brasileiros estavam expostos ao risco de contaminação (WHO, 1993).

A esquistossomose mansônica vem sendo controlada em várias regiões brasileiras. No Nordeste, as ações de controle vem sendo desenvolvidas desde 1976 através do PECE (Programa de Controle da Esquistossomose), principalmente com o uso da oxamniquine para tratamento em massa (Silveira, 1989). Apesar da sua utilização ter provocado baixa nas taxas de infecção, não tem havido redução da prevalência abaixo de 10%. Não houve também impacto sobre a mortalidade nem sobre a frequência e a gravidade das internações hospitalares (Barreto, 1984).

No Estado de São Paulo a endemia, sob forma de focos, vem sendo controlada de forma integral desde 1969 com a criação da CACESQ (Campanha de Combate à Esquistossomose) pela Secretaria de Saúde do Estado que posteriormente foi incorporada à SUCEN (Superintendência de Controle de Endemias) (SUCEN, 1982; Silva, 1992).

Geralmente as áreas endêmicas de esquistossomose no Brasil tem, como hospedeiros intermediários ***Biomphalaria glabrata*** Say 1818 ou ***Biomphalaria straminea*** Dunker 1848, aparecendo também ***Biomphalaria***

tenagophila D'Orbigny 1835 como importante hospedeiro nas regiões Sudeste e Sul do país (Doumenge e cols., 1987).

No Estado de São Paulo a transmissão da esquistossomose mansônica ocorre no Vale do Rio Paraíba do Sul, Grande São Paulo, Baixada Santista, Litoral Sul, Vale do rio Ribeira de Iguape, Região de Campinas e Vale do rio Paranapanema (SUCEN, 1982). A **B. tenagophila** é a principal hospedeira intermediária no Estado de São Paulo, exceto na região do vale do rio Paranapanema onde a espécie hospedeira é a **B. glabrata** (Vaz e cols., 1983; 1985; 1986; 1987; Teles & Vaz, 1987). **B. straminea** ocorre em 27 municípios, mas ainda não contribui na transmissão da esquistossomose no Estado.

Existem vários trabalhos sobre suscetibilidade de moluscos. Files & Cram (1949) já admitiam a existência de diferenças fisiológicas intra e inter-específicas entre os parasitos de áreas endêmicas diferentes. Newton (1958) considerou que a suscetibilidade estaria ligada a fatores genéticos e a idade dos moluscos.

Ruiz (1957) submeteu à infecção por **Schistosoma mansoni** Sambon 1907, exemplares de **B. glabrata**, **B. tenagophila** e **B. straminea**. No trigésimo dia pós-infecção, verificou que **B. tenagophila** de São Paulo e **B. straminea** de Pernambuco não se infectaram, assim como **B. glabrata** procedente da Bahia. **B. glabrata** originária de Minas Gerais, Pernambuco e Venezuela apresentam taxas de infecção que variaram de 10 a 100%.

Paraense & Corrêa (1963a) estudaram a suscetibilidade de 23 populações de **B. glabrata** de procedências diversas, à infecção por miracídios

oriundos de ovos colhidos em fezes de pacientes na fase crônica, que tinham tido contato com cercárias de Belo Horizonte (MG). A maioria destas populações de planorbídeos se mostrou bastante suscetível, apresentando índices de infecção superiores a 50%. Os autores não observaram correlação entre o grau de infectividade de cada população de molusco e a distância entre a origem geográfica do molusco e do parasito. Tais resultados corroboram aqueles observados por Files & Cram (1949), referentes ao estudo das diferenças fisiológicas intraespecíficas apresentadas por populações de *B. glabrata*. Ainda Paraense & Corrêa (1963b) verificaram que *B. tenagophila* do Vale do rio Paraíba do Sul (SP), era refratária à infecção por *S. mansoni* de Belo Horizonte (MG) mas se infectava com a linhagem paulista do parasito. Por outro lado, *B. glabrata* de Belo Horizonte era suscetível ao *S. mansoni* mineiro mas refrataria à infecção por *S. mansoni* de São José dos Campos, no Vale do rio Paraíba do Sul, e sugeriram a existência, em certas áreas, de uma adaptação fisiológica entre o molusco e a linhagem local do parasito. Nasceu, assim, a constatação da existência de duas linhagens distintas de *S. mansoni* no Brasil: a linhagem BH que tem como hospedeiro intermediário *B. glabrata* de Belo Horizonte e a linhagem SJ cujo hospedeiro intermediário é *B. tenagophila* do Vale do rio Paraíba do Sul em São Paulo.

Magalhães e cols. (1973) constataram que *B. glabrata* de Ourinhos mostrou-se muito suscetível à infecção pela linhagem mineira de Belo Horizonte e pela linhagem paulista de São José dos Campos, obtendo taxas de infecção de 100% dos moluscos.

Carvalho e cols. (1979) estudaram a suscetibilidade de *B. tenagophila* de Itajubá (MG) à infecção pela linhagem LE de *S. mansoni* de Belo Horizonte (MG). Como controle foram utilizadas *B. glabrata* de Belo Horizonte. Pela primeira vez houve a infecção de *B. tenagophila* de Itajubá pela linhagem de *S. mansoni* adaptada a *B. glabrata* de Belo Horizonte.

Dias e cols. (1988) estudaram a suscetibilidade de linhagens de *B. glabrata* a linhagem de *S. mansoni*. Três linhagens do trematódeo oriundas de Porto Rico apresentaram desenvolvimento mais lento e menor índice de infecção em *B. glabrata* brasileira albina BH, quando comparadas com o comportamento de duas linhagens de *S. mansoni* provenientes do Brasil, MAP na 36^a geração e BH. Por outro lado, as linhagens brasileiras do parasito desenvolveram-se bem e infectaram mais de 90% dos exemplares de *B. glabrata* porto-riquenhos. Entre os resultados, ressaltase que as linhagens resistentes a esquistossomicidas, como MAP, poderão ser introduzidas por pacientes em diferentes áreas geográficas como no Brasil e em Porto Rico.

Dias e cols. (1987) detectaram novos ajustes de *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea* a diferentes linhagens de *S. mansoni*, que associadas a correntes migratórias de portadores, contribuem para a expansão da esquistossomose, principalmente para o Sul e Centro-Oeste do Brasil. *B. glabrata* de Minas Gerais se infectou com a linhagem MAP (MG) e com cinco linhagens de São Paulo. A *B. glabrata* de São Paulo mostrou-se suscetível a linhagem MAP com 90% de taxa de infecção e alta mortalidade. *B. straminea* foi suscetível a uma geração da linhagem MAP (somente verificaram-se esporocistos), sendo que a taxa

de mortalidade foi menor nesta espécie de caramujo do que nas outras espécies estudadas. Foi observado que **B. glabrata** de Ourinhos (SP) comportou-se de modo semelhante à população de **B. glabrata** de Minas Gerais, quando submetidas às mesmas linhagens de **S. mansoni**. Figueiredo e cols. (1992) fizeram estudos experimentais sobre a suscetibilidade do molusco **B. tenagophila** a miracídeos da linhagem ITA (Itariri, SP) simpátrica, e destacaram a importância epidemiológica da adaptação parasito-hospedeiro no Vale do rio Ribeira de Iguape.

Zanotti-Magalhães (1987) estudou a relação entre a suscetibilidade do molusco à infecção por **S. mansoni** e a patogenicidade desenvolvida pelo parasito no hospedeiro definitivo. Foram selecionadas para o caráter suscetibilidade, progênies de **B. glabrata** e de **B. tenagophila** obtidas por auto-fecundação dos moluscos que, após a infecção dos miracídeos, respectivamente, das linhagens BH e SJ do trematódeo, apresentaram eliminação de cercárias. Nesse trabalho ficou evidente que na linhagem paulista, quanto maior a suscetibilidade do molusco, maior o número de ovos do parasito eliminados com as fezes do hospedeiro, sendo esse um fator de grande importância epidemiológica.

Cioli e cols. (1989) propõe uma definição que distingue resistência de tolerância. O termo resistência é geralmente definido como a perda de sensibilidade geneticamente transferida em uma população que previamente era sensível a uma dada droga esquistossomicida. Tolerância é a falta de sensibilidade de uma população que não foi previamente testada. Essas diferenças são mais teóricas. Do ponto de vista prático, tolerância e resistência tem o mesmo valor para o clínico. Em termos evolutivos as forças envolvidas como mutação e seleção são também

fenômenos importantes na produção de resistência a uma dada droga, porém nenhum desses fenômenos estão necessariamente relacionados com o uso da droga.

Os primeiros casos de resistência de linhagens de *S. mansoni* à esquistossomicidas no Brasil foram registrados por Katz e cols. (1973), Campos e cols. (1976) e Dias e cols. (1978).

Dias e cols. (1982) estudaram o uso de praziquantel em pacientes com *S. mansoni* previamente tratados com oxamniquine e hycanthone e com falha terapêutica e a suscetibilidade deste verme a agentes esquistossomicidas. Concluíram que o praziquantel era efetivo em pacientes com esquistossomose mansônica ativa. Apesar do tratamento prévio com hycanthone e/ou oxamniquine, progênes sucessivas de duas linhagens humanas de *S. mansoni* eram resistentes à oxamniquine e hycanthone, mas suscetíveis ao niridazole e praziquantel. Também constataram que passagens seriadas dessas linhagens através dos hospedeiros intermediário e definitivo (até a geração F₄) não tinha alterado o comportamento do parasito na presença dessas drogas. *B. glabrata* de São Paulo mostrou-se suscetível à linhagem MAP com 90% de taxa de infecção.

Cioli e cols. (1985) sugeriram que a resistência ao hycanthone está associada com a perda de uma enzima que ativa a droga.

Bruce e cols. (1987) estudaram a resistência às drogas na esquistossomose mansônica, destacando que um importante aspecto com relação a resistência às drogas esquistossomicidas, é o potencial do hospedeiro intermediário em transmitir e disseminar a linhagem resistente do parasito.

Dias e cols. (1988) verificaram que a linhagem BH era altamente suscetível ao hycanthone, oxamniquine, niridazol, praziquantel, oltipraz e amoscanato, e portanto essa linhagem funcionaria como um bom referencial para experiências quimioterapêuticas. Ao contrário, a linhagem MPR-1 (Porto Rico) mostrou-se resistente a oxamniquine sem nunca ter recebido tratamento com essa droga.

Araújo e cols. (1980) estudaram a variação na resposta de sete linhagens de *S. mansoni* aos esquistossomicidas, isoladas de pacientes que se infectaram no Estado de Minas Gerais. Notaram diferenças significativas ao tratamento com hycanthone, oxamniquine e niridazole, em camundongos. Assim, dentro de uma mesma área geográfica houve alterações de suscetibilidade às drogas avaliadas.

Gomes e cols. (1993) pesquisaram uma linhagem de *S. mansoni* de Ourinhos (SP), no Vale do rio Paranapanema, e constataram a ocorrência de tolerância ao praziquantel e ao oxamniquine, ressaltando-se que essa tolerância ao praziquantel foi inédita.

Melo (1994) estudando uma linhagem campineira constatou por meio de experimentos quimioterápicos, altos índices de eficácia, demonstrando que essa linhagem era suscetível ao praziquantel e ao oxamniquine.

Dias e cols. (1982) e Dias & Olivier (1985) constataram que a resistência da linhagem MAP permaneceu relativamente estável da primeira a quinta gerações, fato confirmado posteriormente na 24^a geração. Recentemente, Dias &

Gonçalves (1992) verificaram que essa linhagem manteve sua suscetibilidade ao praziquantel e resistência ao oxamniquine na 36^a geração do trematódeo.

Coles e cols. (1987) consideram que o desenvolvimento da resistência em uma população de vermes depende de fatores como percentagem e frequência com que as pessoas são tratadas, dosagem da droga usada e sua eficácia, e movimento da população humana. Drescher e cols. (1993) estudaram a resposta de quatro isolados a agentes esquistossomicidas (hycanthone, niridazole, oxamniquine e praziquantel). Esses isolados vem sendo mantidos em laboratório sem pressão de droga por 20 a 30 gerações. Foi utilizado regime de múltipla dosagem para cada droga e para cada isolado de *S. mansoni* a fim de obter a dose efetiva de 50% (DE50). Todos os isolados foram suscetíveis ao praziquantel. Porém o isolado BH mostrou-se suscetível também às outras três drogas. Houve diferença nas respostas das linhagens MPR-1 e MAP. O primeiro mostrou-se resistente ao oxamniquine e o segundo, resistente ao hycanthone e ao oxamniquine. O isolado K mostrou ser resistente para o niridazole. Esse estudo demonstrou que a resistência nesses três isolados foi estável durante um longo período de tempo sem exposição às drogas.

Pelos resultados acima referidos notou-se que a linhagem MAP se manteve estável em relação a sua resistência ao oxamniquine de acordo com o último estudo feito na 36^a geração. Sabe-se que a suscetibilidade do parasita aos esquistossomicidas varia de acordo com a espécie, sexo, estágio de desenvolvimento ou origem do parasito, e que os machos de *S. mansoni* são mais sensíveis que as fêmeas ao oxamniquine. Assim sendo, conclui-se que a grande

variação na suscetibilidade de *S. mansoni* indica que o parasito possui ampla capacidade de desenvolver resistência à drogas (Rollinson & Southgate, 1987).

Kinotti (1987) estudou a enorme variação na suscetibilidade encontrada no parasito, mostrando que *S. mansoni* possui uma ampla capacidade de desenvolver resistência a doses terapêuticas de oxamniquine. Concluiu que quando o parasito fosse exposto a alta pressão da droga tornar-se-ia resistente a ela.

A pressão que uma droga exerce por meio de seguidos tratamentos em massa, como ocorreu no Brasil, poderá levar ao aparecimento de resistência e/ou tolerância ou melhor, ao estabelecimento desta (Katz e cols., 1973, Dias e cols., 1978). Mecanismos genéticos estão relacionados com a resistência ou tolerância à drogas. Estudos desses mecanismos facilitarão o desenvolvimento de métodos para a detecção e predição de resistência às drogas em populações de parasitos, sendo isso de relevante importância nos programas de tratamento em massa (Brindley e cols., 1989). Desta forma, torna-se importante então, manter constantes as pesquisas de suscetibilidade de diferentes linhagens do verme às drogas, bem como estudar seu modo de ação, os mecanismos genéticos e pesquisas de novos esquistossomicidas (Penido, 1994, Brindley e cols., 1989, Dias Neto e cols., 1993, Pica-Mattocia & Cioli, 1985, Cioli e cols., 1985, Cioli e cols., 1989).

O Brasil não é o único país que enfrenta esse tipo de problema. No Quênia encontrou-se *S. mansoni* tolerante ao oxamniquine em população normal de vermes (Coles e cols., 1987). Em virtude disso, sugere-se que o uso de oxamniquine possa produzir problemas de resistência à droga.

Jansma e cols. (1977) induziram resistência de *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, vinte gerações consecutivas.

Constatou-se que o desenvolvimento de resistência foi acompanhado por alteração do genoma e essa alteração resultaria mais na indução de resistência do que na seleção de vermes resistentes ao hycanthone (Brindley e cols., 1989). O uso da sonda do RNA ribossômico, por ser um gene repetitivo, serve para estudos sobre polimorfismo, sendo útil na associação da variação genômica com a resistência às drogas (Brindley e cols., 1989).

Estudos bioquímicos e genéticos (Cioli e cols., 1985; Coles e cols., 1987; Pica-Mattocia e cols., 1989) tem demonstrado os seguintes aspectos: a ação do hycanthone é acompanhada da inibição de síntese de ácidos nucleicos do parasito; essa inibição é irreversível na linhagem sensível, sendo transitória na linhagem resistente; o hycanthone é presumivelmente ativado no parasito mediante transformação em um éster reativo que dissociando-se espontaneamente atua como agente alquilante; a resistência ao hycanthone pode, portanto, ser devida à falta da atividade enzimática capaz de esterificar o hycanthone. De acordo com essa hipótese, a resistência é um caráter recessivo, isto é, os híbridos F_1 descendentes do cruzamento entre linhagens homozigotas sensível e recessiva, são todos sensíveis.

O mecanismo de ação da oxamniquine é análogo aquele observado no hycanthone e as mesmas conclusões podem ser utilizadas para interpretar a resistência a esse medicamento (Pica-Mattocia e cols., 1991).

É interessante ressaltar que Shaw & Erasmus (1983) utilizaram, em animal, a associação de oxamniquine com praziquantel no tratamento da esquistossomose, com a finalidade de evitar o aparecimento de tolerância ou resistência.

Vários estudos já demonstraram a existência de diferenças na infectividade, patogenicidade e morfologia entre linhagens de *S. mansoni* de diferentes áreas geográficas e hospedeiros definitivos. (Saoud, 1966; Warren, 1967; Magalhães & Carvalho, 1969, 1973a, 1973b, 1976; Anderson & Cheever, 1972; Magalhães e cols., 1975; Paraense & Corrêa, 1981; Zanotti e cols., 1983; Carvalho e cols., 1986; Zanotti-Magalhães, 1987; Coelho e cols., 1989).

Saoud (1966) mostrou não haver relação entre a virulência e a carga parasitária e que a distribuição dos ovos nos tecidos era influenciada tanto pela linhagem do parasito quanto pela espécie hospedeira. Estas observações foram feitas em estudos sobre infectividade e patogenicidade de linhagens de *S. mansoni* do Egito, Porto Rico, Tanzânia e do Laboratório Wellcome. O autor comentou que a linhagem isolada originalmente do Egito, mantida em laboratório por 19 anos em *B. glabrata*, mostrou-se bem distinta da linhagem do Egito isolada mais recentemente (5 anos) e mantida na espécie hospedeira original (*B. alexandrina*). O referido autor sugeriu que este grau de seleção produzido em laboratório poderia ocorrer na natureza, quando o parasito encontrar um novo hospedeiro intermediário.

As linhagens BH e SJ foram avaliadas por Magalhães & Carvalho (1969, 1973a), pela capacidade de penetração de cercárias e recuperação de vermes adultos. Os autores verificaram que, em média, as cercárias da linhagem BH apresentaram maior poder de penetração pela cauda do camundongo do que as provenientes da linhagem SJ e que, não diferiram no índice de recuperação dos vermes adultos.

Estudos parasitológicos e anatomopatológicos, desenvolvidos por Magalhães e cols. (1975), demonstraram maior capacidade patogênica da linhagem BH em relação a SJ.

A patogenicidade das linhagens BH e SJ relacionada a suscetibilidade do molusco à infecção esquistossomótica, foi estudada por Zanotti-Magalhães (1987). A autora verificou menor capacidade de penetração de cercárias da linhagem BH; na linhagem SJ o maior número de vermes desenvolvidos eram provenientes de moluscos mais suscetíveis. Observou ainda que, a maior suscetibilidade dos moluscos corresponde, em camundongos, a um maior número de reações granulomatosas nos tecidos e a uma diminuição nos valores dos pesos corporais, dos órgãos e dos diâmetros dos granulomas. A autora evidenciou que, na linhagem paulista (SJ), quanto maior a suscetibilidade do molusco, maior o número de ovos eliminados nas fezes do hospedeiro definitivo, salientando a importância epidemiológica deste fato.

Diferenças morfológicas entre as duas linhagens (BH e SJ), foram demonstradas por Magalhães & Carvalho (1973b) e por Paraense & Corrêa (1981). Estes últimos autores concluíram que BH e SJ são duas raças biológicas distintas de

S. mansoni, após estudos de cruzamentos, morfologia dos vermes e tamanho de ovos destas duas linhagens.

Apesar de muitos estudos já terem sido realizados sobre patogenicidade, pouco se sabe a respeito da linhagem MAP em relação a sua biologia e morfologia. Portanto, o presente estudo foi realizado com a linhagem MAP destacando a sua patogenicidade e as suas características morfológicas. Ressaltou-se que essa linhagem é utilizada como referência em vários laboratórios de pesquisa no Brasil e no exterior.

2 - OBJETIVOS

O objetivo do trabalho foi caracterizar biológica e morfológicamente a linhagem mineira MAP de *S. mansoni* (41ª geração), avaliando-se os seguintes parâmetros:

- * suscetibilidade do hospedeiro intermediário (*B. glabrata*).
- * suscetibilidade do hospedeiro definitivo (camundongos Swiss).
 - capacidade de penetração das cercárias.
 - peso do fígado e do baço.
 - diâmetro dos granulomas hepáticos.
 - oograma.
 - morfometria dos vermes adultos e ovos.
- * reavaliação da suscetibilidade da linhagem às drogas esquistossomicidas.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - LINHAGEM DE *Schistosoma mansoni*

Foi utilizada a linhagem MAP de *S. mansoni* isolada por Dias e cols. (1978) a partir de miracídios obtidos dos ovos eliminados nas fezes do doente infectado no Estado de Minas Gerais, anteriormente tratado com hycanthone e oxamniquine.

A linhagem MAP é mantida no Laboratório de Helminologia do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da UNICAMP, utilizando-se *B. glabrata* albina, proveniente de Belo Horizonte e em camundongos Swiss (Figura 1). Esse trabalho foi desenvolvido utilizando-se a 41^a geração.

3.2 - MANUTENÇÃO DE *Biomphalaria glabrata* EM LABORATÓRIO

Para manutenção em laboratório de *B. glabrata* albina de Belo Horizonte, foi utilizado o seguinte esquema: desovas de moluscos foram inicialmente coletadas. Para facilitar a obtenção e coleta das desovas foram usadas peças de

isopor para servirem de substrato aos moluscos. Essas peças foram então transferidas para pequenos aquários de vidro para sua eclosão. Os moluscos jovens transferidos para tanques de Eternit (50 litros) e mantidos em água sem cloro. A alimentação nos tanques era constituída de folhas de alface fresca e ração para rato triturada e suplementada com 10% de carbonato de cálcio (Souza e cols., 1987).

3.3 - ESTUDO DA LINHAGEM MAP DO *Schistosoma mansoni* EM *Biomphalaria glabrata*

3.3.1 - GRUPOS EXPERIMENTAIS DE MOLUSCOS

Para o estudo da suscetibilidade de moluscos, foram formados três grupos de 60 moluscos, com diâmetros entre 5 a 8mm.

Grupo M-1: 60 moluscos expostos a 1 miracídio.

Grupo M-2: 60 moluscos expostos a 10 miracídios.

Grupo M-3: 60 moluscos não expostos a infecção (controle).

3.3.2 - OBTENÇÃO DE MIRACÍDIOS

Fezes de camundongos não tratados para esquistossomose foram homogeneizadas com salina 0,85% a 10°C e filtradas em gaze. Esse filtrado foi

coado em quatro peneiras de malha de 125, 105, 88 e 37µm, sucessivamente, lavando-se com salina 0,85% a 10°C. O sedimento obtido na peneira de malha mais fina foi transferido para uma placa de Petri com salina gelada. O sedimento foi resuspenso em água decolorada e exposto à luz artificial e à temperatura de 28°C (Standen, 1952). Os miracídios obtidos foram observados e contados através do microscópio estereoscópico.

3.3.3 - INFECÇÃO DOS MOLUSCOS

Exemplares de *B. glabrata* criados em laboratório, medindo entre 5 a 8mm de diâmetro, foram colocados individualmente em frascos contendo 1 e/ou 10 miracídios recém eclodidos.

Os moluscos foram expostos à luz artificial e à temperatura de 28°C durante 3 horas (Pellegrino & Macedo, 1955). Após o período de exposição, os moluscos permaneceram em aquários de vidro e alimentados conforme descrito no item 3.2, para obtenção de cercárias.

3.3.4 - AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DOS MOLUSCOS

Esta avaliação foi feita em todos os grupos experimentais cujos moluscos foram expostos a miracídios de *S. mansoni*.

3.3.5 - EXAME DOS MOLUSCOS

Os moluscos foram examinados, semanalmente, a partir do 21^º ao 77^º dia após a infecção. O grupo controle (M-3) foi submetido às mesmas condições que os dos grupos M-1 e M-2. Os moluscos foram examinados, individualmente, para observar a presença de cercárias, usando-se pequenos frascos de vidro com água decolorada. Após exposição à luz e temperatura de 28^º C durante 2 horas, a presença de cercárias foi detectada através de um microscópio estereoscópico (Olivier & Stirewalt, 1952).

3.3.6 - MORTALIDADE DE MOLUSCOS

Após 77 dias de infecção aqueles moluscos que eliminavam cercárias foram mantidos em observação, sendo examinados semanalmente, com finalidade de se detectar o término da liberação das larvas.

A mortalidade de moluscos expostos à infecção e a do grupo controle foi registrada diariamente, durante 77 dias após a infecção.

3.4 - GRUPOS EXPERIMENTAIS DE CAMUNDONGOS

Foram utilizados apenas camundongos fêmeas, registrando-se seus respectivos pesos corporais, no início do tratamento e antes da perfusão.

Foram constituídos três grupos distintos: infectados tratados; infectados não tratados (controle) e controle sadio.

Grupo C-1 (grupo O): 20 camundongos foram infectados pela cauda com 70 cercárias e tratados com oxamniquine.

Grupo C-2 (grupo P): 20 camundongos foram infectados pela cauda com 70 cercárias e tratados com praziquantel.

Grupo C-3 (grupo C): 20 camundongos foram infectados pela cauda com 70 cercárias e não receberam tratamento. Esse grupo constituiu-se no grupo controle infectado.

Grupo C-4 (grupo S): 20 camundongos não infectados que constituíram o grupo controle sadio.

Paralelamente foram formados outros grupos com a finalidade de manter o estoque da linhagem, caso ocorressem imprevistos no desenvolvimento do trabalho.

3.4.1 - SORTEIO DOS TRATAMENTOS PARA OS CAMUNDONGOS

Os camundongos dos grupos C-1, C-2 e C-3 foram submetidos a sorteio.

O método de aleatorização usado para aplicação dos 3 tratamentos (C-1, C-2 e C-3) teve como objetivos: evitar o uso de julgamento pré-concebido ou arranjos sistemáticos; garantir um número de camundongos para cada tratamento e prover uma base para posterior análise estatística. Este método, de blocos permutados aleatoriamente, é descrito abaixo:

Para 3 tratamentos (blocos de 3 camundongos), foram selecionadas as seguintes combinações:

A B C para dígito 1

A C B para dígito 2

B A C para dígito 3

B C A para dígito 4

C A B para dígito 5

C B A para dígito 6

Ignorando os dígitos 0, 7, 8 e 9.

Os números foram obtidos, usando-se a tabela de números aleatórios e assinalados cada um a combinação de letras correspondente.

Desta maneira, uma lista aleatória de tratamentos foi gerada usando-se os dígitos de 1 a 6, um dígito para cada 3 tratamentos (Pocock, 1986).

3.4.2 - INFECÇÃO DE CAMUNDONGOS

A infecção dos camundongos foi feita utilizando-se a técnica de imersão da cauda do animal em suspensão contendo 70 cercárias/animal, durante 2 horas de exposição à luz artificial e à temperatura de 28°C (Olivier & Stirewalt, 1952). As cercárias foram obtidas a partir de moluscos infectados no laboratório. Nesse caso, foram utilizados, no mínimo, 40 moluscos positivos, a fim de se conseguir uma infecção com equilíbrio no sexo dos vermes (Pellegrino & Katz, 1970) (figura 1).

Os animais foram imobilizados segundo a técnica descrita por Broome & Radke (1971) e adaptada por Figueiredo (1991). Foram utilizados camundongos da linhagem Swiss, fêmeas, com peso corporal médio de 24g, fornecidos pelo Centro Multi-Institucional de Bioterismo (CEMIB) da UNICAMP.

3.4.3 - CAPACIDADE DE PENETRAÇÃO DE CERCÁRIAS

A capacidade de penetração de cercárias foi avaliada pela contagem de cercárias inteiras sobrenadantes e pela sua porção cefálica, após exposição de todos os grupos de camundongos à luz artificial e à temperatura de 28°C (Magalhães, 1969). O número de cercárias penetrantes foi dado pela diferença de cercárias a que cada camundongo foi exposto e o número obtido na contagem de cercárias sobrenadantes.

3.4.4 - PERCENTAGEM DE RECUPERAÇÃO DE VERMES

A recuperação de vermes foi verificada, mediante a contagem de vermes recolhidos na perfusão do sistema porta-hepático dos camundongos infectados, não tratados (grupo C-3).

A percentagem de recuperação foi calculada a partir do número de cercárias penetrantes por camundongo.

3.4.5 - MORTALIDADE DOS CAMUNDONGOS

A mortalidade dos camundongos foi anotada diariamente, durante 10 semanas após a infecção, quando foram então sacrificados. A mortalidade foi avaliada em todos os grupos de camundongos.

3.4.6 - TRATAMENTO DOS CAMUNDONGOS COM DROGAS ESQUISTOSSOMICIDAS

Os animais foram pesados após 55 dias de infecção e as drogas foram administradas oralmente por tubagem gástrica, nas seguintes dosagens:

Grupo C-1 - Oxamniquine: dose única de 100 mg/kg (mansil xarope diluído em água destilada).

Grupo C-2 - Praziquantel: dose de 100 mg/kg/ 5 dias (praziquantel diluído em solução aquosa contendo 25% de glicerina e 1% de cremophor) (Coles e cols., 1986).

Grupo C-3 - Controle: dose de 0,3 ml de água destilada.

O intervalo entre o término do tratamento e a perfusão foi de 15 dias.

3.4.7 - PERFUSÃO DOS CAMUNDONGOS E COLETA DOS VERMES

Os camundongos de todos os grupos foram sacrificados na décima semana de infecção por deslocamento cervical e submetidos à perfusão do sistema porta-hepático (Yolles e cols., 1947). Após a perfusão e extração dos vermes do fígado por esmagamento (Hill, 1956), eles foram contados e classificados segundo a localização, sexo e vitalidade.

3.4.8 - MORFOLOGIA DOS VERMES

Os vermes coletados de camundongos não tratados (grupo C-3) foram fixados em álcool 70%, para posterior coloração (Schell, 1969). A coloração utilizada foi o carmim clorídrico e os vermes foram montados, em lâminas, com bálsamo do Canadá.

Foram medidos os comprimentos de 100 machos e 100 fêmeas. As medições foram feitas utilizando-se um microscópio com câmara clara, mesa

digitalizadora acoplada ao microcomputador e programação idealizada pelo Prof. Eduardo Buzatto, do Departamento de Computação do Instituto de Matemática, Estatística e Ciência da Computação da UNICAMP.

3.4.9 - AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DO VERME ÀS DROGAS ESQUISTOSSOMICIDAS

A avaliação da suscetibilidade dos grupos tratados com drogas esquistossomicidas obedeceu aos seguintes critérios:

- * Percentagem de vermes no fígado e mesentério.
- * Percentagem de vermes acasalados.
- * Percentagem de vermes mortos no fígado.
- * Percentagem de animais com alteração de oograma (Pellegrino & Katz, 1968).
- * Percentagem de vermes sobreviventes (Jansma e cols., 1977).

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

T = número médio de vermes vivos no grupo teste.

C = número médio de vermes vivos no grupo controle.

* Percentagem de redução de vermes (Gonnert & Andrews, 1977).

$$\% \text{ de redução de vermes} = \frac{100 \times \text{número de vermes mortos}}{\text{número de vermes mortos e vivos}}$$

* Percentagem de eficácia ou proteção relativa (Kemp e cols., 1956).

$$\% \text{ de eficácia} = \frac{X - Y}{X} \times 100 \quad \text{onde:}$$

X = número médio de vermes vivos no grupo controle.

Y = número médio de vermes vivos no grupo teste.

3.4.10 - OOGRAMA

O estudo do oograma qualitativo foi realizado em fragmentos do intestino delgado em animais do grupo infectado não tratado (C-3). Foram observados cerca de 300 ovos por animal (Pellegrino & Katz, 1968).

3.4.11 - VERIFICAÇÃO DO PESO CORPORAL DO FÍGADO E DO BAÇO

Os camundongos dos grupos C-1; C-2; C-3 e C-4 foram pesados em balança semi-analítica, no dia da infecção, na vigência do tratamento e do sacrifício.

As pesagens do fígado e do baço dos animais nos grupos C-3 e C-4 foram efetuadas após a perfusão, utilizando-se balança semi-analítica.

3.4.12 - VERIFICAÇÃO DAS DIMENSÕES DOS GRANULOMAS HEPÁTICOS

Uma pequena porção do lobo anterior do fígado foi fixado em Bouin aquoso, incluído em parafina, processado em cortes de 5µm de espessura e corado com Hematoxilina-Eosina (HE). Para cada fragmento de fígado, foram montadas 6 lâminas com 4 a 10 cortes seriados em cada lâmina. O intervalo de cada corte foi de 400µm para cada duas lâminas seriadas (Guaraldo, 1987).

O tamanho do granuloma foi dado pela média de dois diâmetros intercruzados em ângulo reto (Carvalho e cols., 1986; Zanotti-Magalhães, 1987; Guaraldo, 1987; Coelho, 1989). Optou-se, também, em fornecer a área do granuloma utilizando-se o produto de dois diâmetros, o maior e o menor.

3.4.13 - MEDIDAS DOS OVOS DE *Schistosoma mansoni*

As fezes dos camundongos do grupo C-3 (controle infectado) com 45 a 50 dias de infecção (antes do tratamento) foram submetidas ao método de sedimentação espontânea (Lutz, 1893) para a obtenção de ovos.

O material obtido foi suspenso em solução salina 0,85% e observado em microscópio com aumento de 320x.

As dimensões dos ovos (comprimento e largura) foram medidas em ocular micrométrica Zeiss. Foram medidos 120 ovos desse grupo de camundongos (Figueiredo, 1991), considerando-se apenas aqueles com espículo visível no plano horizontal.

3.4.14 - ANÁLISE ESTATÍSTICA.

Os procedimentos estatísticos foram baseados em Snedecor & Cochran (1989), a análise de regressão em Draper & Smith (1981) e na análise dos resultados, utilizamos o sistema SAS[®] versão 6.04 (1986) para leitura e processamento. O procedimento UNIVARIATE, produto SAS/BASE foi utilizado para cálculo das estatísticas sumárias e os gráficos foram feitos utilizando os procedimentos SHEWART e CAPABILITY do produto SAS/QC (1986). Todas as análises de variância foram realizadas ao nível de 0,0001 e os testes de comparações múltiplas de Duncan a 0,05.

O "box-plot" (diagrama de caixa) é um gráfico simples que fornece uma grande quantidade de informações sobre características de um conjunto de dados. Diagramas de caixas descrevem a massa dos dados por um retângulo (caixa) cujos limites inferior e superior são, respectivamente, o primeiro (Q1) e o terceiro (Q3) quartis. A mediana (Q2), 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 e

superior. O valor adjacente superior é a maior observação que é menor ou igual a $Q3 + 1,5 (Q3 - Q1)$. O valor adjacente inferior é a menor observação que é maior ou igual a $Q1 - 1,5 (Q3 - Q1)$.

Quaisquer valores que caiam fora dos valores adjacentes são destacados separadamente sobre o gráfico (com um símbolo $\square$), pois identificam observações discrepantes ("outliers"). As posições relativas dos quartis $Q1$, $Q2$ e $Q3$, bem como as observações discrepantes, dão uma idéia da assimetria da distribuição.

O sistema SAS[®] versão 6.04 (1986) foi utilizado para leitura e processamento dos dados referentes às realizações das variáveis mencionadas anteriormente. Usou-se o procedimento UNIVARIATE para o cálculo das estatísticas sumárias contidas nas tabelas. Os gráficos foram feitos utilizando os procedimentos GPLOT, TTEST, SHEWART e CAPABILITY.

4 - RESULTADOS

4.1 - SUSCETIBILIDADE DOS MOLUSCOS (*Biomphalaria glabrata*)

Analisando descritivamente os dados da eliminação de cercárias dos moluscos infectados com 1 e 10 miracídios, observamos que os períodos pré-patentes destes dois grupos parecem ser diferentes (Figura 2, Tabela I). O grupo M1 (1 miracídio) começou a eliminar cercárias a partir do 63º dia após a data da infecção (período pré-patente), chegando a obter, durante os 77 dias de observação, índices de positividade de até 21,7%. No grupo M2 (10 miracídios), a eliminação de cercárias ocorreu a partir do 56º dia da infecção. O índice de positividade deste grupo chegou, aproximadamente, a 33%.

O término da liberação de cercárias não foi calculado, pois os moluscos que restaram morreram ao 113º dia de infecção e ainda estavam positivos.

No que diz respeito aos índices de mortalidade dos moluscos, nos grupos M1, M2 e M3, analisamos a significância estatística de suas diferenças, comparando a homogeneidade das distribuições do número de mortes em cada período de observação, para estes três grupos, através da estatística qui-quadrado de Pearson (χ^2). Como ocorreram, em certas semanas, mortalidades iguais a zero ou abaixo de cinco, classificamos as mortalidades semanais em períodos mais longos,

para atender as prioridades do teste χ^2 . Analisamos as mortalidades nos períodos (0 a 42 dias) e (42 a 77 dias) e uma outra categoria representando o número final de sobreviventes. Com o uso do procedimento FREQ, obtivemos um $\chi^2_{(4)} = 3,87$, que dá uma significância 0,424. Portanto, não há evidência de diferenças significativas entre as mortalidades dos três grupos nos períodos de observação. (Figura 3, Tabela I).

Ressalta-se que antes do 21º dia de observação, nos três grupos, não se detectou mortalidade dos moluscos (Tabela I).

4.2 - SUSCETIBILIDADE DOS CAMUNDONGOS SWISS

4.2.1 - CERCÁRIAS PENETRANTES

Os dados resumidos sobre as distribuições do número de cercárias penetrantes, número de vermes recuperados, percentagens de cercárias e de vermes recuperados nos camundongos dos grupos C, O e P, encontram-se nas Figura 4 e Tabelas 1, 2 e 3 do Anexo. Conforme essas informações podemos ver que os números médios de cercárias penetrantes, foram nos grupos C, O e P, 64,4; 63,2 e 66,0, respectivamente. As percentagens médias de cercárias penetrantes foram para estes três grupos, 92,0%; 90,4% e 94,3%, respectivamente. A análise de

variância não rejeita a hipótese de igualdade entre as médias dessas percentagens ($F_{(2,45)}=1,33$) a uma significância de 0,2745. Esta análise foi realizada aplicando-se a transformação:

$$y_{ij} = \arcsen \left(\sqrt{\frac{p_{ij}}{100}} \right)$$

onde p_{ij} é a percentagem de cercárias penetrantes no i-ésimo camundongo do grupo j ($j=C, O$ e P). As percentagens médias de vermes recuperados (Figura 4) foram para os grupos C, O e P, 34,1%; 32,1% e 20,3% (Tabelas 1, 2 e 3 do Anexo).

4.2.2 - PESOS CORPORAIS

Os pesos corporais dos animais de todos os grupos, nas datas da infecção, do tratamento e da perfusão, estão resumidos nas Tabelas 4, 5, 6 e 7 do Anexo. A Figura 5 combina visualmente as informações destas Tabelas para os pesos nas datas da infecção (iniciais) e da perfusão (finais).

Todas as tabelas de análise de variância foram construídas para os testes de igualdade entre as médias dos pesos iniciais. A análise indica evidência de diferença significativa (significância de 0,0046) nas médias dos pesos finais. Com a análise de comparações múltiplas, com um nível de significância de 0,05, constatou-

se que os camundongos sadios são, em média, significativamente mais pesados que os demais.

A Figura 6 exibe os diagramas de caixa para as distribuições do ganho de peso corporal para os animais de todos os grupos entre as datas de infecção e perfusão. O grupo de camundongos infectados tratados com praziquantel obteve um ganho médio de peso de 14,45g; o grupo infectado tratado com oxamniquine 10,87g; o grupo infectado não tratado 11,25g e o grupo de camundongos sadios 14,72g. O teste F da análise de variância dá uma significância inferior a 0,0001, que é uma forte evidência de diferenças entre os ganhos médios de peso corporal. Pela análise de comparações múltiplas pelo teste de Duncan, com um nível de significância de 0,05, verificou-se que o ganho médio de peso dos grupos de camundongos praziquantel e controle sadio não diferem significativamente, assim como os grupos controle infectado e oxamniquine. Mas, há diferença significativa do peso dos camundongos de ambos os grupos praziquantel e controle sadio para os dos grupos controle infectado e oxamniquine, respectivamente (Tabela II).

4.2.3 - PESOS DO FÍGADO E DO BAÇO

Pode-se ver nas Tabelas 8 e 9 do Anexo, estatísticas sumárias referentes aos pesos do fígado e do baço, para os grupos S e C. As Figuras 7 e 8 exibem os diagramas de caixas para as suas distribuições. A análise com base na aproximação de Satterthwaite (que supõe variâncias desiguais, ver Steel & Torrie,

1980) para a estatística t de Student, revela que ambos os casos (significância inferior a 0,0001), tanto o peso médio do fígado (2,68g) quanto do baço (0,41g), dos camundongos do grupo controle infectado, são significativamente mais pesados que os pesos médio do fígado (1,74g) e médio do baço (0,18g) dos camundongos saudáveis, respectivamente.

4.2.4 - DIÂMETRO MÉDIO DOS GRANULOMAS

Para o estudo das dimensões das reações granulomatosas hepáticas, foram medidos 52 diâmetros (μm) maior e menor nos granulomas de camundongos do grupo controle infectado não tratado (C3). O diâmetro médio foi de $268,04\mu\text{m} \pm 84,46$. Como medida para análise, tomamos o produto destes diâmetros, por representar proporcionalmente a área da seção medida nos granulomas. Estes dados encontram-se resumidos na Figura 9. A mediana destes produtos foi de $65.935,98\mu\text{m}^2$, com um desvio interquartilico ($Q3 - Q1$) de $50.305,59\mu\text{m}^2$.

4.3 - ESTUDO MORFOLÓGICO DA LINHAGEM MAP DE *Schistosoma mansoni*

4.3.1 - OVOS

Para o estudo dos ovos de *S. mansoni* foram obtidas 120 medidas (mm) de comprimento e largura destes ovos das fezes de camundongos do grupo controle infectado não tratado (C3). Como medida para análise, tomamos o produto destas duas outras, pelo mesmo motivo comentado na análise das dimensões granulomatosas. Estes dados encontram-se resumidos na Figura 10. A média dos produtos de comprimento e largura foi de $9.537,30 \text{ mm}^2$ com um desvio padrão de $700,57 \text{ mm}^2$.

Foi obtido o valor $64,24\mu\text{m} \pm 2,75$ de largura média e $148,46\mu\text{m} \pm 8,82$ de comprimento.

4.3.2 - VERMES ADULTOS

Para o estudo morfológico dos vermes foram medidos comprimentos (mm) de 96 vermes machos e comprimentos (mm) de 95 vermes fêmeas (Figura 11, Tabela 23 do Anexo). A análise com base na aproximação de Satterthwaite (que supõe variâncias desiguais, ver Steel & Torrie, 1980) para a estatística t de Student

revela uma forte evidência (significância inferior a 0,0001) de diferença significativa entre os comprimentos médios 7,78 mm de machos e 7,03 mm de fêmeas.

4.4 - ESTUDO DA SUSCETIBILIDADE DE *Schistosoma mansoni* ÀS DROGAS ESQUISTOSSOMICIDAS

Para o estudo das drogas esquistossomicidas, devido a mortalidade dos camundongos, foram examinados no grupo controle infectado não tratado (C) 17 animais (3 morreram antes de serem examinados). Nos grupos O e P, os números de animais examinados foram 17 (3 morreram antes do exame) e 15 (5 morreram antes do exame), respectivamente (Tabela 13 do Anexo).

Os dados sobre a distribuição dos vermes coletados classificados por sexo (macho, fêmea e casal) encontram-se reunidos na Tabela IV e nas Tabelas 10, 11 e 12 do Anexo. O número de vermes machos coletados aparenta ser maior nos camundongos do grupo praziquantel que nos grupos controle infectado não tratado e oxamniquine (Figura 12) Nas distribuições dos vermes fêmeas, observa-se, em todos os grupos, um pequeno número de vermes coletados. Os camundongos do grupo oxamniquine obtiveram maiores quantidades destes vermes que os dos demais grupos. Quanto aos vermes coletados como casais, observa-se, descritivamente, que o grupo controle infectado e o grupo oxamniquine não tem diferenças significativas, porém, ambos tem maior quantidade destes vermes que o grupo praziquantel (Tabela III).

Os dados sobre a distribuição dos vermes coletados, classificados por vitalidade (vivos e mortos), encontram-se resumidos nas Tabelas 14, 15 e 16 do Anexo. A Figura 13 exibe os diagramas de caixas destas distribuições. Vemos descritivamente nessa Figura que, quanto aos vermes coletados vivos, não há diferença significativa entre os grupos controle infectado e oxamniquine, porém, ambos diferem do grupo praziquantel que obteve menores quantidades de vermes vivos. Quanto aos vermes mortos, o grupo praziquantel obteve maior quantidade que os outros dois grupos que, por sua vez, não diferem significativamente entre si (Tabela V e Tabela 13 do Anexo)

Os dados referentes à distribuição dos vermes coletados classificados pela localização (fígado e mesentério), encontram-se resumidos na Tabela IV e nas Tabelas 17, 18 e 19 do Anexo. Estes dados são melhor visualizados na Figura 14. Pode-se notar que a quantidade de vermes coletados no fígado dos camundongos do grupo praziquantel é maior que nos do grupo oxamniquine e controle infectado. Estes dois últimos grupos não aparentam ter diferença significativa. Quanto aos vermes coletados no mesentério, observa-se que não há diferença significativa entre os camundongos dos grupos controle infectado e oxamniquine. Porém, estes dois grupos apresentam maior quantidade de vermes no mesentério que o grupo praziquantel.

Quanto às percentagens de vermes coletados no fígado (Tabela V, Figura 15, Tabelas 20, 21 e 22 do Anexo), através do procedimento GLM, constatou-se através da análise de variância que existem diferenças significativas ($F_{(2,43)}=130,78$) entre suas médias, com uma significância inferior a 0,0001.

Aplicando-se o teste de comparações múltiplas de Duncan, verificou-se, a um nível de significância de 0,05, que não há diferença entre as percentagens médias obtidas nos camundongos infectados não tratados e infectados tratados com oxamniquine, porém, ambas são menores, significativamente, que a percentagem média obtida pelos animais infectados tratados com praziquantel. Nestas análises não se considerou as duas observações discrepantes (Figura 15) do grupo praziquantel.

Também foram encontradas diferenças ($F_{(2,39)} = 8,95$) nas percentagens médias de vermes acasalados (Tabela V, Figura 16, Tabelas 20, 21 e 22 do Anexo), com uma significância de 0,0006. Pelo teste de comparações múltiplas de Duncan, com um nível de significância de 0,05, observou-se que as percentagens médias dos camundongos infectados e não tratados e infectados tratados com oxamniquine não são significativamente diferentes, contudo estas diferem da média obtida pelos camundongos infectados e tratados com praziquantel, que é inferior às outras duas. Nestas análises não se considerou, em cada grupo, as observações com percentagens iguais a zero.

Com respeito às percentagens de vermes mortos no fígado (Tabela V, Figura 17, Tabelas 20, 21 e 22 do Anexo) retiraram-se para os três grupos, as observações discrepantes. Os camundongos infectados e não tratados obtiveram percentagens de vermes mortos iguais a zero. Para testar a diferença entre as percentagens médias dos grupos oxamniquine e praziquantel concluiu-se, através do teste t de Student ($t_{(25)} = -15,55$, $p < 0,0001$), que a percentagem média do grupo praziquantel é significativamente superior à do grupo oxamniquine.

Quanto às percentagens de redução de vermes (Tabela V, Figura 18, Tabelas 20, 21 e 22 do Anexo) observou-se que as percentagens dos camundongos infectados, não tratados, são todas iguais a zero, com exceção de uma que é discrepante. Considerou-se, então, o teste somente entre os grupos oxamniquine e praziquantel. A análise com base na aproximação de Satterthwaite (que supõe variâncias desiguais, ver Steel & Torrie, 1980) para o teste t de Student, revela diferença significativa entre a percentagem média destes dois grupos ($t_{(14,9)}=-8,31$, $p<0,0001$), isto é, a percentagem média do grupo praziquantel é significativamente superior à do grupo oxamniquine.

De acordo com os dados da Tabela VI, vemos que todos os animais dos grupos controle infectado e oxamniquine não apresentam o oograma alterado, isto é, uma percentagem de animais com alteração de oograma de 0%. Já nos animais do grupo praziquantel, esta percentagem foi de 100%, isto é, todos os animais apresentaram oograma alterado. As percentagens de vermes sobreviventes foram de 84,2% e 6,0% (Tabela VI) para os grupos oxamniquine e praziquantel, respectivamente. Já a eficácia destes dois grupos foi de 16% e 94%, respectivamente (Tabela VI).

FIGURAS E TABELAS

Tabela I - Suscetibilidade de *Biomphalaria glabrata* infectada com 1 e 10 miracídeos, da geração F₄₁ da cepa MAP de *Schistosoma mansoni*.

Dias de observação após a infecção	MOLUSCOS INFECTADOS										Controle	
	com 10 miracídeos					com 1 miracídio					não infectado	
	vivos		mortos		Eliminaram cercárias	vivos		mortos		Eliminaram cercárias	vivos	
	n	%	n	%		n	%	n	%		n	%
21	57	5,0	0	0,0	0,0	57	5,0	0	0,0	0,0	55	8,3
28	57	5,0	0	0,0	0,0	56	6,7	0	0,0	0,0	55	8,3
35	56	6,7	0	0,0	0,0	55	8,3	0	0,0	0,0	55	8,3
42	51	15,0	0	0,0	0,0	49	18,3	0	0,0	0,0	54	10,0
49	50	16,7	0	0,0	0,0	49	18,3	0	0,0	0,0	52	13,3
56	48	20,0	6	10,0	10,0	49	18,3	0	0,0	0,0	50	16,7
63	47	21,7	7	11,7	11,7	48	20,0	8	13,4	13,4	50	16,7
70	45	25,0	15	25,0	25,0	46	23,3	10	16,7	16,7	48	20,0
77	42	30,0	12	20,0	20,0	45	25,0	8	13,4	13,4	45	25,0

Tabela II - Pesos corporais de camundongos infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*.

Grupos	Número de camundongos	PESO MÉDIO (g)			
		Inicial	Tratamento	Final	Variação
Sadio	17	27,34 ± 2,02	40,22 ± 3,54	42,06 ± 4,25	14,72
Praziquantel	15	24,62 ± 2,44	35,68 ± 4,68	38,72 ± 4,82	14,10
Oxamniquine	16	24,33 ± 3,71	35,98 ± 3,77	35,38 ± 4,83	11,05
Controle	17	24,13 ± 2,99	36,08 ± 3,82	35,49 ± 2,95	11,36

Tabela III - Número de vermes coletados em camundongos dos grupos controle, praziquantel e oxamniquine infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*.

Grupos de camundongos	NÚMERO MÉDIO DE VERMES COLETADOS						
	macho		fêmea		casal		total
	N	%	N	%	N	%	N
Praziquantel	2,33 ± 2,47	30,9	0,20 ± 0,41	2,6	5,00 ± 2,48	66,4	7,53 ± 5,36
Oxamniquine	0,18 ± 0,53	1,9	0,53 ± 1,23	5,6	8,76 ± 6,05	92,5	9,47 ± 7,81
Controle	0,82 ± 1,88	7,4	0,35 ± 1,00	3,2	9,88 ± 6,03	89,4	11,05 ± 8,91

Tabela IV - Distribuição média de vermes coletados em camundongos dos grupos controle, praziquantel e oxamniquine infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*.

Grupo de camundongos	DISTRIBUIÇÃO DE VERMES			
	Fígado		Mesentério	
	N	%	N	%
Praziquantel	11,20 ± 6,11	89,4	1,33 ± 4,10	6,0
Oxamniquine	1,76 ± 1,92	9,7	16,47 ± 11,35	90,3
Controle	1,24 ± 2,49	6,0	19,41 ± 12,25	94,0

Tabela V - Percentagem média de vermes coletados no fígado, acasalados, redução de vermes e vermes mortos no fígado nos grupos de camundongos (praziquantel, oxamniquine e controle) infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*.

Grupo de camundongos	N	PERCENTAGEM DE VERMES			
		coletados no fígado	acasalados	redução	mortos no fígado
Praziquantel	17	78,52 ± 39,89	69,21 ± 31,57	78,99 ± 34,50	80,13 ± 34,76
Oxamniquine	15	9,33 ± 9,49	90,07 ± 24,38	3,80 ± 6,61	22,55 ± 39,50
Controle	17	4,27 ± 6,48	84,51 ± 32,48	0,49 ± 2,02	5,88 ± 24,25

Tabela VI - Avaliação da suscetibilidade de camundongos infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, às drogas esquistossomicidas (praziquantel e oxamniquine).

Grupo de camundongos	Vermes mortos (%)	Alteração de oograma (%)	Vermes sobreviventes (%)	Eficácia (%)
Praziquantel	89,9	100,0	6,0	94,0
Oxamniquine	3,9	0,0	84,2	16,0
Controle	0,6	0,0	-	-

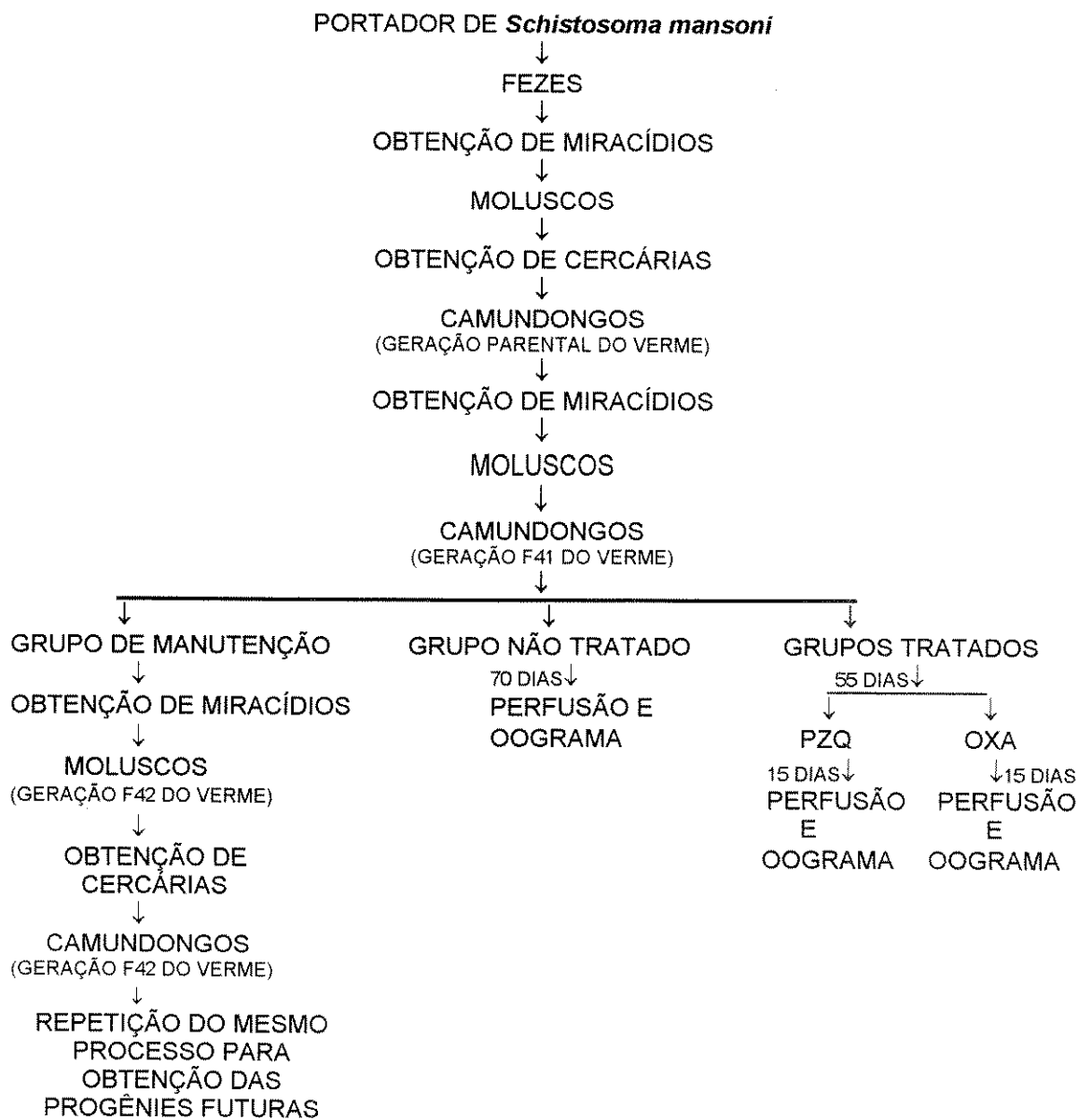


Figura 1 - Modelo experimental para obtenção e estudo da linhagem de *Schistosoma mansoni*.

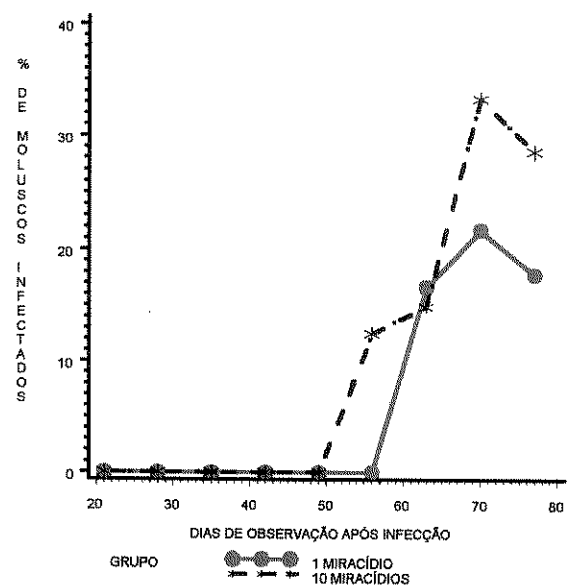


Figura 2 - Cinética da eliminação de cercárias de *Biomphalaria glabrata* infectadas com 1 ou 10 miracídios da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais.

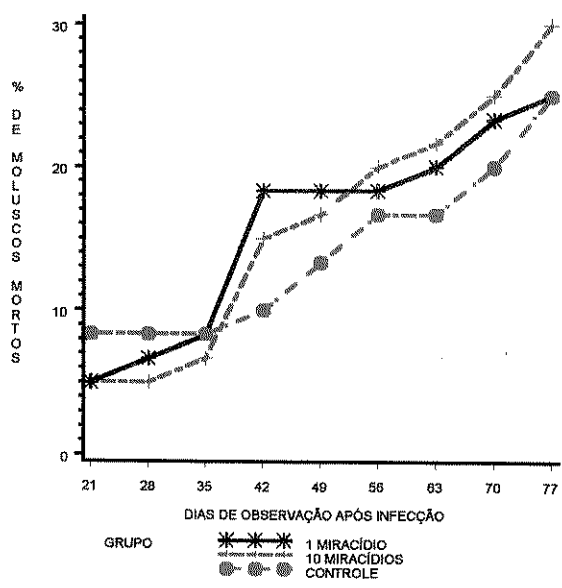


Figura 3 - Mortalidade de *Biomphalaria glabrata* não-infectadas (controle) e infectadas com 1 ou 10 miracídios, da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais.

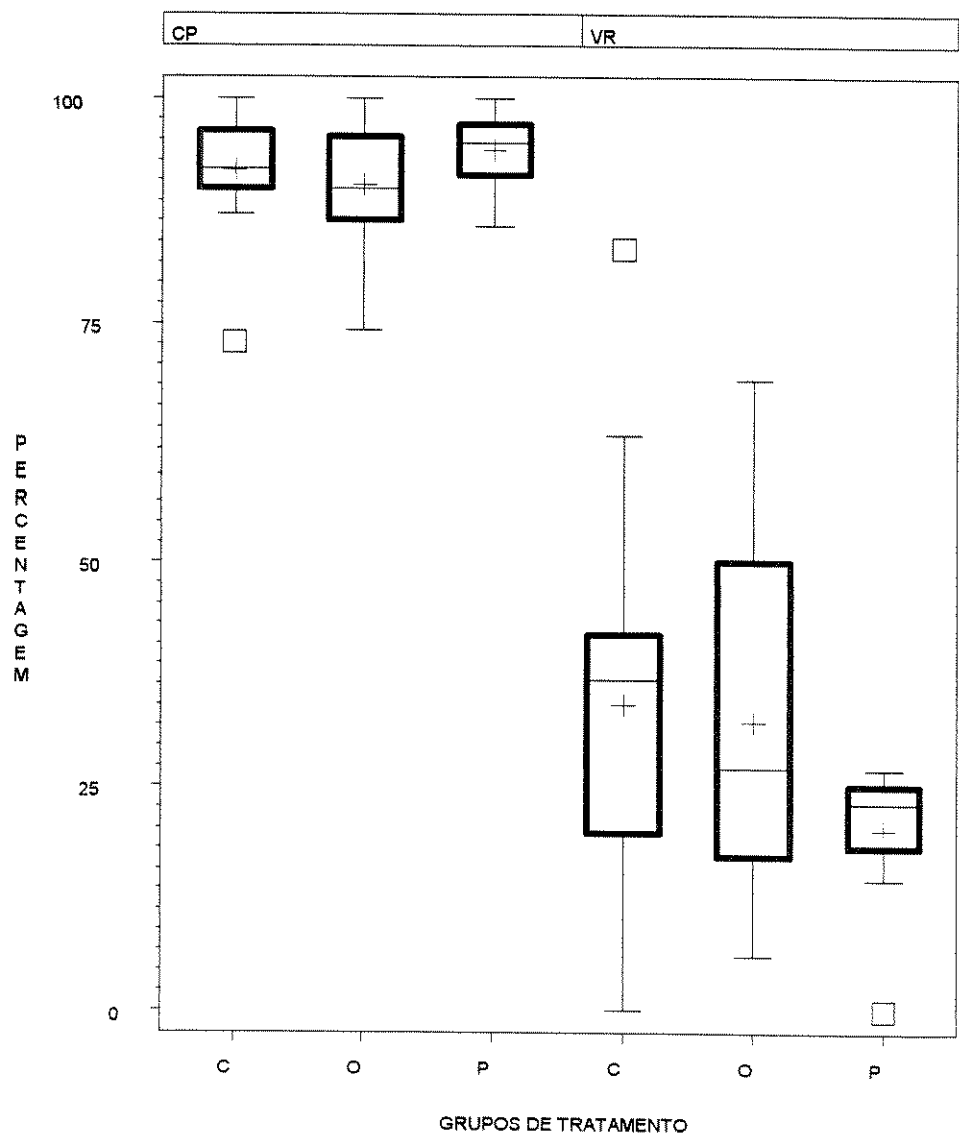


Figura 4 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para as distribuições das percentagens de cercárias penetrantes (CP) e vermes recuperados (VR), dos camundongos do grupo controle (C), infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais e dos grupos tratados com oxamniquine (O) e praziquantel (P).

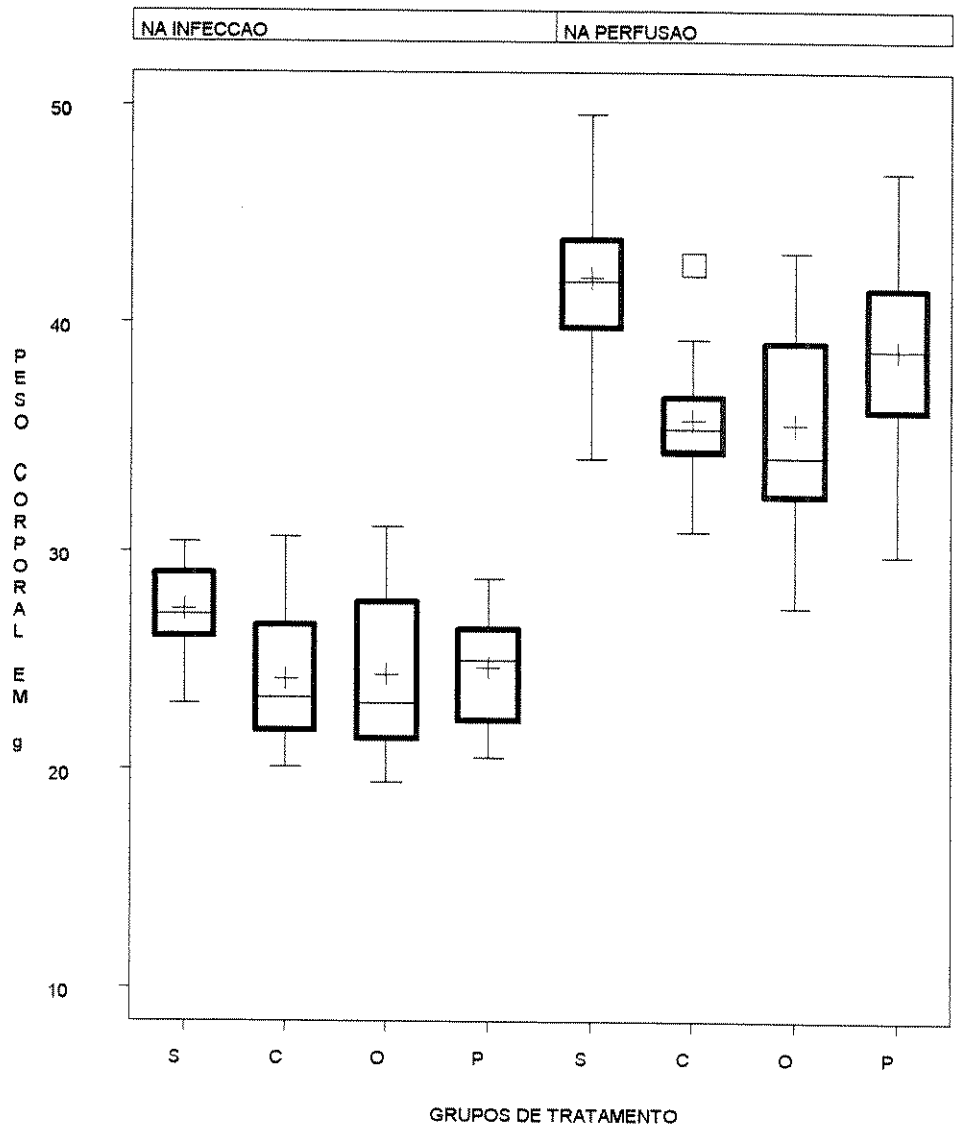


Figura 5 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição dos pesos corporais, nas datas da infecção e perfusão, de camundongos sadios (S) e infectados (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais.

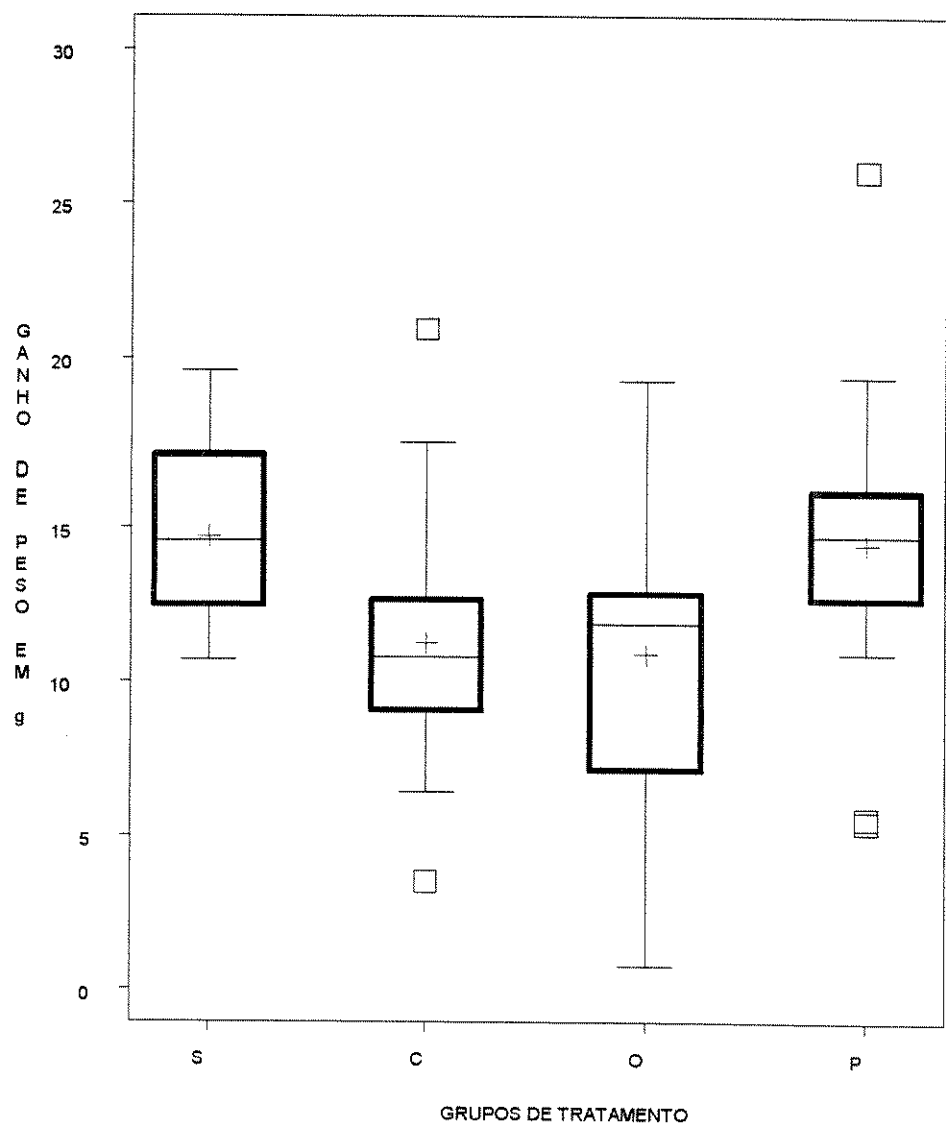


Figura 6 - Diagrama de caixas ("Box-plots") para a distribuição do ganho de peso corporal entre as datas da infecção e perfusão, de camundongos sadios (S) e infectados (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel) com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais.

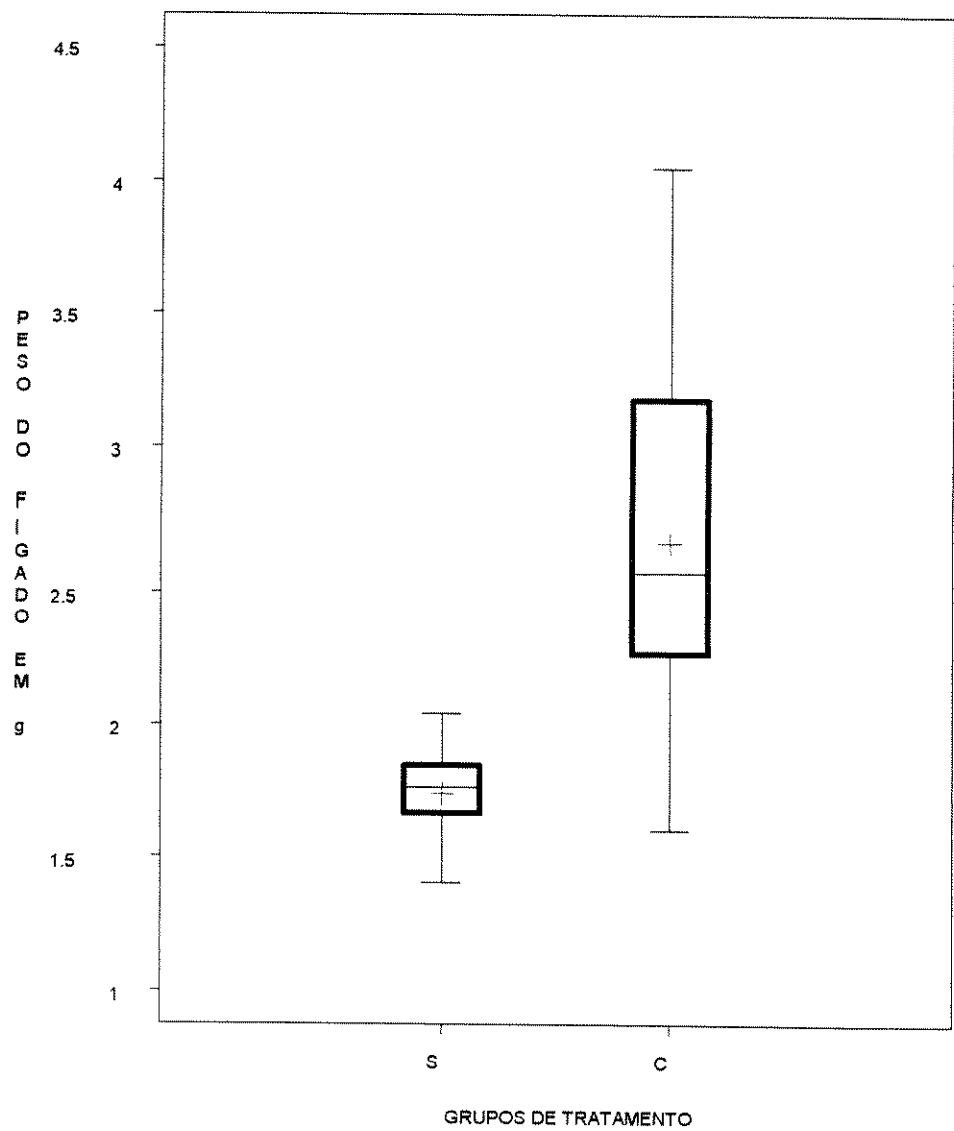


Figura 7 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição do peso do fígado de camundongos sadios (S) e infectados (C - controle infectado não-tratado, S -controle sadio) com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais.

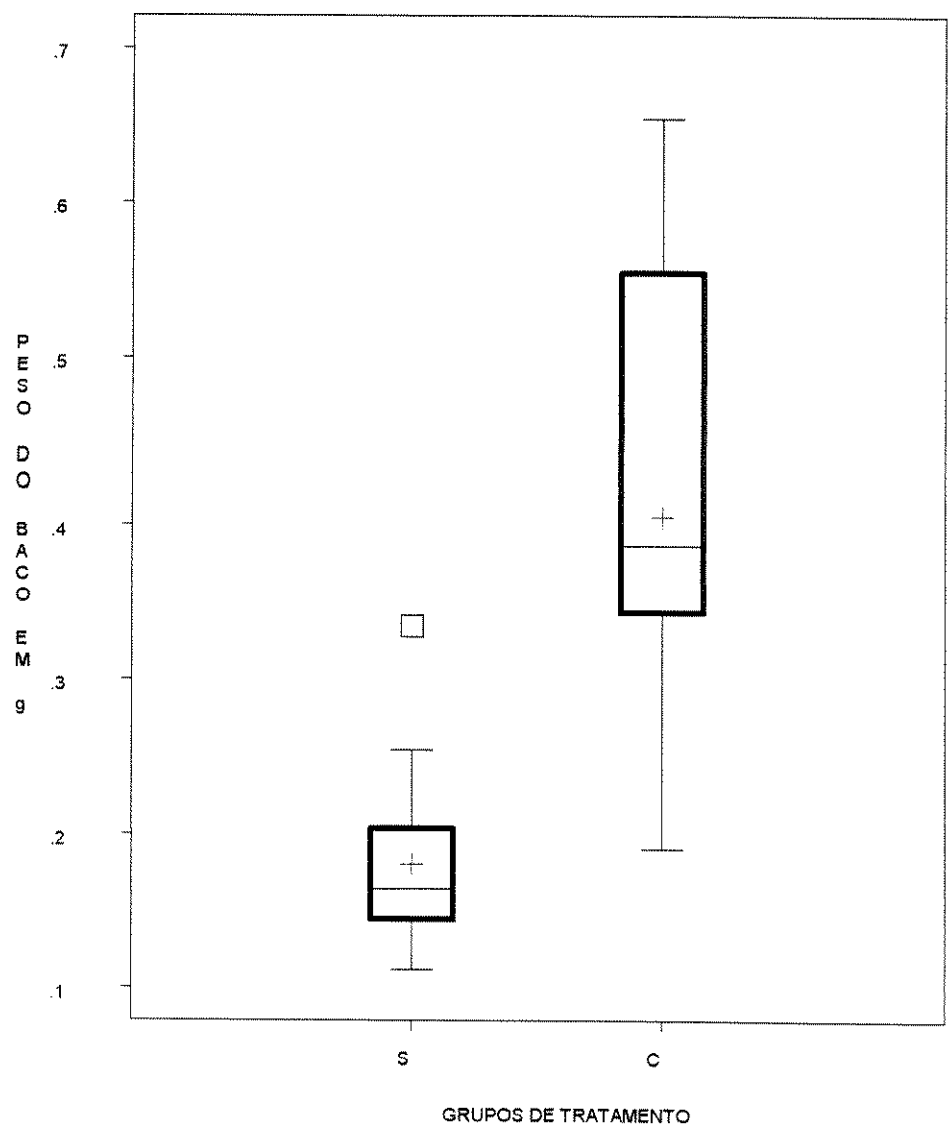


Figura 8 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição do peso do baço de camundongos sadios (S) e infectados (C - controle, S - Controle Sadio) com 70 cercárias da geração F_{41} da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais.

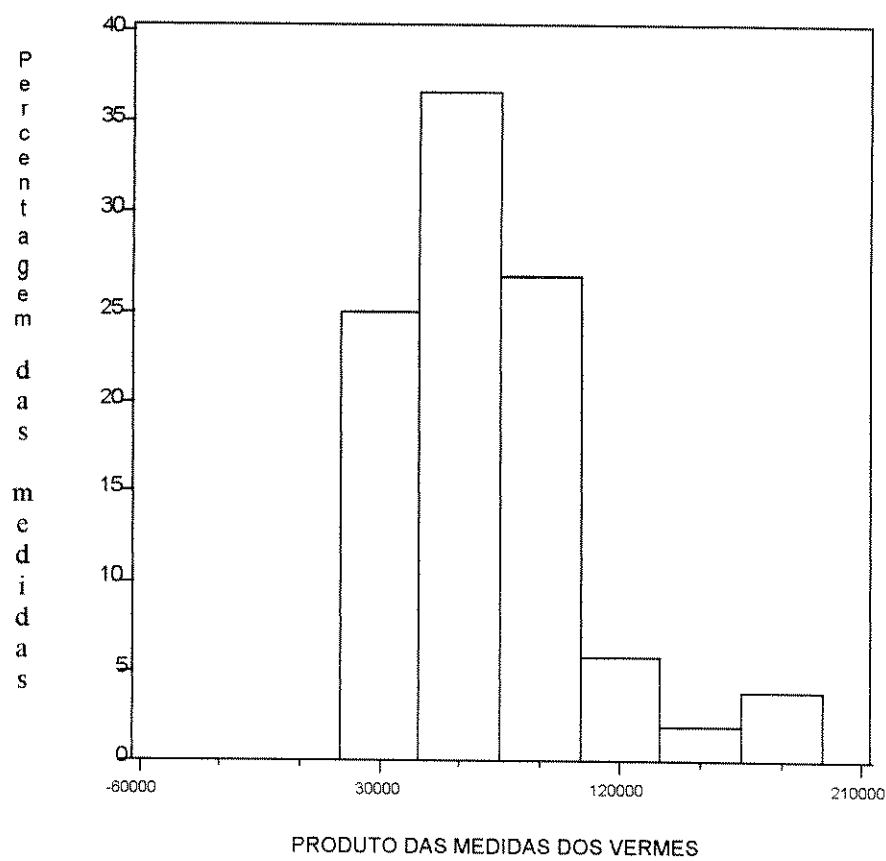


Figura 9 - Distribuição amostral do produto das medidas de comprimento e largura dos granulomas hepáticos de *Schistosoma mansoni* (linhagem MAP isolada de paciente de Minas Gerais) dos camundongos do grupo controle infectado não tratado (C3).

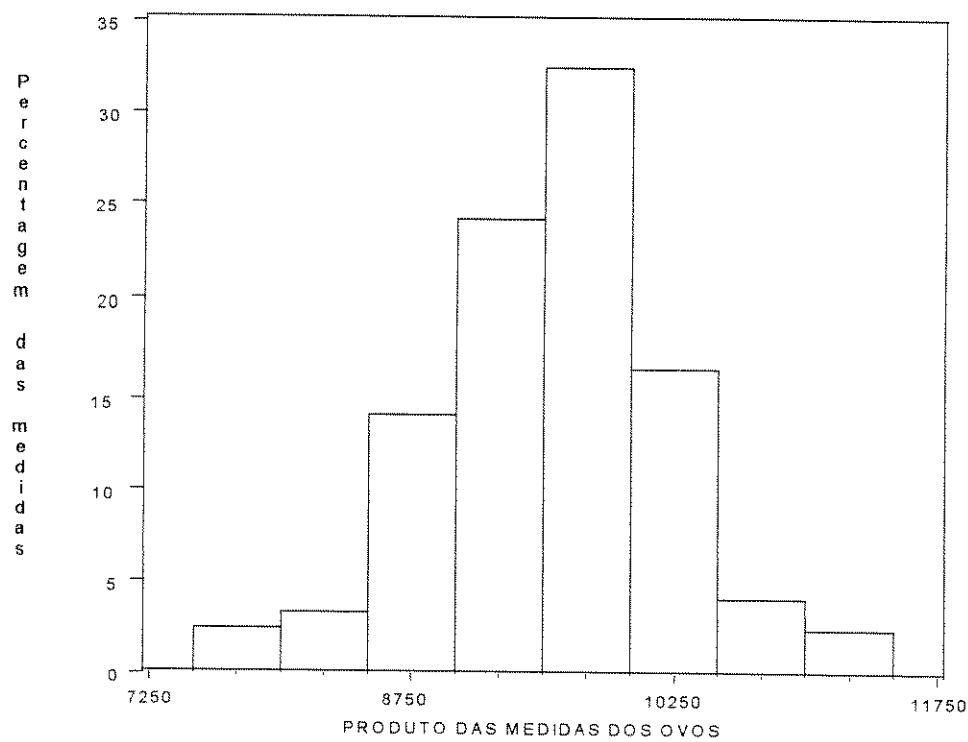


Figura 10 - Distribuição amostral do produto das medidas de comprimento e largura dos ovos de *Schistosoma mansoni* (linhagem MAP isolada de paciente de Minas Gerais) de fezes dos camundongos do grupo controle infectado não tratado (C3).

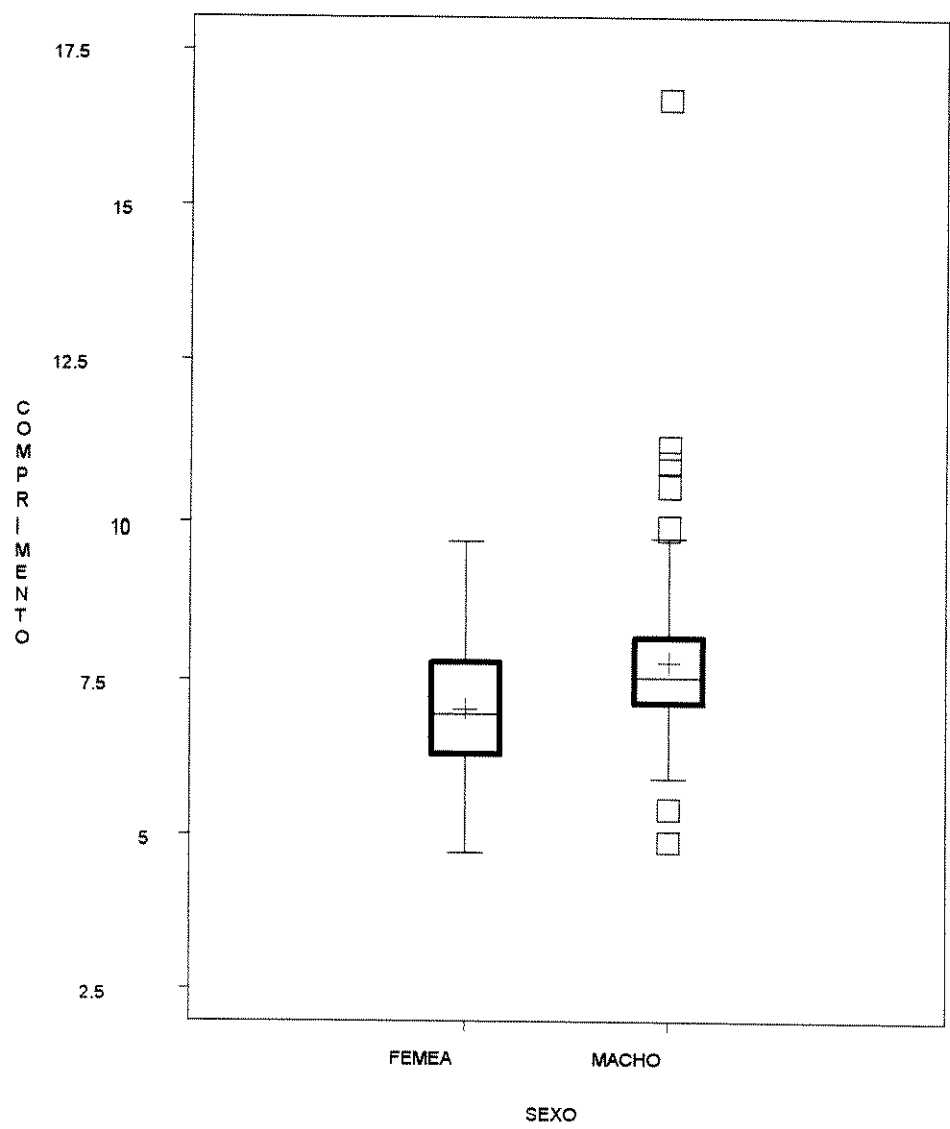


Figura 11 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição dos comprimentos dos vermes machos e fêmeas de *Schistosoma mansoni* (linhagem MAP isolada de paciente de Minas Gerais), dos camundongos do grupo controle infectado não tratado (C3).

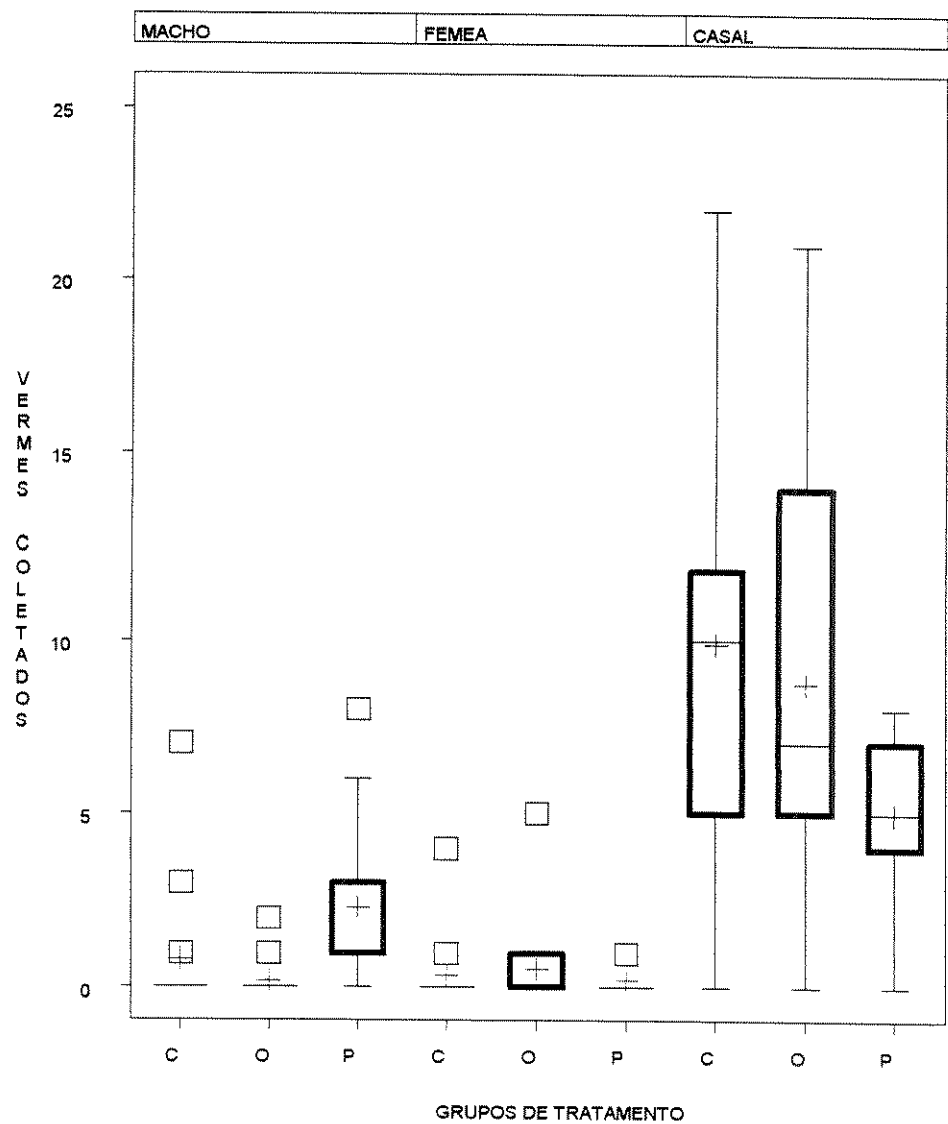


Figura 12 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição por sexo, dos vermes coletados nos camundongos dos grupos (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais.

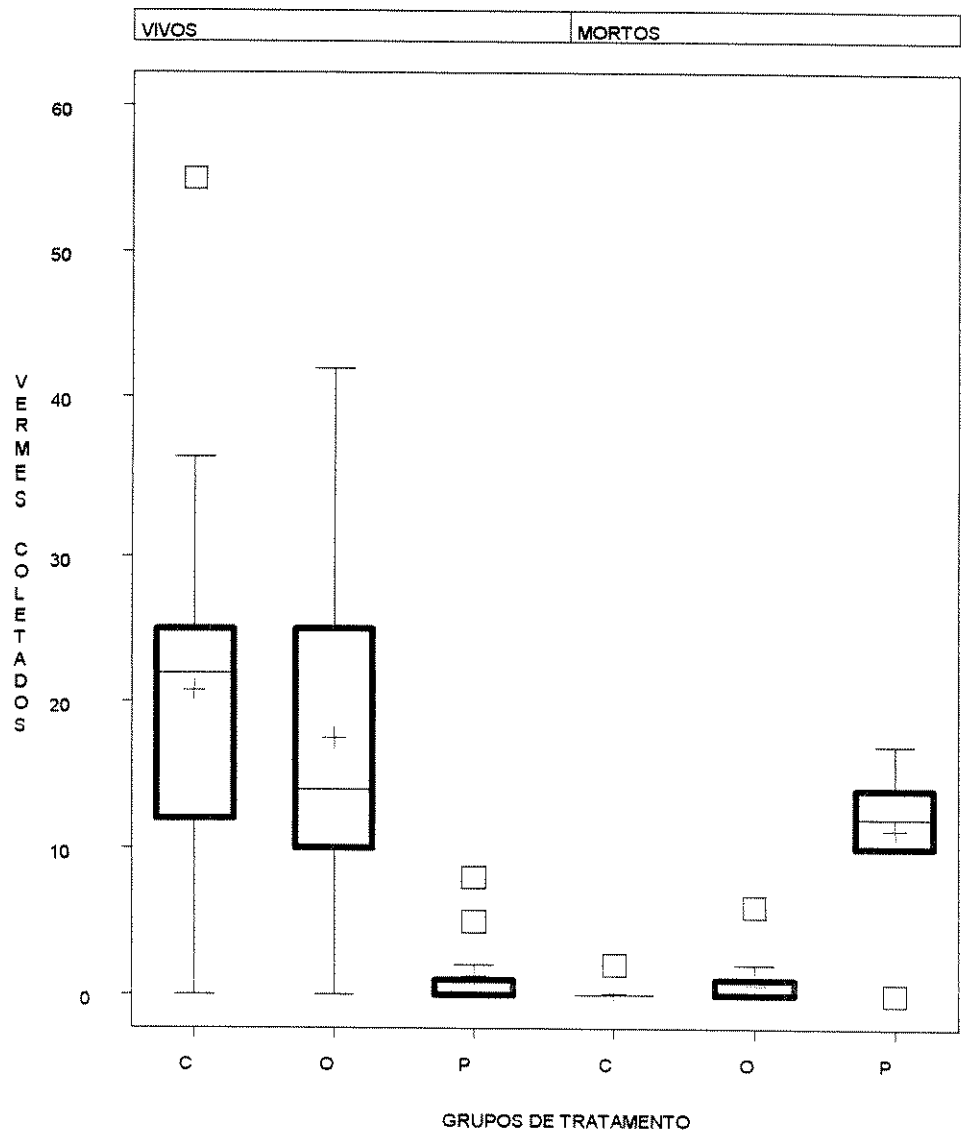


Figura 13 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição por vitalidade, dos vermes coletados nos camundongos dos grupos (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais.

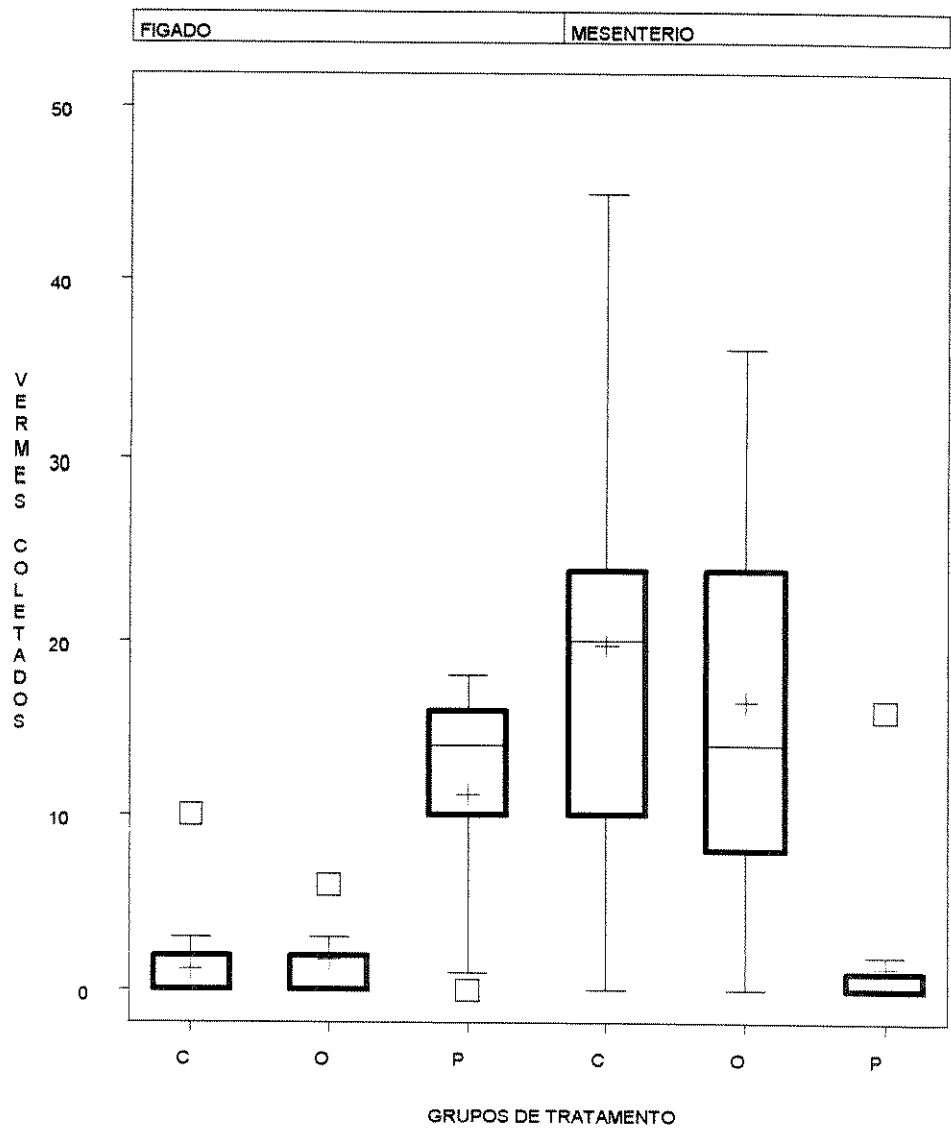


Figura 14 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição, por localização, dos vermes coletados nos camundongos dos grupos (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais.

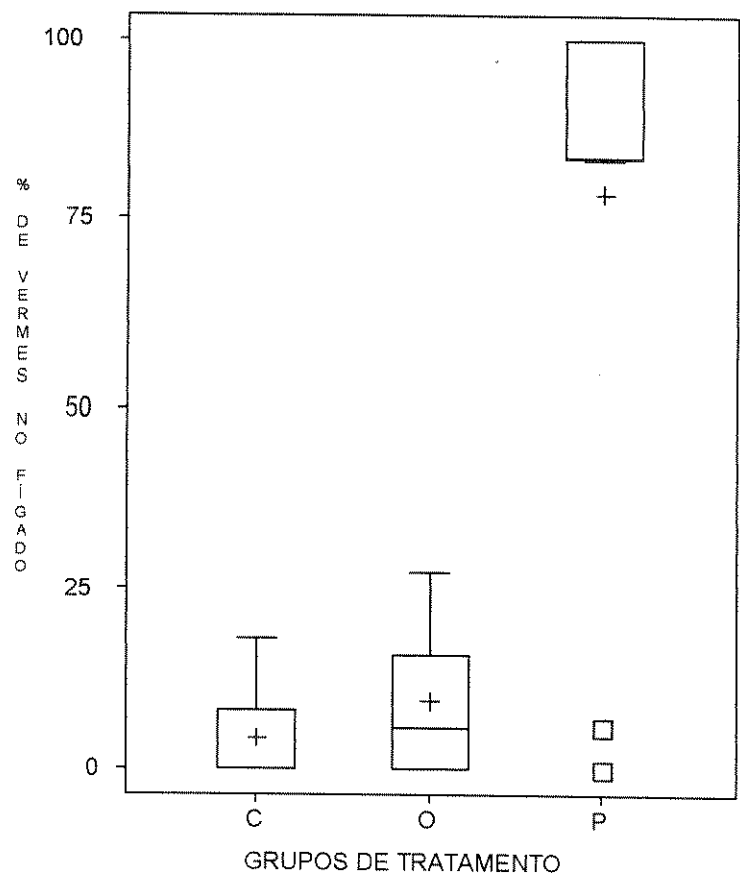


Figura 15 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição das percentagens de vermes coletados no fígado, de camundongos dos grupos (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais.

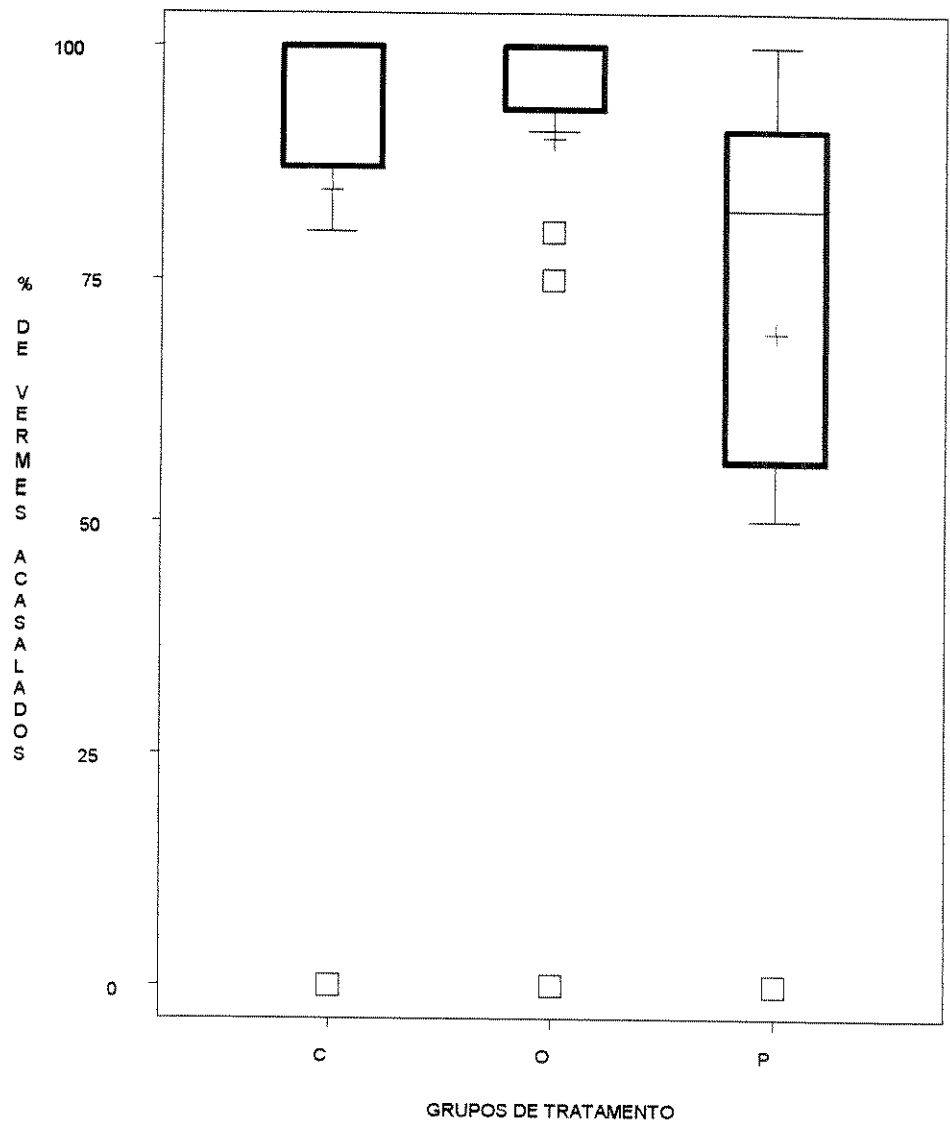


Figura 16 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição das percentagens de vermes acasalados nos grupos (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), de camundongos infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais.

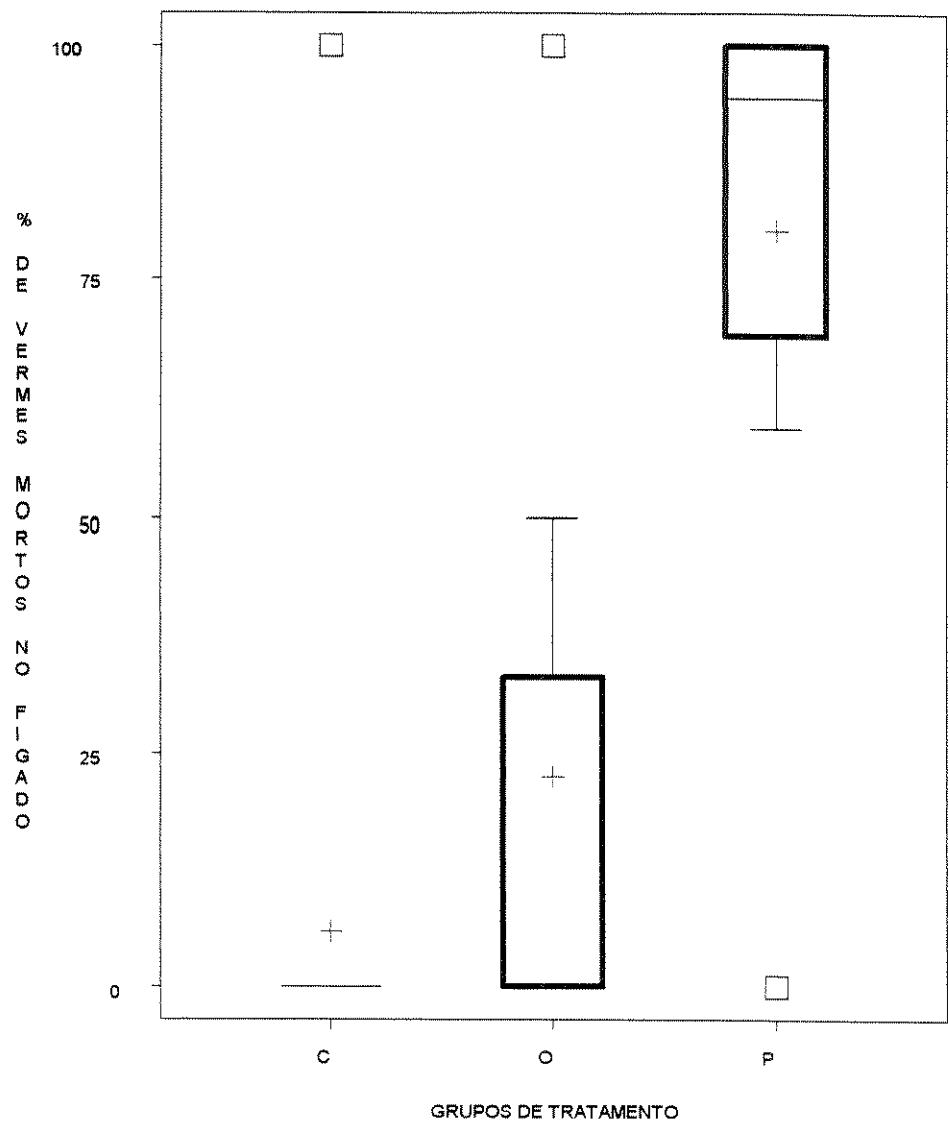


Figura 17 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição das percentagens de vermes mortos no fígado, dos camundongos dos grupos (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais.

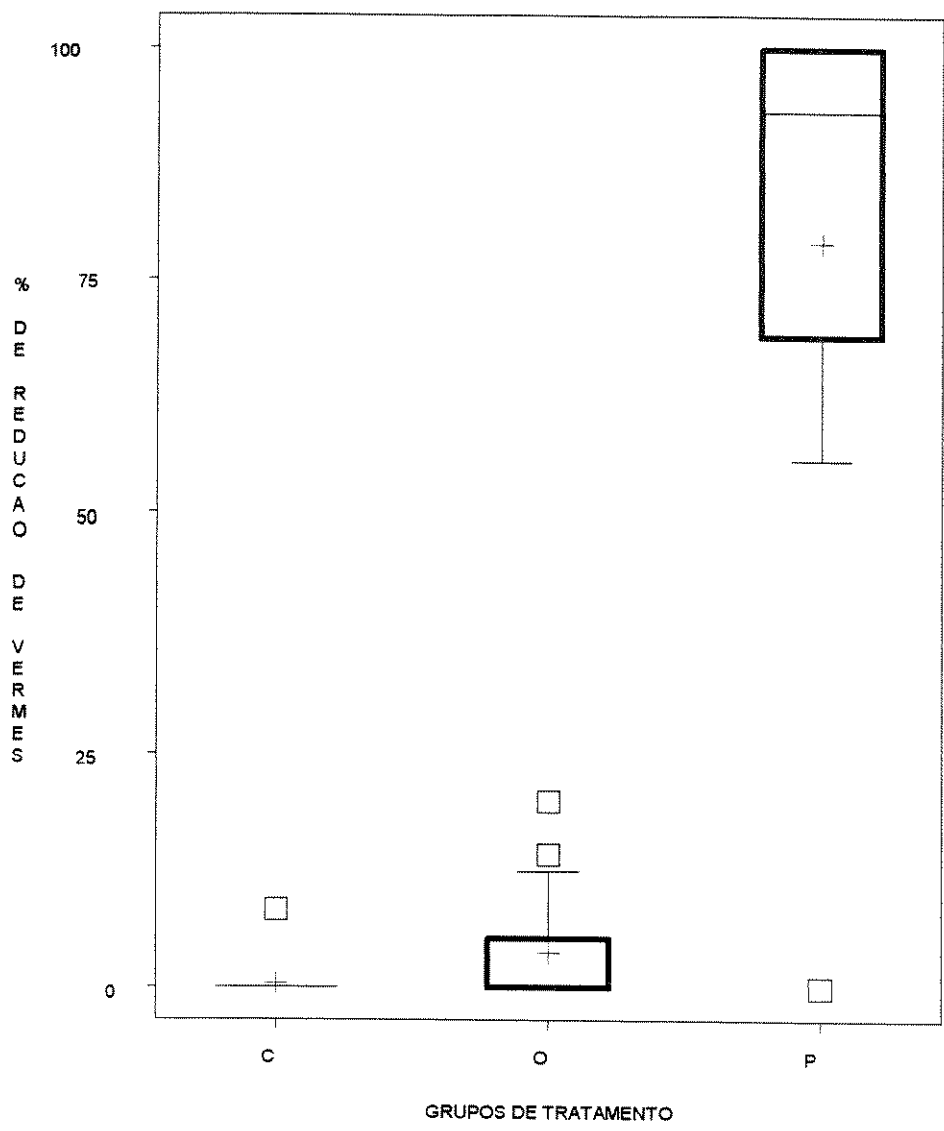


Figura 18 - Diagramas de caixas ("Box-plots") para a distribuição das percentagens de redução de vermes dos camundongos dos grupos (C - controle, O - oxamniquine e P - praziquantel), infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni*, isolado de paciente de Minas Gerais.

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Medicina Social
Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias

5 - DISCUSSÃO

A linhagem MAP de *S. mansoni* aqui estudada foi escolhida por ser considerada uma⁷¹ linhagem de referência em vários centros de pesquisa no Brasil e no exterior. Seus vermes são resistentes aos esquistossomicidas hycanthone e oxamniquine (Dias e cols., 1982). Os aspectos referentes a sua biologia e morfologia foram até agora pouco estudados, o que motivou a elaboração desse trabalho.

A suscetibilidade de *B. glabrata* à linhagem MAP foi avaliada na 41ª geração segundo o índice de infecção, acompanhamento do período de eliminação de cercárias e a taxa de mortalidade.

Um aspecto muito importante a ser considerado é o baixo índice de mortalidade (máximo de 30%) verificado nos grupos de moluscos expostos a 1 e 10 miracídios e no controle não infectado (Tabela I, Figura 3). A comparação dos dados de mortalidade revelou que estas proporções não diferem significativamente, ou seja, a infecção não foi capaz de causar mortalidade significativa quando comparada àquela verificada dentro do mesmo período em moluscos não infectados.

Constatou-se que 33,3% dos moluscos infectados com 10 miracídios mostraram-se positivos (Tabela I, Figura 2), com eliminação de cercárias a partir do 56º dia. Já os moluscos infectados com 1 miracídio apresentaram uma percentagem de infecção menor que variou de 16,7 a 21,7, com eliminação de cercárias a partir do 63º dia (Tabela I, Figura 2). A diferença evidenciada no tempo de evolução dos esporocistos entre a infecção por 1 e 10 miracídios é esperada porque existe

assincronia na maturação dos esporocistos provenientes da mesma população de miracídeos (Guaraldo e cols., 1981).

Nossos resultados observados referentes à suscetibilidade dos moluscos demonstraram que o índice de positividade aliado a baixa mortalidade e ao longo período (até a sobrevivência de 113 dias após a infecção) de eliminação de cercárias verificado, revelam uma boa adaptação entre o hospedeiro intermediário e a linhagem MAP de *S. mansoni*, talvez em decorrência da manutenção desta linhagem em laboratório desde 1978.

Outra linhagem muito estudada, também isolada de fezes humanas, é a LE (Pellegrino & Katz, 1968). Essa linhagem, da mesma forma que a MAP vem sendo mantida em laboratório há muito tempo. A linhagem LE, assim como a BH, vem sendo usada como referência para testes com esquistossomicidas em vários laboratórios (Drescher e cols., 1993). Alguns autores questionam se a manutenção de longa data das linhagens (MAP e LE) em laboratório, não poderia estar comprometendo a sua variabilidade genética. Ao contrário da linhagem MAP e LE, a linhagem BH (Paraense & Corrêa, 1963c), vem sendo utilizada há 33 anos como referência para outras linhagens; todavia está sendo, constantemente, alimentada com moluscos do campo, e por isso não deve apresentar grandes variações nas suas populações em relação à original. Não descartamos, entretanto, as mutações que possam ocorrer naturalmente.

O conhecimento do mecanismo de suscetibilidade do molusco às linhagens locais de *S. mansoni* (Basch, 1975) e dos padrões de liberação de cercárias (Mehlhorn, 1988) são de grande interesse teórico e prático para o controle

eficiente da esquistossomose. Em populações naturais, esse genótipo varia tanto qualitativa quanto quantitativamente, ocasionando variações locais nas relações parasita-hospedeiro intermediário (Richards, 1977). Tem sido verificado que as reações teciduais provocadas pelas células amebocitárias impedem ou dificultam o desenvolvimento dos esporocistos em moluscos pouco suscetíveis (Newton, 1952; Kassin & Richards, 1979; Guaraldo e cols., 1981; Sullivan & Richards, 1981). No entanto, Minchella & Lo Verde (1983) afirmaram que a fecundidade e sobrevivência de linhagens resistentes e suscetíveis de **B. glabrata** foram igualmente afetados pela infecção com **S. mansoni**. Portanto, é questionável se a resistência do hospedeiro intermediário à infecção é uma vantagem adaptativa.

Zanotti-Magalhães (1987) verificou maior sobrevida em moluscos **B. glabrata** infectados com **S. mansoni** simpátrico: 198 dias para moluscos infectados com 10 miracídios obtidos de fezes de camundongos.

Gomes e cols. (1993) observaram que a suscetibilidade dos caramujos **B. glabrata** à infecção pela linhagem simpátrica de Ourinhos (Vale do Paranapanema, SP) e as taxas de mortalidade foram de 35% a 90% com 1 miracídio e de 40% a 90% com 10 miracídios respectivamente, demonstrando pouca adaptação do parasita ao seu hospedeiro intermediário, ao contrário do que se observou para a linhagem MAP.

5.1 - CAPACIDADE DE PENETRAÇÃO DAS CERCÁRIAS E RECUPERAÇÃO DOS VERMES.

O processo de penetração de cercárias no hospedeiro definitivo foi descrito por Haas (1976) em três etapas: a) fixação no hospedeiro; b) movimentação no substrato e exploração de sítios de entrada; c) penetração na epiderme por um sítio específico e pela ação das glândulas cefálicas. As duas primeiras são desencadeadas por estímulos térmicos ou químicos e a penetração propriamente dita só ocorre por estímulos químicos (Haas & Schmitt, 1982a, 1982b). Austin e cols. (1972) verificaram em ratos e Shiff e cols. (1972) no homem que a penetração é estimulada pelos lipídios da pele, principalmente a fração contendo ácidos graxos.

A especificidade dos processos de penetração em *S. mansoni* é uma boa adaptação para o hospedeiro definitivo, porque este padrão parece ser estável e expresso de forma similar por diversas linhagens de *S. mansoni*, dificultando a penetração de outras cercárias na pele do hospedeiro definitivo. Além disso, as cercárias sofrem lesões causadas por substâncias estimulantes da epiderme e pela perda da proteção osmótica durante sua transformação para esquistossômulo. Porém, esta transformação é necessária para a sobrevivência do parasito no hospedeiro e para garantir a conclusão do ciclo de vida com a recuperação de vermes adultos (Haas & Schmitt, 1982b). Uma boa adaptação entre hospedeiro-parasita, implica em alta capacidade de penetração de cercárias, como foi o caso da linhagem MAP (entre 90 e 94%).

Gomes e cols. (1993) estudando a linhagem paulista de Ourinhos (Vale do Paranapanema) (geração F₁), e utilizando *B. glabrata*, encontrou 92% de

capacidade de penetração de cercárias e 52% de recuperação de vermes adultos. Magalhães & Carvalho (1969) verificaram que as cercárias da linhagem mineira BH possuem maior capacidade de penetração (97%) que as de SJ (79%) de São Paulo.

A percentagem de recuperação de vermes da nossa linhagem foi de 34,12% no grupo controle.

Saoud (1966) observou índices de recuperação de vermes entre 28% e 40% trabalhando com quatro linhagens diferentes de ***S. mansoni***, utilizando 100 cercárias por camundongo. Ressalta-se que fatores tais como: hospedeiro definitivo, temperatura ambiente e número de cercárias utilizadas devem ser considerados quando se comparam resultados de vários autores.

5.2 - PESO CORPORAL DOS CAMUNDONGOS.

Os animais do grupo sadio eram 14 dias mais velhos do que os animais dos outros grupos. Essa diferença de idade não influenciou na comparação dos pesos corporais, uma vez que a curva de crescimento para esses animais permanece constante após uma certa idade (*apud* Guaraldo, 1987). Além disso, foi utilizado, na análise estatística a covariância para evitar algum tipo de influência, sobre o peso dos animais mais velhos e dos mais novos (Tabela II).

Os pesos corporais (iniciais e finais) dos camundongos tratados com oxamniquine e não tratados, não apresentaram diferença significativa. Os pesos

corporais iniciais e finais do grupo praziquantel e sadio, também não apresentaram diferença significativa (Figuras 5 e 6; Tabelas 4, 5, 6 e 7 do Anexo).

Aqui podemos evidenciar a tolerância da linhagem MAP frente ao oxamniquine uma vez que os camundongos tratados com esta droga, comportaram-se como se fossem animais infectados não tratados. Também podemos constatar a eficiência da droga praziquantel, pois o grupo de camundongos com essa droga ganhou peso e se comportou similarmente ao grupo de animais sadios (Figuras 5 e 6).

É interessante salientar que os camundongos que foram submetidos ao tratamento com praziquantel, em apenas 14 dias, apresentaram acentuada recuperação do peso corporal, revelando que a infecção por *S. mansoni* provocou menor ganho de peso nos animais. Verificou-se então, no grupo tratado com praziquantel que houve, provavelmente, processo de cura parasitológica. Este dado confirma que a constante deposição de ovos nos tecidos entre outras razões, é um fator limitante do crescimento ponderal dos animais (Guaraldo, 1987).

Zanotti-Magalhães (1987) mostrou que a maior suscetibilidade do molusco ao *S. mansoni* acarretou menor crescimento ponderal do hospedeiro definitivo (camundongo) durante a evolução do parasito em seu organismo.

Gomes e cols. (1993) trabalhando com a linhagem paulista de Ourinhos, utilizando *B. glabrata* como hospedeiro, evidenciaram ganho de peso em animais tratados, mesmo sendo sua linhagem considerada tolerante ao praziquantel e ao oxamniquine.

Figueiredo (1991) e Melo (1994) estudando as linhagens paulistas de Itariri e Campinas, respectivamente, observaram o ganho de peso em animais tratados, uma vez que essas linhagens eram suscetíveis às duas drogas, oxamniquine e praziquantel.

5.3 - PESO DO FÍGADO E DO BAÇO DOS CAMUNDONGOS.

Ressalta-se que foram utilizados camundongos do grupo controle infectado não tratado (C3) para obtenção dos pesos das vísceras e dos dados morfométricos. No presente trabalho foi focalizado apenas aspectos da linhagem MAP sem interferência dos esquistossomicidas após seu isolamento (Dias e cols., 1978).

Os pesos do fígado ($2,68g \pm 0,68$) e baço ($0,41g \pm 0,15$) dos camundongos do grupo controle infectado, foram maiores que os dos animais sadios ($1,74g$ do fígado e $0,18g$ do baço), evidenciando a hepatoesplenomegalia em camundongos esquistossomóticos (Figura 7 e 8). Observou-se uma correlação positiva, significativa, entre o peso do fígado e a carga parasitária, ou seja, quanto maior foi a carga parasitária, maior foi o peso do fígado. Da mesma forma houve uma correlação positiva entre o peso do baço e a carga parasitária.

Figueiredo e cols. (1992) também observou correlação positiva significativa entre o peso do baço e a carga parasitária estudando a linhagem de Itariri (ITA) em *B. tenagophila*. A autora registrou para o fígado $2,059g \pm 0,374$ e

para o baço $0,509g \pm 0,254$. Melo (1994) estudando a linhagem campineira (Camp-H), obteve os pesos do fígado ($3g \pm 0,36$) e baço ($0,82g \pm 0,23$), verificando maior hepatoesplenomegalia.

Pela análise dos dados obtidos com a 41ª geração da linhagem MAP, demonstramos haver diferença significativa entre os órgãos dos animais dos grupos controles (infectados e sadios). No entanto, Warren (1967) evidenciou que a hepato e a esplenomegalias independem da carga de vermes. Observou também que com apenas um par de vermes, houve acentuada esplenomegalia em camundongos infectados com linhagens de Porto Rico, Brasil, Egito e Tanzânia. A hepatomegalia também foi acentuada, com exceção nas infecções com a linhagem do Egito.

Zanotti e cols. (1983) observaram em infecções unissexuais, apenas discreto aumento do fígado e do baço. Segundo Guaraldo (1987) e Telles (1990) a hepatomegalia observada em animais infectados por *S. mansoni*, é mais acentuada entre a 7ª e 8ª semana, regredindo à medida que a infecção se cronifica. Ainda, segundo Guaraldo (1987), o aumento do peso do baço inicia-se a partir da primeira semana de infecção e a esplenomegalia máxima ocorre por ocasião da 11ª semana, com processo involutivo muito lento.

Nossas observações foram realizadas na 10ª semana após a infecção.

No caso da linhagem MAP, avaliada na 41ª geração, evidenciou-se acentuada hepatoesplenomegalia.

Os pesos do fígado e baço (Figura 7 e 8) dos animais infectados foram maiores que os dos animais sadios como consequência da hepatoesplenomegalia observada em camundongos esquistossomóticos.

As lesões no fígado caracterizam uma fibrose periportal com vários graus de obstrução dos ramos intra-hepáticos da veia porta. A esplenomegalia é consequência da hiperplasia e hipertrofia das células do sistema monofagocitário e também por congestão venosa (Andrade, 1962).

A hepatomegalia está relacionada com a resposta imune mediada por células T que induz sob a formação de granulomas ao redor do ovo de *S. mansoni* (Phillips e cols., 1977).

5.4 - DIMENSÃO DAS REAÇÕES GRANULOMATOSAS DO FÍGADO.

A grande responsável pelo quadro clínico apresentado na esquistossomose é a reação granulomatosa induzida pelos ovos de *S. mansoni* que representa reação mediada por linfócitos T, aos antígenos solúveis dos ovos, com reação máxima por ocasião da 8ª semana de infecção. Após esse período, outros granulomas recém formados, tornam-se menores, representando o fenômeno da modulação (Boros & Warren, 1970; Chensue & Boros, 1979 *apud* Guaraldo, 1987).

Coelho e cols. (1989) concordaram com outros autores que as dimensões dos granulomas hepáticos causados pelos ovos de *S. mansoni* na fase aguda da doença, variam em consequência do tempo de sua evolução e estado imunológico do organismo. No entanto, estes autores destacaram que fatores relacionados com o parasito também devem ser considerados, tais como: intensidade de infecção, número de exposições à mesma linhagem ou linhagens

diferentes, número de vermes que escapam à defesa do organismo e número de ovos que se depositam nos tecidos. Ressaltam também que embora o antígeno solúvel do ovo represente o elemento mais importante na formação das lesões, muito pouco ou quase nada se sabe sobre as possíveis diferenças qualitativas e/ou quantitativas relacionadas a este tipo de antígeno, quando se consideram linhagens geográficas de *S. mansoni*.

O diâmetro médio das reações granulomatosas hepáticas provocadas pela linhagem MAP de *S. mansoni* foi de $268,04\mu\text{m} \pm 84,46$. Utilizaremos essa medida pois é a mais adotada na literatura. O produto dos maiores diâmetros (Figura 9) apesar de representar a área do granuloma é pouco referida na literatura.

Carvalho e cols. (1986) utilizando-se da linhagem recém isolada de Belo Horizonte, camundongos albinos fêmeos expostos à infecção pela cauda com 70 cercárias, granulomas medidos por ocasião da 10ª semana de infecção, encontraram resultados de diâmetro médio de $313,0\mu\text{m} \pm 82,6$ e $348,0\mu\text{m} \pm 8$ para amostras isoladas de pacientes de Belo Horizonte, MG, na fase aguda e crônica da doença respectivamente.

Zanotti-Magalhães (1987) estudando as linhagens BH e SJ, observou que os granulomas hepáticos de camundongos infectados com cercárias de moluscos mais suscetíveis, eram menores - BH $360\mu\text{m} \pm 9$ e SJ $310\mu\text{m} \pm 7$ - e sugeriu a possibilidade de um reconhecimento mais rápido dos antígenos do ovo, responsáveis pela reação granulomatosa e por sua rápida modulação.

Gomes e cols. (1993) encontraram para a linhagem Ouh (Ourinhos, SP) em *B. glabrata* o diâmetro médio de granulomas de $326,0\mu\text{m}$.

Melo (1994) estudando a linhagem CampH (Campinas, SP) em *B. tenagophila* obteve o diâmetro médio de granuloma de 296,08µm.

A comparação dos diâmetros das reações granulomatosas de nosso experimento ($268,04\mu\text{m}^2 \pm 84,46$) com os de outros trabalhos, mostra que a linhagem MAP induziu o menor granuloma hepático. Isso poderia evidenciar a boa adaptação da nossa linhagem e talvez a possibilidade em reconhecimento mais rápido dos antígenos do ovo, responsáveis pela reação granulomatosa que acarretou rápida modulação.

5.5 - ESTUDO MORFOLÓGICO DOS OVOS E VERMES DA LINHAGEM MAP DE *Schistosoma mansoni*.

5.5.1 - OVOS.

Foram medidos 120 ovos da linhagem MAP de *S. mansoni*. Os valores médios obtidos para a medida dos ovos foram de $64,24\mu\text{m} \pm 2,75$ de largura e $148,46\mu\text{m} \pm 8,82$ de comprimento. Gomes e cols. (1993) estudaram a linhagem de Ourinhos, SP em *B. glabrata* e obtiveram as medidas de comprimento $146,27\mu\text{m} \pm 7,87$ e largura $62,33\mu\text{m} \pm 2,88$. Figueiredo e cols. (1992) obteve os valores médios de largura $64,41\mu\text{m} \pm 3,77$ e de comprimento $152,36\mu\text{m} \pm 9,13$, estudando a morfometria de ovos da linhagem de *S. mansoni* de Itariri, em *B. tenagophila*. Melo (1994), estudando a linhagem Camp-H de *S. mansoni*, obteve os valores médios de

comprimento 139,69 μ m e largura 56,37 μ m. Paraense & Corrêa (1981) observaram 100 ovos da linhagem SJ. Estes autores obtiveram valores médios de 159,74 μ m $\pm$ 8,61; 70,01 μ m $\pm$ 2,75 e 150,75 μ m $\pm$ 7,28; 69,55 μ m $\pm$ 2,66, para comprimento e largura nas linhagens BH e SJ, respectivamente.

De acordo com os nossos dados obtidos para a medida dos ovos para a linhagem MAP de *S. mansoni*, verificamos que tanto o comprimento como a largura dos ovos estão dentro das médias encontradas por outros autores que estudaram diferentes linhagens de *S. mansoni*.

5.5.2 - VERMES.

Foram medidos 96 vermes fêmeas e 95 machos da linhagem MAP de *S. mansoni*, com 70 dias de vida. Os machos mediam 7,78mm $\pm$ 1,41 de comprimento e as fêmeas 7,03mm $\pm$ 0,98, números médios (Figura 11 e Tabela 23 do Anexo).

Magalhães & Carvalho (1973b) constataram diferenças morfométricas entre as linhagens de Belo Horizonte (BH) e de São José dos Campos (SJ). Estes autores verificaram que os machos mediam em média 6,9mm de comprimento (linhagem BH) e 5,6mm (linhagem SJ). Para as fêmeas obtiveram 7,6mm (linhagem BH) e 5,8mm (linhagem SJ) de comprimento. Comparando a linhagem BH com a MAP, verificamos que os machos da linhagem MAP são maiores (7,78mm) enquanto que as fêmeas são aproximadamente do mesmo tamanho (7,03mm). Comparando a

linhagem SJ com a MAP, verificamos que tanto os machos quanto as fêmeas, são menores que as pertencentes a linhagem estudada por nós.

Figueiredo e cols. (1992) obtiveram resultados semelhantes aos nossos com a linhagem de Itariri (SP), observando $7,35\text{mm} \pm 1,47$ para os machos e $8,22\text{mm} \pm 1,68$ para as fêmeas.

Gomes e cols. (1993) estudando a linhagem Ouh (de Ourinhos) em *B. glabrata* constataram $15,51\text{mm} \pm 4,30$ para as fêmeas e $13,38\text{mm} \pm 2,16$ para vermes machos.

Melo (1994) estudando a linhagem CampH (de Campinas) obteve o comprimento médio de $6,15\text{mm} \pm 0,19$ para vermes machos e $5,02\text{mm} \pm 1,22$ para vermes fêmeas.

Paraense & Corrêa (1981) obtiveram com a linhagem BH um comprimento médio superior ao encontrado por nós ($8,44\text{mm} \pm 0,95$ para SJ e $9,04\text{mm} \pm 1,16$ para a linhagem BH) após realizar medições de 100 machos. Nas fêmeas observaram o comprimento de $11,85\text{mm} \pm 1,29$ para a linhagem BH e $9,76\text{mm} \pm 1,15$ para SJ.

Com base nos resultados obtidos nas medidas dos ovos e comprimentos dos vermes, pode-se concluir que a linhagem MAP de *S. mansonii* apresenta características morfométricas distintas das linhagens paulista (SJ) e mineira (BH), estudadas por Paraense & Corrêa (1981).

5.6 - SUSCETIBILIDADE DE *Schistosoma mansoni* ÀS DROGAS ESQUISTOSSOMICIDAS OXAMNIQUINE E PRAZIQUANTEL.

Sabe-se que a resistência está presente quando uma população previamente suscetível em um organismo patogênico não mais responde a uma dose terapêutica usual de uma determinada droga. A tolerância está presente em uma população de organismos que nunca respondeu adequadamente ao tratamento (Cioli e cols., 1989; Davis, 1993).

Recentemente, foi reavaliada a suscetibilidade da 36ª geração da linhagem MAP de *S. mansoni*. Concluiu-se que a linhagem MAP, na 36ª geração, manteve estável a resistência ao oxamniquine nas dosagens de 100 a 400 mg/kg. Já com a posologia de 500 a 700 mg/kg, houve suscetibilidade parcial da população de vermes. Com base nesse modelo, estimou-se que a dose de oxamniquine efetivamente necessária para matar 99% dos vermes machos, era de 1.227 mg/kg (Gonçalves & Dias, 1991).

Para a linhagem MAP, Yeang e cols. (1987) calcularam que as doses efetivas de oxamniquine capazes de matar 50 e 90% dos vermes machos foram, respectivamente, 298 e 990 mg/kg. Foi selecionada uma sub-linhagem MAP que foi tratada com 1.000 mg/kg, sendo que essa sub-linhagem não apresentou vermes mortos e a oviposição não foi interrompida. Dias e cols. (1992) realizando pressão de drogas (oxamniquine) na 36ª geração da linhagem MAP, isolaram uma sublinhagem MAP do verme resistente a 700mg da droga. O oxamniquine na dosagem de 700mg/kg apresentou uma eficácia de 49,0%.

A avaliação da suscetibilidade da linhagem MAP do *S. mansoni* realizada no presente trabalho, revelou resistência ao oxamniquine (eficácia=16%) e suscetibilidade ao praziquantel (eficácia=94%) salientando-se que a linhagem MAP, reavaliada na 4^a geração, permaneceu estável quanto a sua tolerância ao oxamniquine. Por outro lado, a linhagem mostrou ser tolerante, por não responder adequadamente às drogas oxamniquine e hycanthone.

Estudos clínicos e experimentais demonstraram que existe uma variação nas respostas terapêuticas das linhagens de *S. mansoni*, não só de áreas geográficas diferentes, como também dentro de uma mesma área (Araújo e cols., 1980; Costa & Katz, 1982; Olivier e cols., 1983; Dias e cols., 1983; Dias & Olivier, 1985; Bruce e cols., 1987).

Jansma e cols. (1977) verificaram que a resistência e a tolerância são importantes clínica e epidemiologicamente porque podem ser transmitidas às gerações de *S. mansoni*. Dias e cols. (1982) também salientaram a importância clínica e epidemiológica da resistência considerando-se que ela pode ser transmitida às progênes de *S. mansoni* da mesma linhagem. Kinotti (1987), estudando o significado da variação da suscetibilidade de *S. mansoni* ao oxamniquine, concluiu que a variação na suscetibilidade demonstrada pelo parasito indica que *S. mansoni* possui grande capacidade de desenvolver resistência às doses terapêuticas de oxamniquine e que a resistência pode ser esperada quando e onde o parasita sofrer pressão contínua da droga.

Drescher e cols. (1993) também estudaram a eficácia das drogas (hycanthone, niridazole, oxamniquine e praziquantel) contra outras linhagens de *S.*

mansoni, utilizando as doses em valores de $\mu\text{M/kg}$, devido a diferenças nos pesos moleculares das drogas, e encontraram resultados diversos. Assim, com a linhagem brasileira BH, a eficácia foi de 99,8% para oxamniquine e 99,4% para praziquantel, as mesmas dosagens utilizadas em nosso trabalho, e para a linhagem brasileira MAP, a eficácia foi de apenas 7,0% para oxamniquine e 99,4% para praziquantel, o que corrobora com os nossos resultados de eficácia (16,0% para oxamniquine e 94,0% para praziquantel). Naquele trabalho, Drescher e cols., utilizando vermes machos e fêmeas, obtiveram os seguintes resultados de DE_{50} : 42, 36, 13 e 46 mg/kg/5 dias para as linhagens BH, K, MAP e MPR1 respectivamente.

Possivelmente, isso ocorre quando esquistossomicidas são intensamente usados em determinadas áreas e os ovos provenientes de pacientes tratados e não curados, contaminam o ambiente (Coles e cols. 1987).

Estudos cuidadosamente controlados em laboratório, estimaram a dose efetiva necessária para matar 99% dos vermes machos parasitos (DE_{99}). A mortalidade do parasita é o mais importante critério e deve ser comparada com a linhagem de referência (Marshall, 1987). Também é importante o tempo apropriado decorrido entre o tratamento e o exame após a morte dos camundongos. Esse tempo deveria ser experimentalmente determinado em cada caso, mas pode ser de 10 a 14 dias para o praziquantel, 21 dias para o oxamniquine ou o hycanthone, e acima de 8 semanas para o oltipraz (Marshall, 1987).

Desde os estudos iniciais com relação a linhagem MAP feitos por Dias e cols. (1982) e Marshall (comunicação pessoal), demonstrou-se que a linhagem não era afetada por 200mg/kg de oxamniquine administrada *per os*, nem por uma

simples injeção intramuscular de 200mg/kg de hycanthone. Por outro lado, Yeang & Marshall (comunicação pessoal) demonstraram que 600mg/kg de oxamniquine **per os**, reduziram a carga parasitaria apenas em 65%, sendo que ainda existia oviposição de ovos.

De acordo com os nossos dados, a linhagem MAP foi considerada tolerante ao oxamniquine. Esta tolerância é resultado da inativação de uma enzima responsável pela conversão da droga em metabólitos ativos, devido a mutação de um gene autossômico recessivo (Cioli e cols., 1989; Pica-Mattoccia e cols., 1993).

A percentagem de vermes sobreviventes encontrados foi de 84% para o grupo tratado com oxamniquine e de 6% para o grupo tratado com praziquantel (esses 6% de vermes sobreviventes eram constituídos de 18 vermes machos, 8 casais e apenas 1 fêmea). Assim, são necessários estudos para determinar o período de oviposição de vermes fêmeas sobreviventes de camundongos tratados (Rogers & Bueding, 1971; Yeang e cols., 1987). Esses estudos são importantes pois ovos de pacientes tratados e não curados podem contaminar o ambiente e gerar vermes tolerantes que, sob pressão de drogas, serão selecionados (Coles e cols., 1986).

Bonesso-Sabadini (1995) observaram na linhagem de Ourinhos, SP, percentagens de vermes sobreviventes de 34% e de 9,9% (machos, fêmeas e casais) com o tratamento feito com oxamniquine e praziquantel, respectivamente, utilizando as mesmas dosagens de 100mg/kg usados em nosso trabalho.

Pode-se concluir que a linhagem MAP aqui estudada na sua 41ª geração manteve estável a sua tolerância com relação ao oxamniquine verificado através do índice de eficácia que foi baixo (eficácia = 15,82) (Tabela 6).

Relata-se na literatura que existem reduções na suscetibilidade às drogas e que essas permanecem em várias gerações do parasita (Jansma e cols., 1977; Dias & Olivier, 1985; Dias e cols., 1988).

É interessante observar que no caso da linhagem MAP, a resistência à droga originou-se de um paciente tratado e não no laboratório. Não podemos afirmar, com certeza, como se deu a origem da resistência da linhagem MAP.

Quanto menos patogênica a linhagem, maior o ajuste fisiológico entre o parasita e seu hospedeiro, implicando em uma boa adaptação, como é o caso da linhagem MAP.

Considera-se que uma linhagem mais patogênica seria menos evoluída do que uma linhagem menos patogênica (Magalhães & Carvalho, 1976). Desse modo, poderíamos inferir que a linhagem MAP, considerada pouco patogênica, seria mais evoluída do que as outras, se levarmos em conta, sua boa adaptação hospedeiro-parasita. Porém em termos de variabilidade genética essa linhagem estaria comprometida pela endogenia no laboratório. Ainda, discutindo sobre evolução, os vermes resistentes poderiam ser considerados como mais evoluídos, por não apresentarem a enzima que converte a droga em um éster reativo que se dissocia e pode alquilar o DNA e macromoléculas do esquistossomo (Cioli e cols., 1989; Picca-Mattoccia e cols., 1993). Nesse sentido, o verme resistente aos

esquistossomicidas teria essa vantagem adaptativa sobre os outros vermes suscetíveis.

Sabe-se que a resistência às drogas resulta de uma propriedade fundamental dos organismos vivos: a variabilidade genética. Possivelmente, a linhagem MAP tenha perdido algumas características genéticas e sofrido alterações fisiológicas e de comportamento. Houve, durante estes anos, um ajuste fisiológico entre hospedeiro-parasita (Basch, 1975).

Experimentos de laboratório, freqüentemente conduzidos com linhagens de parasitas de um limitado "pool" de genes, com poucas gerações e dosagens cuidadosamente controladas, apresentam resultados que são potencialmente perigosos ao extrapolarmos tais achados para o campo. Na Austrália a resistência de nematóides de carneiros é um problema sério em veterinária. Esse problema não parece estar restrito somente à Austrália. Há fortes evidências de que já tenha se instalado na América. Linhagens droga-resistentes de nematóides tem sido produzida experimentalmente, em sistemas *in vivo* e *in vitro*, em laboratório com antihelmínticos como cambendazole, thiabendazole e levamisole. No caso dos dois primeiros, a resistência levou a seleção de uma população naturalmente resistente e progressiva eliminação de vermes sensíveis.

Fallon & Doenhoff (1994) demonstraram, em laboratório, a indução de resistência ao praziquantel em camundongos. Neste trabalho a linhagem foi submetida a tratamento com praziquantel em 7 gerações consecutivas; nas duas primeiras foram usadas dosagens de 100mg/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 nova infecção. Nas cinco passagens restantes, o tratamento foi feito no 28º dia (ou seja, antes do começo da oviposição). Esse trabalho sugere a importância de pesquisas com novos esquistossomicidas e nos alerta com relação ao uso das atuais drogas usadas no tratamento de esquistossomose, uma vez que Gomes e cols. (1993) trabalhando com a linhagem Ouh (Ourinhos) também detectou tolerância ao praziquantel, e Bonesso-Sabadini (1995) trabalhando com a mesma linhagem (Ouh) igualmente considerou esta tolerante ao oxamniquine (100mg/kg - dose única) e ao praziquantel (100mg/kg/5 dias), e ainda obteve retomada de oviposição. DE_{99} revelaram um valor de 159,4mg/kg em dose única para oxamniquine e 129,2mg/kg/5 dias para praziquantel, valores superiores aos obtidos rotineiramente em experimentos laboratoriais com camundongos tratados com 100mg/kg. Estes resultados obtidos por Bonesso-Sabadini (1995) também foram maiores aos apresentados para outras linhagens sensíveis aos esquistossomicidas em questão.

É relevante avaliar os efeitos da quimioterapia no homem, no campo, pela taxa de excreção de ovos e no laboratório estudar periodicamente a suscetibilidade das linhagens locais de esquistossomos, sendo de extrema importância saber a variação normal da resposta no laboratório.

Pellegrino & Faria (1965) afirmaram que uma droga é considerada ativa contra a esquistossomose quando um ou mais estágios de desenvolvimento de ovos imaturos estão ausentes no oograma, indicando a interrupção da oviposição devido a morte dos vermes, lesão dos órgãos reprodutores dos vermes ou migração para o fígado. Existe um equilíbrio dinâmico entre os ovos que estão sendo postos,

os maduros, e aqueles que estão continuamente sendo eliminados com as fezes e que é alcançado poucas semanas depois do início da postura de ovos e é mantido por um período relativamente longo. Desta forma, pequenas alterações deste equilíbrio são detectadas em oogramas de fragmentos intestinais. No caso da linhagem MAP, reavaliada na 41ª geração, não apresentou alteração de oograma para o grupo de animais tratados com oxamniquine, sendo possível visualizar todos os estágios de desenvolvimento de ovos observados no fragmento intestinal. Isto retrata claramente a tolerância do verme à ação da droga oxamniquine aqui utilizada na dosagem única de 100mg/kg, via oral, porém são necessários novos estudos para determinar o período de retomada de oviposição dos vermes fêmeas sobreviventes de camundongos tratados (Rogers & Bueding, 1971; Yeang e cols., 1987; Bonesso-Sabadini, 1995).

No nosso trabalho, o grupo de camundongos tratados com praziquantel (100mg/kg, via oral, por 5 dias) apresentou seu oograma totalmente alterado (Tabela VI), com ausência de vários estágios de desenvolvimento de ovos, observados no fragmento intestinal, significando que o praziquantel foi eficaz no tratamento da doença (percentagem de eficácia=94%)

Quanto à migração para o fígado, é interessante comentar que a localização dos vermes nos grupos praziquantel e oxamniquine foi distinta. A maioria dos vermes no grupo tratado com oxamniquine se concentrou no mesentério (igualmente para o grupo controle), indicando o trânsito livre dos vermes através dos vasos sanguíneos do organismo do hospedeiro - vermes no fígado = 1,7% e vermes no mesentério = 16,5% (Tabela 18 do Anexo; Figura 14); controle: fígado = 1,2% e

mesentérico = 19,7% (Tabela 17 do Anexo; Figura 14). Já para o grupo tratado com praziquantel fica evidente a migração dos vermes para o fígado. Neste caso, é importante comentar a ação sinérgica da droga e o sistema imune do hospedeiro. Oxamniquine tem como efeito esquistossomicida a redução da biosíntese macromolecular, interferindo na síntese de ácidos nucleicos do parasito (Pica-Mattoccia & Cioli, 1985). É sabido que para linhagens resistentes, os vermes retomam sua posição nas veias mesentéricas, assim como a oviposição (Bonesso-Sabadini, 1995).

Recentemente, Fallon & Doenhoff (1994) demonstraram, em laboratório, indução de resistência ao praziquantel em camundongos, com linhagem resultante de quatro diferentes isolados de *S. mansoni*. Posteriormente, Fallon e cols. (1995), verificaram que praziquantel foi capaz de matar uma pequena porcentagem de vermes de linhagem isolada no Senegal, sugerindo baixa suscetibilidade à essa droga.

Ainda Cioli e cols. (1995), analisando os três principais esquistossomicidas utilizados atualmente (metrifonato, oxamniquine e praziquantel) ressaltaram a importância de novas pesquisas para esquistossomicidas devido a ocorrência de falhas terapêuticas e resistência dos vermes de *S. mansoni*.

Para 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. Essa simples intercalação provocaria uma inibição apenas temporária de ácidos nucleicos do parasito (Cioli e cols., 1985; Pica-Mattoccia & Cioli, 1958; Pica-Mattoccia e cols., 1989). Para os suscetíveis ao oxamniquine o

verme possui uma enzima, controlada por um único gene autossômico recessivo (Cioli e cols., 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 e cols., 1985; Pica-Mattoccia & Cioli, 1995; Pica-Mattoccia e cols., 1989).

A paralisia e a perda da capacidade de fixação induzida pelo praziquantel é importante no deslocamento do verme para o fígado. Praziquantel é absorvido pelo verme adulto por difusão simples, e é a molécula original responsável pelos efeitos primários observados no verme: contração tetânica (Pax e cols. 1978), vacuolização e rompimento do tegumento (Bricker e cols., 1983). Não há evidências de que o parasita metabolize a droga (Andrews e cols., 1980). A afinidade a lipídeos do praziquantel facilitaria a sua incorporação pelo verme através da membrana. As contrações induzidas pelo praziquantel no esquistossomo são dependentes dos íons cálcio, porém o fenômeno não envolve a despolarização da membrana do músculo liso do parasito (Pax e cols., 1978; Bricker e cols., 1983). Em experimentos *in vitro*, a depleção de íons cálcio ou o aumento da relação magnésio-cálcio no meio de cultura, suprimem as contrações causadas pela droga (Pax e cols., 1978; Ketterer e cols. 1980). As lesões no tegumento do verme parecem ser mais numerosas nos machos do que nas fêmeas (Shaw & Erasmus, 1983). Decorrente das alterações de membrana e tegumento, são afetadas outras funções importantes para a homeostasia do verme no ambiente intravascular.

A exposição de determinantes antigênicos na superfície do verme induzida pela droga tanto *in vitro* (Harnett & Kusel, 1986), como *in vivo* (Brindley &

Sher, 1987; Doenhoff e cols., 1987; Modha e cols. 1990), o tornaria alvo do sistema imune do hospedeiro tratado com praziquantel.

Praziquantel é a droga considerada como a mais efetiva no tratamento da esquistossomose. Contrariamente, um estudo realizado no Senegal (TDR - News, Anonymous, 1992), constatou um baixo índice de cura e um grande número de efeitos colaterais para esta droga. Esse estudo foi o primeiro a mostrar a ineficiência no tratamento do homem com praziquantel. Utilizando-se uma dosagem de 40mg/kg de praziquantel, apenas 53 dos 298 (18%) apresentaram cura, sendo que a percentagem de cura para o praziquantel é normalmente de 70% a 85%. Nesse estudo, acreditou-se que, provavelmente, a ineficiência do tratamento foi devida a rápida reinfecção favorecida pela intensidade da epidemia na área ou pela falta de imunidade da população, uma vez que a droga não funciona em pacientes imuno-deprimidos (TDR - News, Anonymous, 1992).

O sucesso do tratamento com praziquantel pode estar relacionado com o grau de estimulação do sistema imune, isto é, a eficácia é menor em animais infectados com menor número de cercárias ou em animais com infecções unissexuais (Doenhoff e cols. 1987).

Estudos bioquímicos e de biologia molecular devem ser aprimorados no sentido de elucidar a compreensão dos mecanismos genéticos implicados na resistência e/ou tolerância dos esquistossomos às drogas.

Medidas devem ser tomadas para diminuir o uso indiscriminado de esquistossomicidas evitando-se, assim, o aparecimento de linhagens resistentes.

Novas pesquisas em busca de novos esquistossomicidas devem ser incentivadas (Penido, 1994).

6 - CONCLUSÕES

A linhagem mineira MAP de *Schistosoma mansoni*, avaliada na 41ª geração, apresentou as seguintes características:

1. Desenvolveu-se adequadamente em seu hospedeiro intermediário (*Biomphalaria glabrata*), com baixo índice de mortalidade.
2. Apresentou período pré-patente que variou entre 56 a 63 dias.
3. Apresentou infectividade elevada ao hospedeiro definitivo, com altos índices de penetração de cercárias (92,05%) e de recuperação de vermes (34,12%).
4. Mostrou-se suscetível ao praziquantel e manteve a sua tolerância ao oxamniquine.
5. O tratamento da linhagem MAP com a droga praziquantel induziu 79% de redução no número de vermes, revelando 94% de eficácia e proporcionando acentuada recuperação no peso dos animais infectados.
6. O tratamento da linhagem MAP com a droga oxamniquine revelou 16% de eficácia e apenas 3,8% na redução no número de vermes, sem alteração de peso dos animais infectados.
7. A linhagem MAP de *S. mansoni* provocou hepatomegalia (54%) e acentuada esplenomegalia (128%) em camundongos infectados não tratados.
8. A área do granuloma induzida pela linhagem MAP de *S. mansoni*, foi de 268,04µm² aproximadamente.
9. A morfometria dos vermes adultos mostrou as seguintes medidas: fêmeas 7,78mm e machos 7,03mm. Os ovos mediram 148,46µm de comprimento e 64,24µm de largura.

10. De acordo com os dados obtidos a linhagem MAP, avaliada na 41ª geração de ***S. mansonii***, revelou em hospedeiro intermediário (***B. glabrata***) e definitivo (camundongo Swiss), características morfológicas e biológicas distintas das linhagens paulistas: SJ (Vale do Paraíba), Itariri (Vale do Ribeira) e Ourinhos (Vale do Paranapanema) e mineira BH (Belo Horizonte).

RESUMO

A existência de linhagens resistentes de *Schistosoma mansoni* é bem conhecida. Estudos prévios tem mostrado que a linhagem MAP é resistente a oxamniquine e hycanthone, porém sensível a niridazole e praziquantel. Os objetivos deste estudo foram de avaliar a suscetibilidade de moluscos e camundongos à infecção por *S. mansoni* e determinar aspectos morfológicos da 41ª geração da linhagem MAP. O estudo foi desenvolvido em modelo experimental camundongo swiss - *Biomphalaria glabrata*. Avaliou-se a suscetibilidade de 180 moluscos *B. glabrata* expostos a 1 e 10 miracídios. Em 80 camundongos infectados pela cauda com 70 cercárias e sacrificados na 10ª semana, avaliou-se: suscetibilidade do *S. mansoni* ao oxamniquine (100 mg/kg, dose única, via oral) e ao praziquantel (100 mg/kg, 5 dias, via oral); capacidade de penetração de cercárias e recuperação de vermes; peso corporal, do fígado e do baço; mortalidade; diâmetro dos granulomas hepáticos e morfometria de vermes e de ovos. A mortalidade e o índice de infecção aos 77 dias de infecção foram de, respectivamente, 30,0% e 28,6% (10 miracídios) e 25,0% e 17,8% (1 miracídio) e de 25,0% para o grupo controle, indicando que o verme está bem adaptado ao seu hospedeiro intermediário. A quimioterapia experimental revelou índices de eficácia de 93,9% para o praziquantel e de 15,8% para o oxamniquine, enquanto a percentagem de vermes sobreviventes foi de apenas 6,1% para a primeira droga e de 84,2% para a segunda. Essas percentagens sugerem que novos estudos sejam necessários para determinar o período de oviposição de vermes sobreviventes de camundongos tratados. O tratamento da linhagem MAP com a droga oxamniquine revelou 16% de eficácia e apenas 3,8% na redução no número de vermes. Verificou-se alta taxa de penetração de cercárias (92,05%) e boa taxa de recuperação de vermes (34,12%) nos camundongos infectados. Houve alteração no crescimento ponderal dos animais infectados com diminuição de peso, quando comparados com aqueles do grupo controle, no período entre a administração das duas drogas e o sacrifício dos camundongos. Houve ganho de peso corporal dos animais tratados, hepatomegalia ($2,68\text{g} \pm 0,68$) e esplenomegalia ($0,41\text{g} \pm 0,15$) com aumento de 54% e 128%, respectivamente, quando comparado com esses órgãos dos animais do grupo controle. As reações granulomatosas mediram $268,04\mu\text{m}^2$. O tamanho dos vermes machos foi de $7,78\text{mm} \pm 1,40$ e das fêmeas de $7,03\text{mm} \pm 0,98$. Os ovos apresentaram largura média de $64,24\mu\text{m} \pm 2,75$ e comprimento de $148,46\mu\text{m} \pm 8,82$. A linhagem MAP na sua 41ª geração manteve sua resistência quando comparada às outras gerações já estudadas. Essa linhagem mostrou características diferentes das outras linhagens de outras regiões do Estado de São Paulo.

SUMMARY

The appearance of drug resistant strains of *Schistosoma mansoni* is well known. Previous studies have shown that MAP strain is resistant to oxamniquine and hycanthone but sensitive to niridazole and praziquantel. The objectives of this study were to evaluate the susceptibility of snails to *S. mansoni* infection and to determine morphological aspects of the 41st generation of MAP strain. The study was developing using as experimental model swiss mice-*Biomphalaria glabrata*. Snails were divided in 3 groups of 60 individuals each: I) Control group; II) Exposed to 1 miracidium; III) Exposed to 10 miracidia. Eighty mice were divided into 4 groups of 20 animals each: A) Control; B) Infected and not treated; C) Infected and treated by OXA (100mg/kg, single dosis, by oral route) and D) infected and treated by PZQ (100mg/kg/5 days, by oral route). Sixty mice were infected with 70 cercariae by immersion of the tail in water. After 3 weeks the animals of the groups C and D were treated and were killed 2 weeks later and evaluated following this analysis: ability of cercarial penetration and worm recovery; body weights of liver and spleen; mortality rate; diameter of hepatic granuloma and morphometry of adults worms and eggs. The mortality rate and susceptibility of snails to infection up to 77 days of exposure were, respectively 30.0% and 28.6% for group III 25.0% and 17.8% for group II, and also 25.0% for group I, indicating that the worm is well adapted to its intermediate host. Experimental chemotherapy revealed efficacy levels of 93.9% to PZQ and 15.8% to OXA, while the percentage of surviving worms was of only 6.08% to the first drug and of 84.2% to the second one. We verified higher rate of cercariae penetration (92.05%) and fine rate of recovery worms (34.12%) in the infected mice, alteration of the ponderal growth from infected animals succeeding in a decrease of the weight when compared to the control group, in the period between the administration of the two antischistosomal drugs and the killing of the animals, we notice body weight gain of treated animals, hepatomegaly ($2.68\text{g} \pm 0.68$) and splenomegaly ($0.41\text{g} \pm 0.15$) showing a gain of 54% and 128%, respectively, when compared to these viscera of control group; granulomatous hepatic reactions measured $268.04\mu\text{m}^2$. The measurements of worms was $7.78\text{mm} \pm 1.40$ for male and $7.03\text{mm} \pm 0.98$ for female; and the eggs showed $64.24\mu\text{m} \pm 2.75$ of width and $148.46\mu\text{m} \pm 8.82$ of length. F₄₁ MAP strain maintained its resistance when compared to previous generations. This strain showed different characteristics from strain of other regions of São Paulo State.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, L.A. & CHEEVER, A.W. - Comparision of geographical strains of *Schistosoma mansoni* in the mouse. **Bull. Wld. Hlth. Org.** v. 46, p. 233-241, 1972.
- ANDRADE, Z. A. - Aspectos experimentais da esplênomegalia da Esquistossomose. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 4, p. 240, 1962.
- 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.
- ANONYMOUS - Praziquantel shows unexpected failure in recent schistosomiasis outbreak. **TDR-News** v. 41, p. 1-2, 1992.
- 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.
- AUSTIN, F. G.; STIREWALT, M. A. & DANZINGER, R. E. - *Schistosoma mansoni*: Stimulatory effect of rat skin lipid fractions on cercarial penetration behavior. **Exp. Parasitol.**, v. 31, p. 217-224, 1972.
- BASCH, P. F. - An interpretation of snail-trematode infection rates: specificity based on concordance of compatible phenotypes. **Int. J. Parasitol.** , v. 5, p. 449-452, 1975.
- BARRETO, M. L. - **Esquistossomose mansônica. Distribuição da doença e organização social do espaço.** Secretaria da Saúde do Estado da Bahia - Série de Estudos em Saúde n. 6, Salvador, 1984.
- BONESSO-SABADINI, P. I. P. - **Avaliação da suscetibilidade da linhagem Ouh (Ourinhos, Vale do Paranapanema- SP) de *Schistosoma mansoni* ao oxamniquine e praziquantel.** Campinas, SP, 1995. [Tese de Mestrado - Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas].
- BOROS, D. L. & WARREN, K. S. - Delayed hypersensitivity type granuloma formation and dermal reaction induced and elicited by a soluble factor isolated from *Schistosoma mansoni* eggs. **J. Exp. Med.**, v. 132, p. 488, 1970.

- 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: observation 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.** 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.
- BROOME, P.B. & RADKE, M.G. - An improved mouse retraining chamber. **Jpn. J. Parasit.** v.20, p. 81-82, 1971.
- BRUCE, J. I.; DIAS, L. C. de S.; LIANG, Y. S. & COLES, G. C. - Drug resistance in schistosomiasis: A Review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 82, p. 143-150, 1987.
- CAMPOS, P.C.; ALVES, M.J.C.P.; GRACIANO, N. BUONICONTI, S.F.L. & FIGUEIREDO, W. - Esquistossomose no Estado de São Paulo - 1981 a 1990. *In*: Simpósio Internacional de Esquistossomose e Reunião Nacional de Esquistossomose, Recife, 1991. **Anais Resumo nº 135**, 1991.
- CAMPOS, R.; MOREIRA, A.A.B.; SETTE Jr., H.; CHAMONE, D.A.F. & SILVA, L.C. - Hycanthon resistance in a human strain of *Schistosoma mansoni*. **Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 70, p. 261-262, 1976.
- CARVALHO, A.D.V.; ALVARENGA, R.J. & MELLO, A.L. - Histopatologia da esquistossomose mansoni em fígado de *Mus musculus* infectado por amostras humanas de fase aguda e crônica da periferia de Belo Horizonte. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 19, p. 84-94, 1986.
- CARVALHO, O. S.; MILWARD-DE-ANDRADE, R. & SOUZA, C. P. - Suscetibilidade de *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835), de Itajubá (MG), à infecção pela cepa "LE" de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, de Belo Horizonte, MG (Brasil). **Rev. Saúde Pública S. Paulo** v. 13, p.20-25, 1979.
- CHENSUE, S. W. & BOROS, D. L. - Population Dynamics of T and B lymphocytes in the lymphoid organs, circulation, and granulomas of mice infected with *Schistosoma mansoni*. **Am J. Trop. Med. Hyg.**, v. 28, n.2 p.291-299, 1979.

- CHIEFFI, P.P. - Resistência de cepa de *Biomphalaria tenagophila*, originária de Londrina (Paraná, Brasil) à infecção por duas cepas de *Schistosoma mansoni*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 4, p. 209-212, 1975.
- CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L. & ARCHER, S. - Resistance of schistosomes to hycanthone and oxamniquine. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** v. 84 (suppl. I), p. 38-45, 1989.
- CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L. & ARCHER, S. - Antischistosomal Drugs: past, present... and future? **Pharmac. Thec.** v. 68, n. 1, p. 35-85, 1995.
- 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.
- CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; ROSENBERG, S. & ARCHER, S. - Evidence for the mode of antschistosomal action of hycanthone. **Life Sci.** v. 37, p. 161-167, 1985.
- COELHO, P. M. Z.; RASO, P. MELLO, R. T. & TOPPA, N. H. - Dimensões do granuloma hepático produzido por ovos de duas linhagens geográficas do *Schistosoma mansoni*, no camundongo. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 84, p. 213-217, 1989.
- COLES, G. C.; BRUCE, J. I.; KINOTTI, 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.; BRUCE, J. I.; KINOTTI, G. K.; MUTAHI, W. T.; DIAS, E. P.; ROCHA, R. S. & KATZ, N. - The potential for drug resistance in schistosomiasis. **Parasitol. Today** v. 3, p. 349, 1987.
- COSTA, M. F. de L. & KATZ, N. - Comparative study of *Schistosoma mansoni* strains isolated from patients with toxemic or intestinal forms of schistosomaiasis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 31, p. 499-504, 1982.
- DAVIS, A. - Antischistosomal drugs and clinical practice. In: "**Human Schistosomiasis**" (P. Jordan; G. Webbe & R. F. Sturrock, Eds.), CAB International, Wallingford, p. 367 - 404, 1993.
- DIAS, L. C. de S.; BRUCE, J. I. & COLES, G. C. - Strain variation in the infectivity of *Schistosoma mansoni* for *Biomphalaria glabrata*. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 30, p. 86-90, 1988.

- DIAS, L. C. S.; FIGUEIREDO, A. C. & ADANI, I. A. B. - Variação na susceptibilidade da sublinhagem MAP de *Schistosoma mansoni* isolada após tratamento com 700mg/kg de oxamniquine. *In: XXVIII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Resumos* p.50, 1992.
- 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. de S.; GUARALDO, A. M. A. ; ZANOTTI, E. & MAGALHÃES, L.A. - Suscetibilidade a esquistossomicidas de linhagens de *Schistosoma mansoni*. *In: Congressos Integrados de Parasitologia, São Paulo . Resumos.* p. 205, 1983.
- DIAS, L. C. de S. & OLIVIER, C. E. - Stability of *Schistosoma mansoni* progeny to antischistosomal drugs. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* v. 27, p. 186-189, 1985.
- DIAS, L. C. de S.; PEDRO, R. de J.; RIGO, E.; GOTO, M. M. F. & MAFRA, G. L. - Linhagem humana de *Schistosoma mansoni* resistentes à esquistossomicidas, *Rev. Saúde Públ. S. Paulo*, v. 12, p. 110, 1978.
- DIAS, L. C. de S.; UETA, M.T. & GUARALDO, A. M. A. - Suscetibilidade de *Biomphalaria glabrata*, *b. straminea* e *B. tenagophila* a diferentes cepas de *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 29, p. 205-212, jul./ag., 1987.
- DIAS, L. C. S.; PEDRO, R.J. & DEBERALDINI, E. R. - Use of praziquantel in patients with Schistosomiasis mansoni previously treated with oxamniquine and/or hycanthole: resistance of *Schistosoma mansoni* to schistosomicidal agents. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 652- 659, 1982.
- 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 strain and species of schistosome. *Mol. Biochem. Parasitol.* v. 57, p. 83-88, 1993.
- DOEHNHOFF, M. J.; SABAH, A. A.; FLETCHER, C.; WEBBE, G. & BAIN, J. - Evidence for a immune-dependent action by praziquantel on *Schistosoma mansoni* in mice. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* v. 81, p. 947-951, 1987.
- DOUMENGE, J. P.; MOTT, K. E.; C.; VILLENAVE, D.; CHAPUIS, O.; PERRIN, M. F. & REAUD-THOMAS, G. - **Atlas of the global distribution of schistosomiasis.** University of Bordeaux III, França, 1987.

- DRAPER, N. R. & SMITH, H. - **Applied regression analysis** 2nd ed. New York. J. Wiley, 1981.
- DRESCHER, K. M.; ROGERS, E. J.; BRUCE, J. I.; KATZ, N.; DIAS, L. C. S. & COLES, G. C. - Response of drug resistant isolate of *Schistosoma mansoni* to antischistosomal agents. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** v.88, p.89-95, 1993.
- FALLON, P. G. & DOEHNHOFF, M. S. - 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.
- FALLON, P. G.; STURROCK, P. F.; COPER, A.; NIANG, M. & DOENHOFF, M. S. - Diminished susceptibility to praziquantel in a Senegal isolate of *Schistosoma mansoni*. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 53, p. 61-62, 1995.
- FIGUEIREDO, A. C. - **Estudo de características biológicas e morfológicas de cepa paulista de *Schistosoma mansoni* do Vale do Ribeira**. Campinas, SP, 1991. [Tese de Mestrado - Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas].
- FIGUEIREDO, A. C. & DIAS, L. C. S. - Suscetibilidade de cepa paulista de *Schistosoma mansoni* a duas drogas esquistossomicidas. In: **40^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência**, São Paulo, jul., 1988.
- FIGUEIREDO, A. C. ; DIAS, L. C. de S. & MARQUES, E. H. F. - Biological and morphological characteristics of *Schistosoma mansoni* from Ribeira Valley, State of São Paulo, Brazil. I- Susceptibility of *Biomphalaria tenagophila* snail to sympatric *S. mansoni* strain. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 34, p. 199-203, mai/jun., 1992.
- FILES, V. S. & CRAM, E. B. - A study on comparative susceptibility of snails vectors to strains of *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 35., p. 555-560, 1949.
- FREITAS, J. R. de; BOSCHI, M. B. & SANTOS, M. B. L. dos Suscetibility de "híbridos" de *Biomphalaria tenagophila* à cepa LE (BH) do *Schistosoma mansoni* . **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo, v. 27, p. 6-12, 1985.
- GOMES, E.; DIAS, L. C. S.; TAKAKU, L. & STANGENHAUS, G. - Biological and morphological characteristics of *Schistosoma mansoni* from the Paranapanema Valley (Ourinhos), São Paulo, Brazil. **4^o International Symposium on Schistosomiasis e Reunião Nacional de Esquistossomose**, Rio de Janeiro, resumo n^o 51, 1993.

- GONÇALVES, E. R. & DIAS, L. C. S. - Resposta da linhagem MAP de *Schistosoma mansoni* a diferentes doses de oxamniquine. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.** v. 3 (suppl. 8), p. S 45 (Resumos), 1991.
- GONNERT, R. & ANDREWS, P. - Praziquantel, a new broads spectrum antischistosomal agent. **Z. Parasitenkd.**, v. 52, p. 129-150, 1977.
- GUARALDO, A. M. A. - **Avaliação da resposta imune à infecção por *Schistosoma mansoni* em camundongos C3H/ H e J submetidos à dieta hipoprotéica e normoprotéica.** Campinas, SP, 1987. [Tese de Doutorado-Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas].
- GUARALDO, A. M. A.; MAGALHÃES, L. A.; RANGEL, H.A. & PAREJA, G. -Evolução dos esporocistos de *Schistosoma mansoni* Sambon , 1907, em *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) e *Biomphalaria tenagophila* (D' Orbigny, 1835). **Rev. Saúde Pública, São Paulo**, v. 15, p. 436-438,1981.
- HAAS, W. - Die Anheftung (Fixation) der Cercariae von *Schistosoma mansoni*. Einfluß natürlicher Substrate und der Temperatur. **Z. Parasitenkd.**, v. 49, p. 63-72, 1976.
- HAAS, W. & SCHMITT, R - Characterization of chemical stimuli for the penetration of *Schistosoma mansoni* cercariae. **Z. Parasitenkd.**, v. 66, p. 293-307, 1982a.
- HAAS, W. & SCHMITT, R - Characterization of chemical stimuli for the penetration of *Schistosoma mansoni* cercariae. **Z. Parasitenkd.**, v. 66, p. 309-319, 1982b.
- HARNETT, W. & KUSEL, J. R. - 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.
- KASSIN , O . O. & RICHARDS, C. S. - Host reactions in *Biomphalaria glabrata* to *Schistosoma mansoni* miracidia involving variations in parasite strains numbers and sequence of exposures. **J. Parasitol.**, v. 9, p. 565,1979.

- 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.
- KEMP, H. A.; HUNTER, G. W.; WILKINS, O. P.; SMALLEY, H. & DASHIEL, M. A. - Some aintments examined for protection against *Schistosoma mansoni* cercariae in preliminary tests. **Milit. Med.**, v. 119, p. 1-10, 1956.
- KINOTTI, G. K. - The significance of variation in the susceptibility of *Schistosoma mansoni* to the antischistosomal drug oxamniquine. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 82, p. 151-156, 1987.
- LIANG, Y. S.; BOYD, D. A. & BRUCE, J. I. - **Maintenance of schistosome cycle (*Schistosoma mansoni*, *S. haematobium* and *S. japonicum*)**. 38p. (Apostila).
- LUTZ, A. - Weiteres zur lebensgeschichte des *Distoma hepaticus*. **Zbb. Bakt.** v. 13, p. 320-328, 1893.
- LUTZ, A. - Observações sobre a evolução do *Schistosoma mansoni*. **Rev. Soc. Bras. Ciências**, v. 1, p. 41-48, 1919.
- MACHADO, P. A.; GUERRA, J. C. & ABREU, L. G. S. - Planorbídeos no município de Campinas. **Rev. Inst. Adolfo Lutz** v.15, p. 168-172, 1955.
- MAGALHÃES, E. M. Z.; MAGALHÃES, L. A. & CARVALHO, J. F. - Relação entre a patogenicidade de *Schistosoma mansoni* em camundongos e a suscetibilidade do molusco vetor. I. Infeciosidade de cercárias e carga de vermes. **Rev. Saúde Pública S. Paulo**, v. 25, p. 359-366, 1991.
- MAGALHÃES, L. A. - Técnicas para avaliação da viabilidade de penetração de cercárias de *Schistosoma mansoni* em *Mus musculus*. **O Hospital**, v. 75, p. 137-140, 1969b.
- MAGALHÃES, L. A.; ALCÂNTARA, F. G. & CARVALHO, J. F. - Alguns dados referentes ao estudo parasitológico e anatomopatológico de duas linhagens de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. **Rev. Saúde Pública S. Paulo**, v. 9, p. 1-5, 1975.
- MAGALHÃES, L. A. & CARVALHO, J. F. - Determinação do número de cercárias provenientes de cepas diferentes de *Schistosoma mansoni* que conseguem penetrar, sob determinadas condições de laboratório, em *Mus musculus*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 3, p. 249-251, set/out., 1969.

- MAGALHÃES, L. A. & CARVALHO, J. F. - Desenvolvimento do *Schistosoma mansoni* das linhagens de Belo Horizonte (MG), e de São José dos Campos (SP) em *Mus musculus*. **Rev. Saúde Pública S. Paulo**, v. 7, p. 285-287, 1973a.
- MAGALHÃES, L. A. & CARVALHO, J. F. - Estudo morfológico de *Schistosoma mansoni* pertencentes a linhagens de Belo Horizonte (MG) e de São José dos Campos (SJ). **Rev. Saúde Pública S. Paulo**, v. 7, p. 289-294, 1973b.
- MAGALHÃES, L. A. & CARVALHO, J. F. - Sobre o comportamento de duas linhagens de *Schistosoma mansoni* de estudo quantitativo. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 10, p. 169-194, 1976.
- MAGALHÃES, L. A.; DIAS, L. C. S.; PIZA, J. T.; TAKAKU, L. & PEREIRA, A. A. - Aspectos epidemiológicos da esquistossomose mansônica na região da represa de Americana, Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Públ. S. Paulo**, v. 7, p. 21-28, 1973.
- MARSHALL, I. - Experimental Chemoterapy. *In: "The biology of schistosomes"* (D. Rollinson & A. J. G. Simpson, Eds.) Academic Press, New York / London, p. 399-430, 1987.
- MEHLHORN, H - **Parasitology in Focus**, Springer Verlag, 924 pp, 1988.
- MEHLHORN, H.; BECKER, B.; ANDREWS, P.; THOMAS H. & PRENKEL, J. K. - In vitro and in vivo experiments on the effect of praziquantel on *Schistosoma mansoni*. A light and eletron microscopy study. **Arznein Forsch./ Drug Res.** v. 31, p. 544-554, 1981.
- MELO, C. M. - **Caracterização biológica e morfológica da linhagem paulista de *Schistosoma mansoni* da região de Campinas, SP**. Campinas, SP, 1994 [Tese de Mestrado, Instituto de Biologia - Universidade Estadual de Campinas]
- MINCHELLA, D. J. & LoVERDE, P. T. - Laboratory comparison of the relative sucess of *Biomphalaria glabrata* stocks which are susceptible and insusceptible to infection with *Schistosoma mansoni*. **Parasitology**, v. 86, p. 335-344, 1983.
- MODHA, J.; LAMBERTUCCI, J. R.; DOENHOFF, M. J. & McLAREN, D. J. - Immune dependence of Schistosomicidal chemoterapy: an ultrastructural study of *Schistosoma mansoni* adult worms exposed to paziquantel and immune serum in vivo. **Parasite Immunol.**, v. 12, p. 321-334, 1990.
- NEWTON, W. L. - The inheritance of susceptibility to infection with *Schistosoma mansoni* in *Australorbis glabratus*. **Exp. Parasitol.**, v. 2, p. 242-257, 1958.

- NEWTON, W. L. - The comparative tissue reaction of two strains of *Australorbis glabratus* to infection with *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 38, p. 362, 1952.
- 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.
- OLIVIER, C. E.; DIAS, L. C. S.; BASTOS, O. C. & GOMES, R. de J. - Suscetibilidade da linhagem humana maranhense de *Schistosoma mansoni* a drogas esquistossomicidas. In: **Congressos Integrados de Parasitologia**, São Paulo, Resumos p. 204, 1983.
- PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. - Variation in susceptibility of populations of *Australorbis glabratus* to a strain of *Schistosoma mansoni*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 5, p. 15-22, 1963a.
- PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. - Suscetibility of *Australorbis tenagophila* to infection with *Schistosoma mansoni*. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 5, p. 23-29, 1963b.
- PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. - Sobre a ocorrência de duas raças biológicas do *Schistosoma mansoni* no Brasil. **Cien. Cult.** v. 15, p. 245-246, 1963c.
- PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. - Differential suscetibility of *Biomphalaria tenagophila* populations to infections with a strain of *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 64, p. 822-826, 1978.
- PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. - Observations of two biological races of *Schistosoma mansoni*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 76, p. 287-291, 1981.
- PAX, R. A. ; BENNET, J. L. & FETTERER, R. - A benzodiazepine derivate and praziquantel: Effects on musculature of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. **Nauryn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, v. 304, p. 309 - 315, 1978.
- PELLEGRINO, J. & FARIA, J. The oogram method for the screening of drugs in Schistosomiasis mansoni. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 14, p. 363-369, 1965.
- PELLEGRINO, J. & KATZ, N. - Experimental chemoterapy of schistosomiasis mansoni In: **"Advances in Parasitology"**, Academic Press, London and New York, v. 6, p. 233-290, 1968.

- PELLEGRINO, J. & KATZ, N. - Terapêutica experimental *In*: "**Esquistossomose mansonii**" (A. S. Cunha) , Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 313-326, 1970.
- PELLEGRINO, J. & MACEDO, D. G. - A simplified method for the concentration of cercariae. **J. Parasitol.**, v. 41, p. 329 - 330, 1955.
- PENIDO, M. L. O. - **Ácidos alquilaminoalcanotiosulfúricos: metabolismo e atividade esquistossomocida**. Belo Horizonte, MG, 1994. [Tese de Doutorado - Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais].
- PHILLIPS, S. M.; DI CONZA, J. J.; GOLD, J. A. & RIED, W. A. Schistosomiasis in the congenitally athymic (nude) mouse . I- Thymic dependency of eosinophilia, granuloma formation and host morbidity. **J. Immunol.**, v. 118, p. 594-599, 1977.
- 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. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 83, p. 373-376, 1989.
- PICA-MATTOCCIA, L.; DIAS, L. C. de & CIOLI, D. - Genetic complementation analysis of two independently isolated hycanthone - resistant strains of *Schistosoma mansonii*. III International Symposium on Schistosomiasis, **Resumos**, 1991.
- PICA-MATTOCCIA, L.; DIAS, L. C. de; MORONI, R & CIOLI, D. - *Schistosoma mansonii*: 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.
- PIZA, J. T. & RAMOS, A. S. - Os focos autóctones de esquistossomose no Estado de São Paulo . **Arq. Hig. Saúde. Pública**, v. 25, p. 261-271, 1960.
- POCOCK, S.J. - **Clinical Trials**, 4^a ed, John Wiley & Sons, 1986.
- REY, L. - **Parasitologia**, 2^a ed, Guanabara Kogan, Rio de Janeiro, 731 pp., 1991.
- RICHARDS, C. S. - *Schistosoma mansonii*: Susceptibility reversal with age in the snail host *Biomphalaria glabata* to *Schistosoma mansonii* infection. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 5, p. 449-452, 1975

- RICHARDS, C. S. - *Schistosoma mansoni*: Susceptibility reversal with age in the snail host *Biomphalaria glabrata*. **Exp. Parasitol.** v. 42, p. 165-168, 1977.
- 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 the gene to latrines**. Rollinson, D. & Simpson, A. J. G., ed. Academic Press, Cap. 1, p. 1-49, 1987.
- RUIZ, J. M. - Esquistossomose experimental 5. Dados sobre a infestação experimental de *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny) e *Australorbis glabratus* (Say). **Rev. Bras. Biol.** v. 17, p. 179-185, 1957.
- SANTANA, J. V.; MAGALHÃES, L. A. & RANGEL, H. A. - Seleção de linhagem de *Biomphalaria glabrata* e *Biomphalaria tenagophila* visando maior suscetibilidade ao *Schistosoma mansoni*. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 12, p. 67, 1978.
- SAOUD, M. F. A. - The infectivity and pathogenicity of geographical strains of *Schistosoma mansoni*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 60, p. 585-600, 1966.
- SAS Institut Inc. **SAS User's Guide: Statistics** 5ª ed. Cary, NC: SAS Institut Inc, 1986.
- SCHELL, S. C. - **Manual de Laboratório en Parasitologia**. Editorial Academia, León, 1969.
- 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.
- SHIFF, C. J.; CMELIK, S. H. W.; LEY, H. E. & KRIEL, R. L. - The influence of human skin lipids on the cercarial penetration responses of *Schistosoma hematobium* and *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 58, p. 476-480, 1972.
- SHOW, J. R. & BRAMMER, K. W. - The treatment of experimental schistosomiasis with a combination of oxamniquine and praziquantel. **Trans. R. Soc. Med. Trop. Hyg.** v. 77, p. 39-40, 1983.
- SILVA, L. J. - **A esquistossomose mansônica no estado de São Paulo: origens, distribuição, epidemiologia e controle**. Campinas, SP, 1992 [Tese de Livre-docência - Faculdade de Ciências Médicas - Universidade Estadual de Campinas].

- SILVEIRA, A. C. - Controle da esquistossomose no Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 84 (suppl. I), p. 91-104, 1989.
- SMITH, D. & SMITH, H. - **Applied regression analysis**. 2nd edition, J. Wiley, New York, 1981.
- SNEDECOR, G. W. & COCHRAN, W. G. - **Statistical Methods**. 8th edition. Iowa state University, NC, 1989.
- SOUZA, C. P. de - Estudo de moluscos do gênero *Biomphalaria* de Minas Gerais, com relação a adaptação parasito hospedeiro e importância na epidemiologia da esquistossomose. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 28, p. 287-292, 1986.
- SOUZA, C. P. de; 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**, v. 882, 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.
- STEEL, R. G. D. & TORRIE, J. H. - **Principals and procedures of statistics: a biometrical approach**. McGraw Hill. New York. 633 p., 1980.
- SUCEN - Situação da esquistossomose mansônica no Estado de São Paulo. **II Encontro sobre Esquistossomose**, 1982. Imprensa Oficial do Estado de São Paulo (relatório).
- SULLIVAN, J. T. & RICHARDS, C. S. - *Schistosoma mansoni*, HIH-SM-PR-2 strain, in susceptible and nonsusceptible stocks of *Biomphalaria glabrata*: comparative histology. **J. Parasitol.**, v. 67, p. 702, 1981.
- TELES, H. M. S. & VAZ, J. F. - Distribuição de *Biomphalaria glabrata* (Say 1818) (Pulmonata, Planorbidae), no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Públ. S. Paulo** v. 21, p. 508-512, 1987.
- TELES, H. M. S. - Distribuição de *Biomphalaria tenagophila* e *B. occidentalis* no Estado de São Paulo (Brasil). **Rev. Saúde Públ. S. Paulo** v. 23, p. 244-253, 1989.

- TELLES, E. S. - **Aspectos imunológicos e parasitológicos na infecção múltipla por *Trypanosoma cruzi* e *Schistosoma mansoni* em camundongos (CBA x C57 b1/10)** 1. Campinas, SP, 1990. [Tese de Mestrado - Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas].
- VAZ, J. F.; ELMOR, M. R. D.L GONÇALVES, L. M. C. & ISHIATA, G. K. - Resultados do levantamento planorbídico da área de Presidente Prudente-Estado de São Paulo. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 25, p. 371-379, 1983.
- 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): 4a Região administrativa. **Rev. Saúde Pública S. Paulo**, v. 21, p. 371-379, 1987.
- VAZ, J. F.; TELES H. M. S. LEITE, S. P. S.; CORREA, M. A.; FABBRO, A. D. & ROSA, W. S. - Levantamento planorbídico do Estado de São Paulo. **Rev. Saúde Pública S. Paulo**, v. 20, p. 352-361, 1986.
- VAZ, J. F.; TELES, H. M. S. & TAKAKU, L. - Levantamento planorbídico do Estado de São Paulo - 7ª região administrativa. **Ciência e Cultura** v. 37, p. 2057-2062, 1985.
- WARREN, K. S. - A comparison of Puerto Rican, Brazilian, Egyptian and Tanzanian strains of *Schistosoma mansoni* in mice: penetration of cercariae, maturation of schistosomes and productions of liver disease. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 61, p. 795-802, 1967.
- 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.; DEGENSTI, D. L.; RIPSON, C. A. & MELENEY, H. E. - A. & MELENEY, H. E. - A technique for the perfusion of laboratory animals for the recovery of schistosomes. **J. Parasitol.**, v. 33, p. 419, 1947.
- ZANOTTI-MAGALHÃES, E. M. - **Observação sobre a capacidade de infecção do molusco vetor e a patogenicidade de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 no hospedeiro vertebrado**. Campinas, SP, 1987. [Tese de Doutorado - Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas].

ZANOTTI, E. M.; MAGALHÃES, L. A. & PIEDRABUENA, A. E. - Avaliação da patogenicidade decorrente da infecção pelo *Schistosoma mansoni* Sambon , 1907, agente de infecções unissexuais em *Mus musculus*. **Rev. Saúde Pública S. Paulo**, v. 17, p. 394-405, 1983.

Nota : As referências bibliográficas estão de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABTN) **NBR - 6023 - Referências Bibliográficas**, 1989. As abreviações dos títulos dos periódicos seguem o **Serial Sources for The Biosis previews**. data-base. v. 1990, Philadelphia: Biosis 1991.

ANEXO

Tabela 1 - Estatísticas sumárias para os dados referentes ao número e percentagem de cercárias penetrantes e vermes recuperados, de camundongos infectados, não-tratados (grupo C), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Cercárias Penetrantes		Vermes Recuperados	
	#	%	#	%
n	16	16	17	16
min	51	72,86	0	0,00
Q1	63	90,00	12	19,82
Q2	64,50	92,14	23,00	36,84
Q3	67,50	96,43	25	41,81
máx	70	100,00	55	83,33
média	64,44	92,05	20,94	34,12
dp	4,53	6,47	13,70	21,78

dp = desvio padrão

Tabela 2 - Estatísticas sumárias para os dados referentes ao número e percentagem de cercárias penetrantes e vermes recuperados, de camundongos infectados e tratados com oxamniquine (grupo O), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Cercárias Penetrantes		Vermes Recuperados	
	#	%	#	%
n	16	16	16	15
min	52	74,29	4	5,97
Q1	60,50	86,43	10,50	17,19
Q2	63	90,00	15	26,92
Q3	67	95,71	30	50
máx	70	100,00	42	68,85
média	63,25	90,36	19,38	32,12
dp	4,61	6,59	11,70	18,78

dp = desvio padrão

Tabela 3 - Estatísticas sumárias para os dados referentes ao número e percentagem de cercárias penetrantes e vermes recuperados, de camundongos infectados e tratados com praziquantel (grupo P), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Cercárias Penetrantes		Vermes Recuperados	
	#	%	#	%
n	16	16	15	13
min	60	85,71	0	0
Q1	64	91,43	11	18,18
Q2	66,5	95,00	14	23,08
Q3	68	97,14	17	25,00
máx	70	100,00	18	26,87
média	66,00	94,29	12,53	20,28
dp	2,71	3,87	5,66	7,21

dp = desvio padrão

Tabela 4 - Estatísticas sumárias referentes aos dados de pesos corporais nas datas : da infecção, do tratamento e da perfusão, de camundongos infectados, não-tratados (grupo C), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Pesos Corporais (em gramas)		
	na infecção	no tratamento	na perfusão
n	18	18	17
mín	20,12	29,57	30,90
Q1	21,77	33,06	34,20
Q2	23,31	36,18	35,10
Q3	26,60	39,06	36,50
máx	30,71	42,24	42,70
média	24,13	36,08	35,49
dp	2,99	3,82	2,95

dp = desvio padrão

Tabela 5 - Estatísticas sumárias referentes aos dados de pesos corporais nas datas : da infecção, do tratamento e da perfusão, de camundongos infectados, tratados com Oxamniquine (grupo O), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Pesos Corporais (em gramas)		
	na infecção	no tratamento	na perfusão
n	19	18	16
mín	19,36	28,61	27,40
Q1	21,39	33,73	32,55
Q2	23,00	36,48	33,95
Q3	27,65	37,50	39,05
máx	31,12	42,00	43,20
média	24,33	35,98	35,38
dp	3,71	3,77	4,83

dp = desvio padrão

Tabela 6 - Estatísticas sumárias referentes aos dados de pesos corporais nas datas : da infecção, do tratamento e da perfusão, de camundongos infectados, tratados com Praziquantel (grupo P), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Pesos Corporais (em gramas)		
	na infecção	no tratamento	na perfusão
n	19	19	15
mín	20,47	27,60	29,80
Q1	22,21	32,38	35,90
Q2	25,00	34,69	38,70
Q3	26,37	38,50	41,50
máx	28,73	46,56	46,90
média	24,62	35,68	38,72
dp	2,44	4,68	4,82

dp = desvio padrão

Tabela 7 - Estatísticas sumárias referentes aos dados de pesos corporais nas datas : da infecção, do tratamento e da perfusão, de camundongos sadios (grupo S),

Estatísticas	Pesos Corporais (em gramas)		
	na infecção	no tratamento	na perfusão
n	17	17	17
mín	23,00	34,00	33,90
Q1	26,11	39,33	39,80
Q2	27,10	40,09	41,90
Q3	29,01	43,17	43,80
máx	30,49	45,90	49,60
média	27,34	40,22	42,06
dp	2,02	3,54	4,25

dp = desvio padrão

Tabela 8 - Estatísticas sumárias referentes aos dados de pesos do fígado e do baço de camundongos infectados, não-tratados (grupo C), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Pesos (em gramas)	
	fígado	baço
n	17	17
mín	1,60	0,19
Q1	2,27	0,34
Q2	2,57	0,39
Q3	3,17	0,55
máx	4,05	0,65
média	2,68	0,41
dp	0,68	0,15

dp = desvio padrão

Tabela 9 - Estatísticas sumárias referentes aos dados de pesos do fígado e do baço de camundongos sadios (grupo S),

Estatísticas	Pesos (em gramas)	
	fígado	baço
n	17	17
mín	1,40	0,11
Q1	1,67	0,14
Q2	1,76	0,17
Q3	1,85	0,20
máx	2,04	0,33
média	1,74	0,18
dp	0,15	0,05

dp = desvio padrão

Tabela 10 - Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos por sexo, em camundongos infectados, não-tratados (grupo C), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)		
	macho	fêmea	casal
n	17	17	17
mín	0	0	0
Q1	0	0	5
Q2	0	0	10
Q3	0	0	12
máx	7	4	22
média	0,82	0,35	9,88
dp	1,88	1,00	6,03

dp = desvio padrão

Tabela 11 - Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos por sexo, em camundongos infectados, tratados com Oxamniquine (grupo O), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)		
	macho	fêmea	casal
n	17	17	17
mín	0	0	0
Q1	0	0	5
Q2	0	0	7
Q3	0	1	14
máx	2	5	21
média	0,18	0,53	8,76
dp	0,53	1,23	6,05

dp = desvio padrão

Tabela 12 - Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos por sexo, em camundongos infectados, tratados com Praziquantel (grupo P), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)		
	macho	fêmea	casal
n	15	15	15
mín	0	0	0
Q1	1	0	4
Q2	1	0	5
Q3	3	0	7
máx	8	1	8
média	2,33	0,20	5,00
dp	2,47	0,41	2,48

dp = desvio padrão

Tabela 13 - Número e distribuição de vermes coletados nos grupos praziquantel, oxamniquine e controle, de camundongos infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni* isolado de Belo Horizonte, MG.

Grupo	Camundongos		Vermes Coletados (#)				
	n	exam	vivos	mortos	total	fígado	mesentério
C	20	17	354	2	356	21	335
P	20	15	19	169	188	168	20
O	20	17	298	12	310	30	280

Tabela 14 - Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos pela vitalidade, em camundongos infectados, não-tratados (grupo C), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)	
	vivos	mortos
n	17	17
mín	0	0
Q1	12	0
Q2	22	0
Q3	25	0
máx	55	2
média	20,82	0,12
dp	13,68	0,49

dp = desvio padrão

Tabela 15 - Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos pela vitalidade, em camundongos infectados, tratados com Oxamniquine (grupo O), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)	
	vivos	mortos
n	17	17
mín	0	0
Q1	10	0
Q2	14	0
Q3	25	1
máx	42	6
média	17,53	0,71
dp	12,11	1,53

dp = desvio padrão

Tabela 16 - Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos pela vitalidade, em camundongos infectados, tratados com Praziquantel (grupo P), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)	
	vivos	mortos
n	15	15
mín	0	0
Q1	0	0
Q2	0	12
Q3	1	14
máx	8	17
média	1,27	11,27
dp	2,28	5,09

dp = desvio padrão

Tabela 17 - Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos pela localização, em camundongos infectados, não-tratados (grupo C), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)	
	fígado	mesentério
n	17	17
mín	0	0
Q1	0	10
Q2	0	20
Q3	2	24
máx	10	45
média	1,24	19,71
dp	2,49	12,25

dp = desvio padrão

Tabela 18 - Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos pela localização, em camundongos infectados, tratados com Oxamniquine (grupo O), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)	
	fígado	mesentério
n	17	17
mín	0	0
Q1	0	8
Q2	2	14
Q3	2	24
máx	6	36
média	1,76	16,47
dp	1,92	11,35

dp = desvio padrão

Tabela 19 - Estatísticas sumárias referentes aos dados de vermes coletados, distribuídos pela localização, em camundongos infectados, tratados com Praziquantel (grupo P), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Vermes Coletados (#)	
	fígado	mesentério
n	15	15
mín	0	0
Q1	10	0
Q2	14	0
Q3	16	1
máx	18	16
média	11,20	1,33
dp	6,11	4,10

dp = desvio padrão

Tabela 20 - Estatísticas sumárias referentes aos dados das percentagens de vermes coletados no fígado, percentagens de vermes acasalados, percentagens de redução de vermes e percentagens de vermes mortos no fígado, dos camundongos infectados, não-tratados (grupo C), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	% de vermes coletados no fígado	% de vermes acasalados	% de redução de vermes	% de vermes mortos no fígado
n	17	17	17	17
mín	0,00	0,00	0,00	0,00
Q1	0,00	86,96	0,00	0,00
Q2	0,00	100,00	0,00	0,00
Q3	8,33	100,00	0,00	0,00
máx	18,18	100,00	8,33	100,00
média	4,27	84,51	0,49	5,88
dp	6,48	32,48	2,02	24,25

dp = desvio padrão

Tabela 21 - Estatísticas sumárias referentes aos dados das percentagens de vermes coletados no fígado, percentagens de vermes acasalados, percentagens de redução de vermes e percentagens de vermes mortos no fígado, dos camundongos infectados, tratados com Oxamniquine (grupo O), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	% de vermes coletados no fígado	% de vermes acasalados	% de redução de vermes	% de vermes mortos no fígado
n	17	17	17	17
min	0,00	0,00	0,00	0,00
Q1	0,00	93,33	0,00	0,00
Q2	5,88	100,00	0,00	0,00
Q3	15,79	100,00	5,26	33,33
máx	27,27	100,00	20,00	100,00
média	9,33	90,07	3,80	22,55
dp	9,49	24,38	6,61	39,50

dp = desvio padrão

Tabela 22 - Estatísticas sumárias referentes aos dados das percentagens de vermes coletados no fígado, percentagens de vermes acasalados, percentagens de redução de vermes e percentagens de vermes mortos no fígado, dos camundongos infectados, tratados com Praziquantel (grupo P), com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	% de vermes coletados no fígado	% de vermes acasalados	% de redução de vermes	% de vermes mortos no fígado
n	15	15	15	15
min	0,00	0,00	0,00	0,00
Q1	83,33	55,56	68,75	68,75
Q2	100,00	82,35	93,33	94,44
Q3	100,00	90,91	100,00	100,00
máx	100,00	100,00	100,00	100,00
média	78,52	69,21	78,99	80,13
dp	39,89	31,57	34,50	34,76

dp = desvio padrão

Tabela 23 - Estatísticas sumárias referentes aos dados das medidas de comprimento dos vermes, machos e fêmeas, de *Schistosoma mansoni*, isolado de Belo Horizonte, MG.

Estatísticas	Comprimento	
	macho	fêmea
n	96	95
mín	4,88	4,70
Q1	7,11	6,29
Q2	7,53	6,95
Q3	8,18	7,79
máx	16,70	9,76
média	7,78	7,03
dp	1,41	0,98

dp = desvio padrão

Tabela 24 - Suscetibilidade de camundongos infectados com 70 cercárias da geração F₄₁ da linhagem MAP do *Schistosoma mansoni* isolado do município de Belo Horizonte, MG.

Grupo de Tratamento	% de animais com alteração de oograma	% de vermes sobreviventes	% de Eficácia
Controle	0	-	-
Oxamniquine	0	84,18	15,82
Praziquantel	100	6,08	93,92

Tabela 25 - Percentagens acumuladas de moluscos mortos (grupos M1, M2 e M3) e percentagens de positividade (grupos M1 e M2),

Dias de Observação	% de moluscos mortos			% de positividade	
	Grupo M1	Grupo M2	Grupo M3	Grupo M1	Grupo M2
21	5,00	5,00	8,33	0,00	0,00
28	5,00	6,67	8,33	0,00	0,00
35	6,67	8,33	8,33	0,00	0,00
42	15,00	18,33	10,00	0,00	0,00
49	16,67	18,33	13,33	0,00	0,00
56	20,00	18,33	16,67	12,50	0,00
63	21,67	20,00	16,67	14,89	16,67
70	25,00	23,33	20,00	33,33	21,74
77	30,00	25,00	25,00	28,57	17,78