# SUSCETIBILIDADE AO SCHISTOSOMA MANSONI DE HIBRIDOS DE BIOMPHALARIA TENAGOPHILA DO TAIM, RS, CABO FRIO, RJ, E BELO HORIZONTE. MG (\*)

Mairy Barbosa Loureiro dos SANTOS (1), José Rabelo de FREITAS (2), Maria Cândida dos Reis CORREIA (3) e Paulo Marcos Zech COELHO (4)

### RESUMO

Testes de suscetibilidade ao Schistosoma mansoni em híbridos provenientes de cruzamentos de: (a) Biomphalaria tenagophila do TAIM, RS X B. tenagophila de Belo Horizonte, MG; (b) B. tenagophila de Cabo Frio, RJ X B. tenagophila de Belo Horizonte mostraram os seguintes resultados: no cruzamento a, 4.1 e 3.3% em  $F_1 e F_2$  dos caramujos foram susceptíveis ao S. mansoni, e no cruzamento b, as taxas de suscetibilidade foram de 56.7 e 59.2% em  $F_1 e F_2$ . Como controle, foram usados B. tenagophila de Cabo Frio, cuja taxa de suscetibilidade foi de 97.4%. As cercárias produzidas se mostraram infectivas para camundongos, e os vermes resultantes produziram ovos, cujos miracidios apresentaram desenvolvimento normal. Discute-se, baseados nestes resultados, a possibilidade de expansão da transmissão da esquistossomose para regiões indenes, sul do país, e em especial Porto Alegre.

# INTRODUÇÃO

Os primeiros casos autóctones comprovados de transmissão da esquistossomose pela B. tenagophila no Brasil, foram registrados em Santos (MOURA, 1945) e onze anos depois no Vale do Paraíba (CORREA & col.9). No entanto, os primeiros estudos sobre suscetibilidade de B. tenagophila ao S. mansoni no sul do Brasil foram realizados só em 1975, por CHIEFFI e pelo DMAE paralelamente e na Argentina por BORDA & PELLEGRINO 3. Esses estudos mostraram que os caramujos são refratários às cepas de S. mansoni testadas. Estudos anteriores mostraram, contudo, que há possibilidade de caramujos provenientes do cruzamento de cepas refratárias X susceptíveis, resultarem híbridos capazes de transmitir a esquistossomose (RICHARDS & MERRITH 22).

As taxas de infecção natural da B. tenagophila eram relativamente baixas até 1959. Em 33.784 caramujos coletados em 20 localidades do Vale do Paraíba, SP, apenas três apresentaram caramujos positivos com taxas de infecção de 0,03 a 1,42% (PIZA & col. 19). Nessa área foram registrados 401 casos de esquistossomose. O baixo índice de suscetibilidade foi confirmada em laboratório por COELHO 7, que demonstrou grande resistência de caramujos de sete localidades de São Paulo à infecções experimentais.

Algumas populações, contudo, tiveram excepcionalmente índices de infecção relativamente elevadas, apesar das taxas de suscetibilidade se apresentarem em média muito baixas. PIZA & col. <sup>19</sup> registraram índices de até

<sup>(1)</sup> Departamento de Biologia Geral, ICB, UFMG

<sup>(2)</sup> Departamento de Biologia Geral e Grupo Interdepartamental de Estudos sobre Esquistossomose — (GIDE)

<sup>(3)</sup> Grupo Interdepartamental de Estudos sobre Esquistossomose (GIDE)

<sup>(4)</sup> Departamento de Parasitologia e GIDE

<sup>(\*)</sup> Trabalho Financiado pelo CNPq (Miniplan), CVRD, CETEC e FINEP (Financiadora de Projetos)

SANTOS, M. B. L. dos; FREITAS, J. R. de; CORREIA, M. C. dos R. & COELHO, P. M. Z. — Suscetibilidade ao Schistosoma mansoni de híbridos de Biomphalaria tenagophila do Taim, RS, Cabo Frio, RJ e Belo Horizonte, MG. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 21:281-286, 1979.

48%; enquanto RAMOS & col. 20, detetaram taxas de infecção natural de até 51,3%. Em 1969, RAMOS & col. registraram taxas máximas de infecção de 68,1 a 81,3% em localidades do Vale do Ribeiro. PARAENSE & CORREA 15,16, mostraram que as diferenças de taxas deviam-se a uma cepa de S. mansoni (cepa SJ) melhor adaptada a essa espécie de caramujo. Os mesmos Autores (PARAENSE & CORREA 15,16), mostraram anteriormente que havia uma variação em suscetibilidade devido também as características genéticas de cepas de B. glabrata. NEWTON 14, havia relacionado a capacidade de infecção à reação tecidual da cepa e caramujo em experimento.

As grandes diferenças na capacidade de se infectar do caramujo têm sido atribuídas, tanto às cepas do planorbídeo como a dos miracídios, e têm sido sugerido que o grau de suscetibilidade depende da freqüência relativa dos genótipos resistentes e susceptíveis de uma população (BARBOSA & BARRETO 2; COELHO 7; PARAENSE & CORREA 15,16; RAMOS & col.21; RUIZ 24; RICHARDS 23; CORREA, COELHO & FREITAS 10).

O certo é que, a partir de 1969, tem sido observado um aumento nas taxas de suscetibilidade de linhagens brasileiras de B. tenagophila ao S. mansoni. Paralelamente vêm se elevando as taxas de prevalência da doença na região sudeste. Daí a necessidade de ampliar os estudos epidemiológicos sobre essa espécie.

Visando contribuir para o conhecimento do potencial da **B. tenagophila** na expansão da esquistossomose para o litoral do sul do país, foram realizados testes de suscetibilidade de linhagens de **B. tenagophila** de Taim e de Cabo Frio e de híbridos descendentes do cruzamento desses caramujos com os de Belo Horizonte, da mesma espécie.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram usados exemplares de B. tenagophila das seguintes linhagens: albinos de Belo Horizonte (BH), melânicos do Taim, RS, próximo à fronteira com o Uruguai e melânicos de Cabo Frio, RJ, (CF), e como controle a B. tenagophila de Cabo Frio, RJ.

As cepas do S. mansoni usadas foram as SJ, provenientes da região de São José dos

Campos, SP, que é mantida no laboratório em hamster e B. glabrata ou B. tenagophila e a cepa LE, da região de Belo Horizonte.

Os híbridos usados resultaram dos seguintes cruzamentos:

- B. tenagophila albino (BH) X B. tenagophila melânico (TAIM);
- B. tenagophila albino (BH) X B. tenagophila melânico (CF).

A técnica de infecção dos caramujos seguiu, em linhas gerais, a descrita por CORREA & PARAENSE 8. No presente trabalho, foram usados 10 miracídios (de ovos obtidos de fígado de Hamster) por caramujo e cerca e 40 exemplares de caramujos de 4 a 10 mm de diâmetro por experimento.

Os caramujos, após o 30.º e 60.º dia de infecção, eram colocados individualmente em pequenos frascos contendo cerca de 5 ml de água natural, em presença de foco luminoso para eliminação de cercárias. Após três horas, fazia-se pesquisa quanto à sua presença na água, em microscópio esteroscópico. Os que continuavam negativos após o 60.º dia da infecção, eram esmagados entre duas placas de vidro e procuravam-se cercárias do S. mansoni através de microscópio esteroscópico.

Para infecção dos camundongos, as cercárias eram colocadas em contacto com sua pele, previamente raspada, seguindo-se a técnica descrita por BARBOSA 1.

A perfusão dos camundongos para a recuperação e a contagem dos vermes e dos ovos de S. mansoni seguiram as técnicas descritas por PELLEGRINO & SIQUEIRA 18, e PELLEGRINO & FARIA 17, respectivamente.

### RESULTADOS

A B. tenagophila TAIM, mostrou-se refratária à infecção, tanto à cepa SJ quanto à LE de S. mansoni, enquanto a B. tenagophila CF mostrou-se refratária à cepa LE e apresentou uma taxa de suscetibilidade de 97,4% à cepa SJ (Tabela I).

SANTOS, M. B. L. dos; FREITAS, J. R. de; CORREIA, M. C. dos R. & COELHO, P. M. Z. — Suscetibilidade ao Senistosoma mansoni de híbridos de Biomphalaria tenagophila do Taim, RS, Cabo Frio, RJ e Belo Horizonte, MG. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 21:281-286, 1979.

#### TABELAI

Suscetibilidade de linhagens de Biomphalaria tenagophila do Taim, RGS e Cabo Frio, RJ, às cepas SJ e LE de Schistosoma mansoni. (SJ = São José dos Campos, SP e LE = Belo Horizonte, MG)

Biomphalaria (procedência)	Linhagens de S. mansoni	Período prepatente	Caramujos utilizados	Caramujos examinados	Caramujos que eliminaram	Positivos
	usados				cercárias	(%)
B. tenagophila				•	<del></del>	
Taim, RGS	SJ	32-60	43	41	_	_
B. tenagophila				5.5		
Taim, RGS	LE	30-45	80(*)	80	_	<b>—</b>
B. tenagophila						
Cabo Frio, RJ	SJ	30-39	40	38	37	97,4
B. tenagophila						
Cabo Frio, RJ	LE(**)	31-63	40	40		

<sup>(\*)</sup> Infecção em massa

<sup>(\*\*)</sup> Dados obtidos em trabalho paralelo (CORREA & col. 1979)

ANTECEDENTES DE VACINAÇÃO
Entrevistadores
Ficha n.º
N.º ordem  Nome  Caderneta de vacinação ( )Sim ( )Não  BCG ( ) Oral ( )Intradérmico ( )Nenhum ( )Ignorado  Informação obtida na caderneta de vacinação ( )Sim ( )Não  Local onde foi vacinado
Data da vacinação
VACINA TRÎPLICE: ( )Uma ( )Duas ( )Três ( )Reforço ( )Nenhuma ( )Ignorado Informação obtida na caderneta de vacinação ( )Sim ( )Não Local onde foi vacinado
Data da última dose  SABIN ()Uma ()Duas ()Três ()Reforço ()Nenhuma ()Ignorado  Informação obtida na caderneta de vacinação ()Sim ()Não  Local onde foi vacinado
Data da última dose

Cicatriz Vacinal ()Sim ()Não

Informação obtida na caderneta de vacinação ()Sim ()Não Local onde foi vacinado
Data da vacinação
Informação obtida na caderneta de vacinação ()Sim ()Não
Local onde foi vacinado
Data da vacinação
ANTI-MENINGOCÓCICA ()Sim ()Não ()Ignora
Local onde foi vacinado
Data da vacinação

Cinquenta exemplares de hibridos (F<sub>1</sub>), descendentes do cruzamento de B. tenagophila TAIM X B. tenagophila BH, submetidos à infecção com cepa de S. mansoni SJ mostraram-se com 4,1% de positividade. E 50 caramujos (F<sub>2</sub>), descendentes por autofecundação destes F<sub>1</sub>, apresentaram uma suscetibilidade de 3,3%.

Quarenta híbridos (F<sub>1</sub>), resultantes do cruzamento de **B. tenagophila** CF X **B. tenagophila** BH, foram submetidos à infecção pelo S. mansoni, acusando um resultado de 56,7% de suscetibilidade. Os F<sub>2</sub>, descendentes de autofecundação destes F<sub>1</sub>, apresentaram 59,2% de positividade dentro de uma amostra de 55 caramujos (Tabela II).

SANTOS, M. B. L. dos; FREITAS, J. R. de; CORREIA, M. C. dos R. & COELHO, P. M. Z. — Suscetibilidade ao Schistosoma mansoni de híbridos de Biomphalaria tenagophila do Taim, RS, Cabo Frio, RJ e Belo Horizonte, MG. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 21:281-286, 1979.

TABELA II

Suscetibilidade de linhagens de Biomphalaria tenagophila à cepa SJ de Schistosoma mansoni (\*)

Procedência de P	Descen- dentes usados	Linhagem do S. mansoni	Período prepa- tente (dias)	Caramujos utilizados	Caramujos examina- dos	Caramujos que eli- minaram cercárias	Positivos (%)
B. tenagophila Taim X BH	$\mathbf{F_1}$	sj	33-61	50	49(**)	2	4,1
B. tenagophila Cabo Frio X BH	F <sub>1</sub>	SJ	32-60	40	37	21	56,7
B. tenagophila Taim X BH	F <sub>2</sub> (***)	SJ	33-61	55	30	1 (melânico)	3,3
B. tenagophila Cabo Frio X BH	F <sub>2</sub>	SJ	33-61	55	49	29	59,2

<sup>(\*)</sup> SJ = São José dos Campos, SP

#### DISCUSSÃO

Os experimentos desenvolvidos com a linhagem de caramujos do Taim, na fronteira com o Uruguai, além de visar a obtenção de novos dados sobre a suscetibilidade de B. tenagophila do sul do país, visou também testar os híbridos, uma nova alternativa para verificar o potencial de suscetibilidade destes caramujos, já que os caramujos de uma cepa paterna procedente do sul novamente se mostraram 100% refratários à infecção pelo S. mansoni.

Os primeiros estudos sobre suscetibilidade de B. tenagophila ao S. mansoni no sul do Brasil, foram iniciados em 1972, em Porto Alegre, pelo Centro de Estudos de Saneamento Básico (CESB), tendo sido apresentados os resultados no VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária, pelo DMAE, em dezembro de 1975. Dezenas de estações de coletas foram demarcadas nos rios Guaíba, Gravataí e em diversos riachos, arroios, lagos, represas e valas de irrigação, onde foram coletados 690 exemplares de B. tenagophila, a espécie de maior densidade. Foram capturados também outras espécies de planorbídeos, inclusive a B. straminea. Todos os caramujos foram examinados e nenhum exemplar se apresentou positivo para o S. mansoni.

A primeira tentativa de infectar a B. tenagophila no sul do Brasil, deve-se contudo, a CHIEFFI<sup>5</sup>, cujos resultados foram publicados em março de 1975. Nesse trabalho, mostrou-se que a **B. tenagophila** de Londrina foi resistente à infecção pelas cepas de **S. mansoni** de Londrina, São José dos Campos (SJ) e da Guanabara.

Outra tentativa em infectar B. tenagophila do Sul, foi realizada por BORDA & PELLE-GRINO 3, que testaram duas cepas de S. mansoni do Brasil em linhagem de caramujo de Puerto Hermigueiro (Corrientes, Argentina), não tendo logrado sucesso. Inclusive os hibridos de B. tenagophila (F1) se mostraram refratários às cepas testadas. Os resultados obtidos mostraram o total resistência da cepa paterna do caramujo do sul à infecção e confirmaram os dados dos pesquisadores citados. Contudo, julgamos que a B. tenagophila do sul do continente ainda não foi exaustivamente testada e que a nula ou baixa prevalência humana da doença na região das cepas do S. mansoni é fator que desfavorece a infecção ou ajustamento aos moluscos locais que ocorrem em numerosos habitats. Por outro lado, admitindo-se que a esquistossomose, transmitida pela B. tenagophila, se estabeleceu primeiramente no sudeste (São Paulo) e se encontra em fase de expansão, não se pode desprezar a hipótese de que venha a se estabelecer também no sul do Brasil e países vizinhos, auxiliada pelas correntes migratórias e pelo potencial de

<sup>(\*\*) 28</sup> dissecados, todos negativos

<sup>(\*\*\*)</sup> obtidos de autofecundação de F,

SANTOS, M. B. L. dos; FREITAS, J. R. de; CORREIA, M. C. dos R. & COELHO, P. M. Z. — Suscetibilidade ao Schistosoma mansoni de hibridos de Biomphalaria tenagophila do Taim, RS, Cabo Frio, RJ e Belo Horizonte, MG. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 21:281-286, 1979.

adaptação das cepas do S. mansoni que contarão com as diversas linhagens de B. tenagophila do sul.

A expansão poderá ser acelerada de várias maneiras dentre elas, destacam-se: a) pela migração e fixação de uma linhagem susceptível da B. tenagophila no RS, como parece ter ocorrido em Belo Horizonte; b) fixação de uma cepa do S. mansoni, pré-adaptada ao caramujo do sul, como ocorreu em São José dos Campos; c) pela dispersão passiva do caramujo susceptível para o sul, seguida de seu cruzamento com linhagem local e o desenvolvimento de nova população a partir de híbridos. Isso levando em conta que a cepa susceptível paterna, encontraria, devido o problema de adaptação ecológica, dificuldade em se fixar nas regiões do sul, o que seria atenuado nos híbridos, pois estes apresentarão maior plasticidade gênica que a linhagem paterna do sudeste.

Os híbridos do cruzamento de **B. tenago**phila TAIM X **B. tenago-phila** BH, apresentaram-se com taxas de suscetibilidade relativamente baixas, 4.1 e 3.3% em  $F_1$  e  $F_2$  respectivamente. Tais índices são concordantes em parte com os encontrados por outros Autores em híbridos de **B. glabrata**.

PARAENSE & CORREA <sup>16</sup>, em testes de suscetibilidade de **B.** glabrata híbridos de Santa Luzia X Salvador, encontraram em F<sub>1</sub> taxas de suscetibilidade de 13,3% e 14,6% e de 28,2% em F<sub>2</sub>. Em híbridos de Santa Luzia X Recife as taxas foram de 1,4% em F<sub>1</sub>. Esses Autores verificaram que houve um aumento da suscetibilidade em F<sub>2</sub> (28,2%). BORDA & PELLEGRINO <sup>3</sup>, observaram também um aumento de suscetibilidade de híbridos de **B.** glabrata em P de 23,7 para 46,0% em F<sub>1</sub>.

A variação de suscetibilidade depende da estrutura gênica as cepas do S. mansoni e das linhagens da espécie de caramujo testada. Isso foi largamente demonstrado para B. glabrata, a partir de trabalhos de FILES & GRAM 12 e NEWTON 14 e PARAENSE & CORREA 16.

No entanto, a suscetibilidade intermediária atribuída aos híbridos precisa ser melhor definida. RICHARDS & MERRITH <sup>22</sup>, obtiveram em F, 50% susceptíveis. Autofecundação de refratários deu 100% de refratários, enquan-

to a autofecundação de suscetibilidade aumentou em F<sub>2</sub>.

O cruzamento de cepas refratárias com descendentes de indivíduos de outra cepa susceptíveis deram 0 a 26% de susceptíveis. Baseado nisto, os Autores sugeriram que a combinação genética de fatores de suscetibilidade pode ser diferente em vários estoques, e que estoques refratários podem transmitir fator de suscetibilidade. O significado de refratário adotado por RICHARDS & MERRITH 22 difere do seu sentido usual. Para eles, são considerados também refratários, os individuos que não se infectam, de uma linhagem considerada susceptível. Estes individuos na realidade constituem uma amostra de refratários de uma população susceptível.

O estoque de caramujos do GIDE, linhagem de Belo Horizonte, composta de indivíduos susceptíveis e refratários, têm apresentado uma taxa de infecção mais ou menos constante; 50 a 60% dos indivíduos se infectam desde há 18 anos através de mais de 40 gerações sucessivas. Sempre que se retiram do GIDE, alguns caramujos para começar nova criação, estes indivíduos carregam consigo o fator de suscetibilidade, CASTANHEIRA 4. Qualquer amostra desta na nova criação tem apresentado a mesma taxa de suscetibilidade.

# SUMMARY

Susceptibility of Biomphalaria tenagophila hybrids to Schistosoma mansoni: crossing between strains from Taim (RS), Cabo Frio (RJ), and Belo Horizonte (MG), Brasil

Hybrids of Biomphalaria tenagophila from Taim (RS) crossed with B. tenagophila from Belo Horizonte (MG) showed a Schistosoma mansoni infection rate of 4.1 and 3.3% ( $F_1$  and  $F_2$ , respectively)). On the other hand, the crossing between B. tenagophila from Cabo Frio (RJ) and from Belo Horizonte (MG) presented a S. mansoni infection rate of 56.7 and 59.2% ( $F_1$  and  $F_2$ , respectively). B. tenagophila from Cabo Frio (RJ) were used as control, and showed an infection rate of 97.4%.

The cercariae obtained produced normal infection in mice, and the worms layed eggs with normal development.

SANTOS, M. B. L. dos; FREITAS, J. R. de; CORREIA, M. C. dos R. & COELHO, P. M. Z. — Suscetibilidade ao Schistosoma mansoni de híbridos de Biomphalaria tenagophila do Taim, RS, Cabo Frio, RJ e Belo Horizonte, MG. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 21:281-286, 1979.

The results were used to discuss the widespreading possibility of schistosomiasis in South of Brazil, especially in Porto Alegre (RS).

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, M. A. Migração e assincronismo evolutivo do Schistosoma mansoni (Sambon, 1907) em camundongos albinos (Musmusculus) infectados transcutaneamente, [Tese de Mestrado]. Departamento de Parasitologia, ICB/UFMG, 1976.
- BARBOSA, F. S. & BARRETO, A. C. Differences in susceptibility of Brazilians strains of Australorbis glabratus to Schistosoma mansoni. Exptl. Parasit. 9: 137-140, 1960.
- BORDA, C. E. & PELLEGRINO, J. Susceptibilidade de Biomphalaria tenagophila X E. glabrata a dos cepas de Schistosoma mansoni. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 18: 157-164, 1976.
- CASTANHEIRA, E. B.; CARVALHO, H. C. & PELLE-GRINO, J. Aspectos genéticos e susceptibilidade de Biomphalaria glabrata à infecção pelo Schistosoma mansoni. Ciência e Cultura 26: 260, 1974.
- 5. CHIEFFI, P. P. Susceptibilidade à infecção por Schistosoma mansoni de cepas de Biomphalaria tenagophila originárias dos Estados de São Paulo e Paraná. Ciência e Cultura 25: 452, 1973.
- CHIEFFI, P. P. Susceptibilidade à infecção por Schistosoma mansoni de cepas de Biomphalaria tenagophila originárias dos Estados de São Paulo e Paraná. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 17: 92-96, 1975.
- COELHO, M. V. Susceptibilidade de Australorbis tenagophila à infecção por Schistosoma mansoni. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 5: 289-295, 1962.
- CORREA, L. R. & PARAENSE, W. L. Susceptibility
  of Biomphalaria amazonica to infection with two
  strains of Schistosoma mansoni. Rev. Inst. Med. trop.
  São Paulo 13: 387-390, 1971.
- CORREA, R. R.; CODA, D. & OLIVEIRA, V. A. Um foco autóctone de esquistossomose no Vale do Paraíba. Folha Clin. Biol. 26; 85-90, 1956.
- CORREA, M. C. R.; COELHO, P. M. Z. & FREITAS,
   J. R. Susceptibilidade de linhagens de Biomphalaria tenagophila e Biomphalaria glabrata as duas cepas do Schistosoma mansoni (LE Belo Horizonte, MG e SJ São José dos Campos, SP). Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 21: 72-76, 1979.
- DMAE Ocorrência de Biomphalaria na cidade de Porto Alegre. Comunicação prévia. Centro de Estudos de Saneamento Básico — CESB, DEMAE — VIII Congr. Bras. Eng. Sanit. RJ, Publ. do DMAE — Broch. 72 pg. — Dez. 1975.
- FILES, V. S. & CRAM, E. B. A study on the comparative susceptibility of snail vectors to strains of Schistosoma mansoni. J. Parasit. 35: 555-560, 1949.

- MOURA, S. A. L. Contribuição do Laboratório Regional de Santos na epidemiologia da Esquistossomose mansoni em Santos. Rev. Inst. Adolfo Lutz 12: 97-100, 1945.
- NEWTON, W. L. The inheritance of susceptibility to infection with Schistosoma mansoni in Australorbis glabratus, Exptl. Parasit. 2: 242-257, 1953.
- 15. PARAENSE, W. L. & CORREA, L. R. Variation in susceptibility of populations of Australorbis glabratus to a strain of Schistosoma mansoni. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 5: 15-22, 1963.
- PARAENSE, W. L. & CORREA, L. R. Susceptibility of Australorbis tenagophilus to infection with Schistosoma mansoni. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 5: 23-29, 1963.
- PELLEGRINO, J. & FARIA, J. The oogram method for the screening of drugs in schistosomiasis mansoni.
   Am. J. Trop. Med. & Hyg. 14: 363-369, 1965.
- PELLEGRINO, J. & SIQUEIRA, A. F. Técnica de perfusão para colheita de Schistosoma mansoni em cobaias experimentalmente infestadas. Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop. 8: 589-597, 1956.
- PIZA, J. T.; RAMOS, A. S.; BRANDÃO, C. S. H.; FI-GUEIREDO, C. G. & CAMARGO, L. S. V. Vale do Paraíba, Foco endêmico de esquistossomose. Arq. Hig. Saúde Públ. 25: 35-40. 1960.
- RAMOS, A. S.; PIZA, J. de T. & CAMARGO, L. S. V. de — Observações sobre Australorbis glabratus transmissor da esquistossomose mansônica. Arq. Hig. Saúde Públ. 26: 121-124, 1961.
- 21. RAMOS, A. S.; PIZA, J. T.; PINTO, G. J.; TION, T.; FLEURY, G. C.; MORAIS, L. V. C. & CAMPOS, L. L. — Focos ativos de esquistossomose mansoni no Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. Rev. Saúde Públ. 3: 59-65, 1969.
- RICHARDS, C. S. & MERRITH Genetic factors in the susceptibility of juvenile Biomphalaria glabrata to Schistosoma mansoni. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 21: 425-434, 1972.
- RICHARDS, C. S. Genetic factors in susceptibility of Biomphalaria glabrata for different strains of Schistosoma mansoni. Parasitology 70: 231-241, 1975.
- 24. RUIZ, R. A. Infecção experimental de exemplares de Biomphalaria straminea capturados na região da Transamasônica. Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop. 26-27: 105-108, 1975.

Recebido para publicação em 10/5/1979.