

## MICROSCOPIA DE VARREDURA ("SCANNING") NA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI. I — ASPECTOS MORFOLÓGICOS RELACIONADOS COM A AÇÃO CERCARICIDA DO SORO DE COBAIO

Silvia Elisabeth GERKEN<sup>(1)</sup>, Urara KAWAZOE<sup>(2)</sup>, J. PELLEGRINO<sup>(3)</sup>  
e Tomosaburo YAMAZATO<sup>(4)</sup>

### RESUMO

Autores que estudaram a ação cercaricida provocada por soros de vários vertebrados observaram, como um de seus efeitos paralelos, a formação de precipitados em torno das cercárias. Estes precipitados puderam ser por nós constatados utilizando microscopia eletrônica de varredura. Os precipitados são muito abundantes, cobrindo totalmente as cercárias, quando as mesmas são postas em contato com soro normal de cobaio não inativado. Ao contrário, a inativação do soro a 56°C por 30 minutos diminuiu consideravelmente a atividade letal do soro, havendo formação de esparsos e finos precipitados. Observações de DIAS DA SILVA<sup>2</sup> (comunicação pessoal) demonstram que o fenômeno referido está ligado à ação do complemento.

### INTRODUÇÃO

Vários Autores têm estudado o efeito da ação do soro de vertebrados sobre diversas espécies de cercárias que infestam o homem e outros animais.

CULBERTSON<sup>1</sup>, confirmando as observações feitas por TUBANGI & MASILUCAN<sup>7</sup>, demonstrou que o soro normal (não imune) de várias classes de vertebrados apresenta atividade cercaricida quando em contato com cercárias de espécies que não infestam o homem. A maioria dos soros utilizados mostraram-se ativos pelo menos contra algumas espécies de cercárias.

Observações semelhantes foram feitas também por STANDEN<sup>5</sup> que, colocando cercárias de *Schistosoma mansoni* em contato com so-

ro normal de vários mamíferos, demonstrou, na maioria desses, a existência de um fator cercaricida. Este efeito foi constatado, em graus variáveis, no soro de todas as espécies investigadas.

STIREWALT & EVANS<sup>6</sup> observaram que o soro de vários mamíferos apresentam certo grau de atividade cercaricida para o *Schistosoma mansoni*. Os soros testados produziram o aparecimento de precipitado granular ou globular, inicialmente em volta da cauda e, posteriormente, com maior frequência, envolvendo o corpo do parasito.

Os Autores acima citados observaram as modificações sofridas pelas cercárias quanto à sua motilidade e aparecimento de altera-

(1) Departamento de Zoologia e Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG

(2) Departamento de Parasitologia da Universidade Estadual de Campinas e bolsista da CAPES

(3) Grupo Inter-Departamental de Estudos sobre Esquistossomose, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais

(4) Companhia Brasileira de Tecnologia Nuclear, Belo Horizonte

Contribuição n.º 27 do Grupo Inter-Departamental de Estudos sobre Esquistossomose

Endereço para separatas: Instituto de Ciências Biológicas, Caixa Postal 1404, 30000 Belo Horizonte, Brasil

ções da superfície, ao microscópio comum. O aparecimento da microscopia eletrônica de varredura veio permitir estudos mais aprofundados das modificações morfológicas relacionadas com a ação cercaricida. A este respeito, observações preliminares foram realizadas por MORIEARTY<sup>4</sup>, utilizando soro normal de *Macaca mulatta*. Foi então constatado que as cercárias ficavam cobertas com uma camada de precipitado amorfo, mais frequente na cauda que no corpo.

No presente trabalho realizou-se, em microscopia eletrônica de varredura, um estudo dos aspectos morfológicos relacionados com a ação cercaricida do soro normal de cobaio, pois, segundo STANDEN<sup>5</sup>, o soro deste animal é o que apresenta mais pronunciada tal atividade.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Cercárias de *Schistosoma mansoni* (amostra LE) foram obtidas expondo-se à luz artificial exemplares de *Biomphalaria glabrata*, infestados experimentalmente.

Segundo a técnica utilizada por STANDEN<sup>5</sup>, as cercárias foram colocadas em contato com uma mistura de soro normal de 4 cobaios (uma gota de água com 100 cercárias para 19 gotas da mistura de soros). Foram utilizados soros de cobaio não inativado e inativado a 56°C durante 30 minutos. Para tanto foi seguida a técnica de HOCKLEY<sup>3</sup> que consta da lavagem do material em tampão fosfato (pH 7,2), fixação em glutaraldeído a 3% durante 2 horas a 4°C, e posterior lavagem em tampão. A desidratação deste material foi feita em série de alcoóis: 25, 50, 75 e 100%. A suspensão final foi transferida para porta-amostras metálicos, secada a temperatura ambiente e metalizada com grafite e ouro platina (metabilizador JEOL modelo JEE 4C). As observações e fotografias foram feitas em microscópio JEOL — modelo JSM-U3.

#### RESULTADOS

A superfície do corpo da cercária normal mostra a presença de numerosos espinhos des-

de a ventosa oral (Fig. 1-C) até a extremidade posterior. Já na região da cauda, os poucos espinhos encontrados e as múltiplas dobras não apresentam uniformidade em sua disposição (Fig. 2-C).

Após a incubação das cercárias de *S. mansoni* no soro de cobaio não inativado, foi constatado o aparecimento de um precipitado irregular e espesso em volta do corpo e da cauda encobrindo completamente os detalhes da estrutura externa (Fig. 1-A, B, D; Fig. 2-A, B e D). A disposição do precipitado não foi uniforme em toda a superfície da cercária, mostrando maior condensação em certas regiões (Fig. 1-A, B; Fig. 2-A). Exame mais detalhado do precipitado mostra sua superfície com aspecto irregular, muitas vezes semelhante a "couve-flor" (Fig. 2-A). Na região anterior do corpo foi observada, frequentemente, a presença de abundante precipitado ao nível da ventosa oral (Fig. 1-A e D).

Quando a incubação das cercárias era feita com soro inativado, somente foram observados, com pequena frequência, grânulos e precipitados restritos a algumas regiões, principalmente do corpo (Fig. 3-A, B), deixando inalterado o resto da superfície, com seus espinhos característicos (Fig. 3-C, D).

#### DISCUSSÃO

Alguns Autores que estudaram a atividade cercaricida de soros de vertebrados observaram, como um de seus efeitos paralelos, a formação de precipitados na superfície das cercárias. Precipitados granulares e globulares foram evidenciados por STREWALT & EVANS<sup>6</sup>, quando utilizaram soro de cobaio, rato e coelho. Este tipo de reação, porém, não foi verificado por STANDEN<sup>5</sup> com soro de cobaio, bem como por TUBANGI & MASILUNGAN<sup>7</sup> e CULBERTSON<sup>1</sup> com o uso do soro de outros vertebrados. MORIEARTY<sup>4</sup>, por outro lado, havia verificado este fenômeno em microscopia eletrônica de varredura, utilizando soro de macaco. A deposição do precipitado era mais frequente sobre a cauda do que sobre o corpo das cercárias.

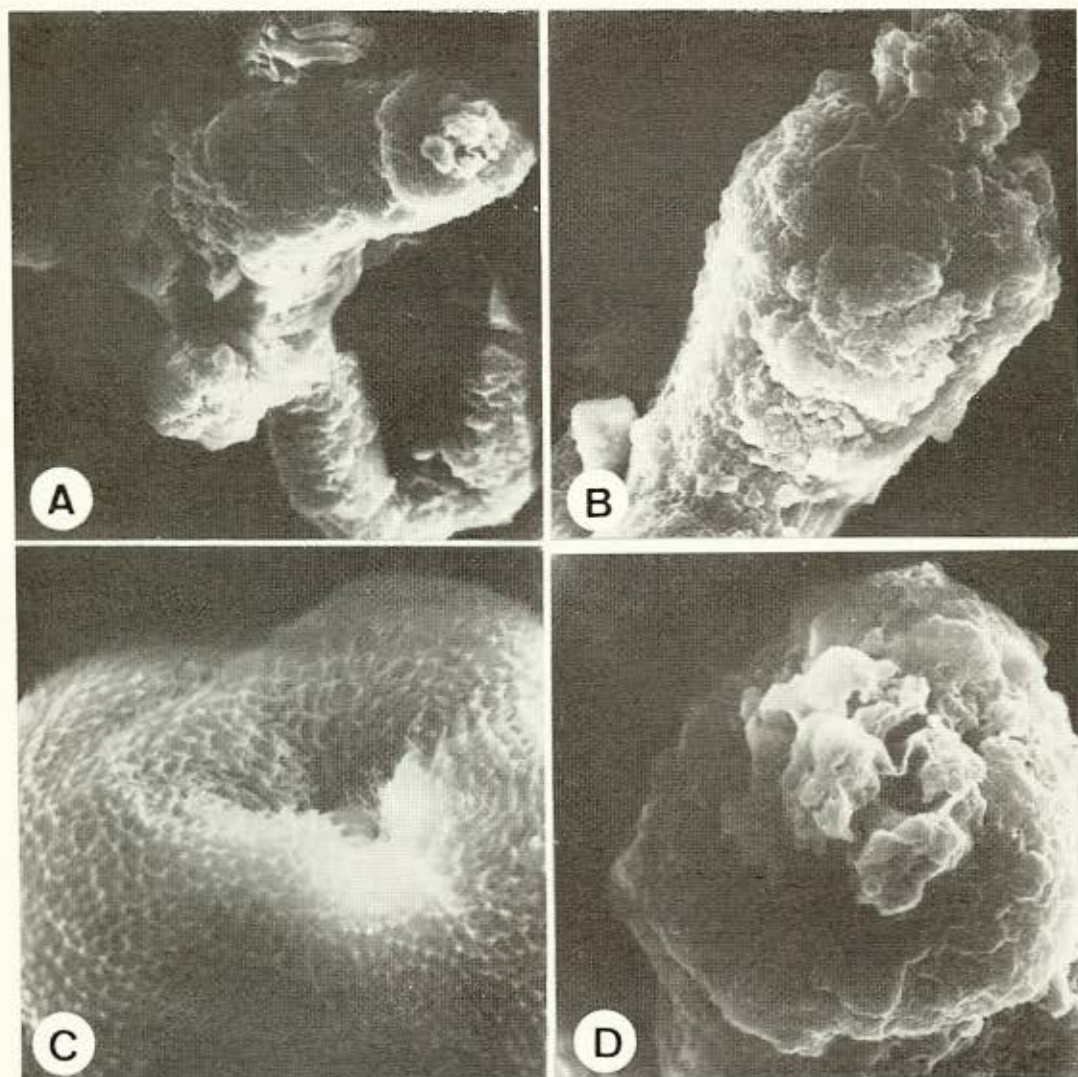


Fig. 1 — Cercárias de *Schistosoma mansoni* normal (C) e após serem submetidas a soro normal não inativado de cobaio (A, B e D)

- A. Presença de precipitado espesso envolvendo toda a cercária (soro não inativado de cobaio). Aumento 2 400 ×
- B. Precipitados no corpo e na região da junção corpo-cauda (soro não inativado de cobaio). Aumento 3 120 ×
- C. Ventosa oral de cercária normal. Aumento 7 200 ×
- D. Ventosa oral da cercária com precipitados, depois de ter sido submetida à ação do soro não inativado de cobaio

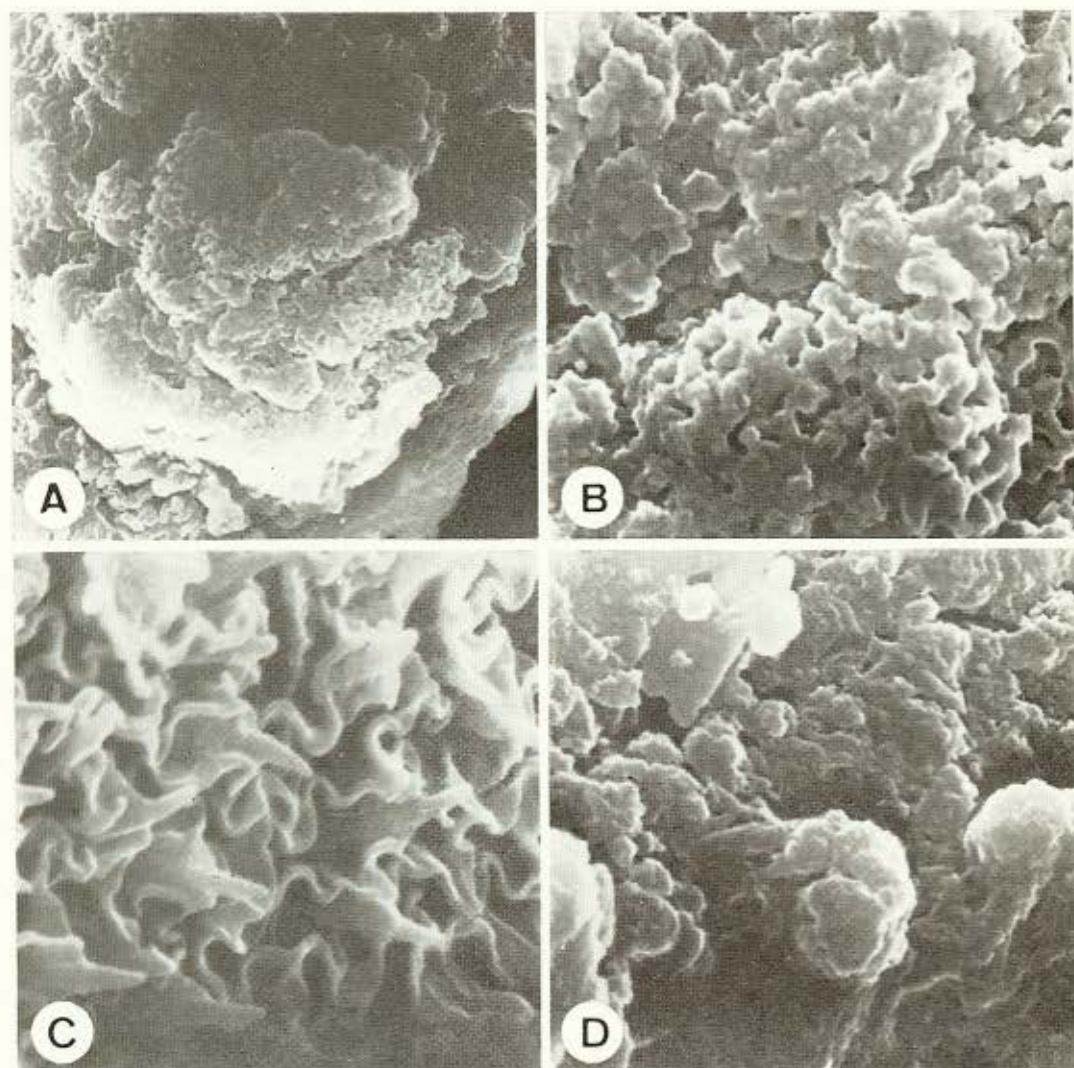


Fig. 2 — Cercárias de *Schistosoma mansoni*: detalhes do precipitado (A, B e D) e da estrutura normal (C)

- A. Aspecto do corpo com precipitado (formação semelhante a "couve-flor", soro normal não inativado de cobaio). Aumento 7 200 ×
- B. Aspecto mais detalhado do precipitado anterior. Aumento 24 000 ×
- C. Estrutura normal da cauda evidenciando as dobras e raros espinhos. Aumento 12 000 ×
- D. Superfície da cauda mostrando precipitado (soro normal não inativado de cobaio). Aumento 24 000 ×

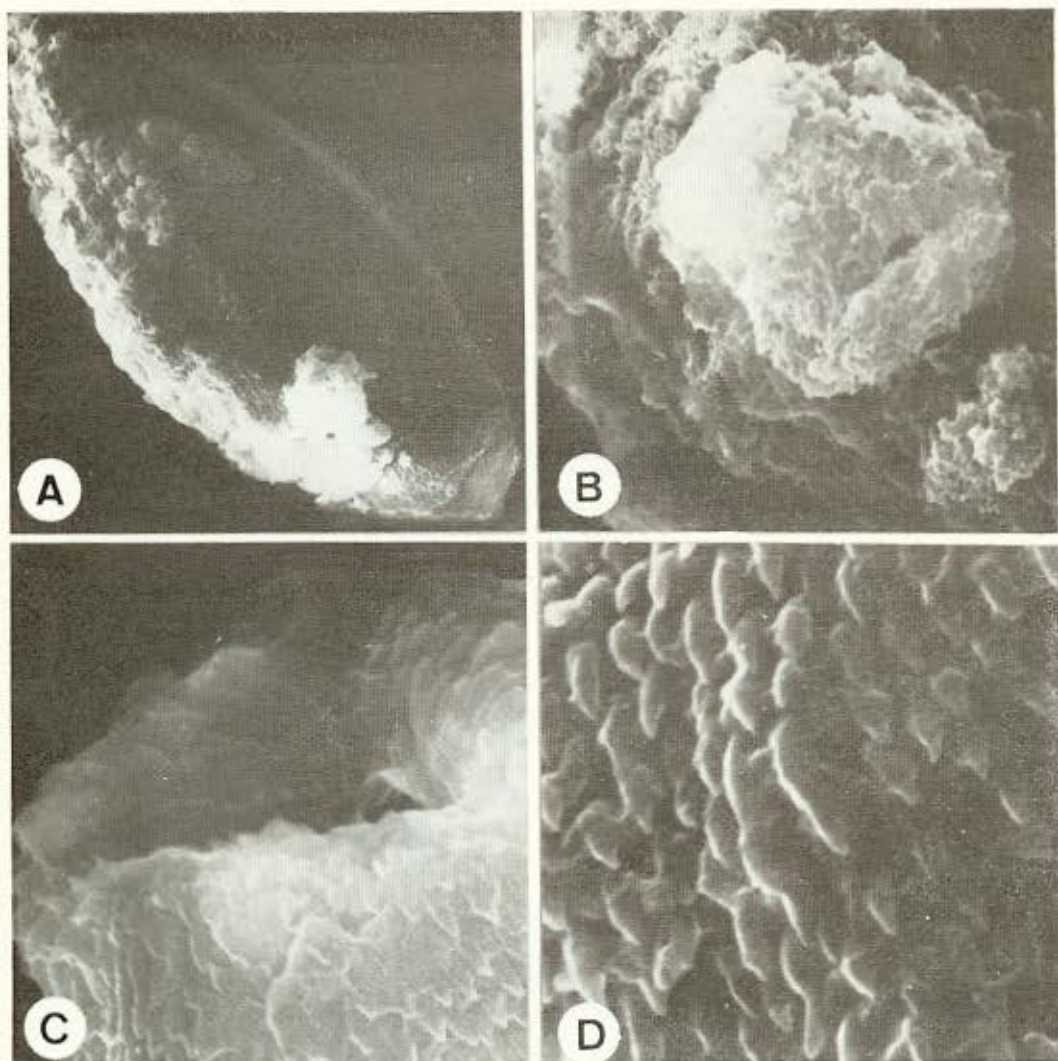


Fig. 3 — Cercárias de *Schistosoma mansoni* submetidas a soro normal inativado de cobaio

- A. Corpo com precipitados esparsos (soro normal inativado de cobaio). Aumento 1 200 ×
- B. Detalhe de um precipitado formado no corpo (soro normal inativado de cobaio). Aumento 6 000 ×
- C. Ventosa oral com aspecto normal (soro normal inativado de cobaio). Aumento 8 160 ×
- D. Superfície do corpo com os espinhos normais característicos (soro normal inativado de cobaio). Aumento 12 000 ×

Utilizando soro de cobaio, que STANDEN<sup>5</sup> classificara como possuidor de ação fortemente cercaricida, foi por nós constatado que este soro provocou o aparecimento de precipitado intenso e abundante em toda a superfície da cercária.

O soro dos vários animais estudados pelos Autores mencionados, quando inativados a 56°C durante 30 minutos, perderam a atividade cercaricida, bem como a capacidade de formar precipitados. O mesmo fato foi por nós verificado com soro normal de cobaio. Entretanto, quando as cercárias foram expostas a soro inativado de cobaio, somente ocorreu o aparecimento de precipitados leves e esparsos no corpo das mesmas.

A substância sérica responsável pela ação cercaricida é altamente lábil sendo facilmente destruída pelo calor ou pela dessecação e rapidamente perdida quando estocada a baixa temperatura. STANDEN<sup>5</sup> havia sugerido que esse fator seria devido ao complemento, embora MORIEARTY<sup>4</sup> tenha mostrado que a simples propriedade de ser lábil não justificaria a implicação do complemento como ligado a este efeito. No entanto, DIAS DA SILVA<sup>2</sup> (comunicação pessoal), em recentes estudos, demonstrou que o fator responsável por esta ação é devido ao complemento, confirmando, desta forma, a suspeita de STANDEN<sup>5</sup>.

#### S U M M A R Y

*Scanning electron microscopy in schistosomiasis mansoni. I — Morphological aspects in connection with the cercaricidal activity of guinea-pig serum*

The formation of precipitates coating the cercariae of *S. mansoni* has been demonstrated by several Authors. The precipitates have now been studied by the scanning elec-

tron microscopy. When cercariae of *S. mansoni* are exposed to normal, non-inactivated guinea-pig serum, coarse precipitates are formed around the cercariae, directly linked to the cercaricidal activity of the serum. However, by inactivation of the guinea-pig serum (56°C, 30 minutes) the intensity of precipitates drops drastically: only small ones are seen around the cercariae, especially in the body region. Recent observations by DIAS DA SILVA<sup>2</sup> (personal communication) demonstrate that the phenomenon is directly linked to the activity of complement.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CULBERTSON, J. T. — The cercaricidal action of normal serum. *J. Parasit.* 22:111-125, 1936.
2. DIAS DA SILVA, W. — (comunicação pessoal).
3. HOCKLEY, D. J. — Scanning electron microscopy of *Schistosoma mansoni* cercariae. *J. Parasit.* 56:1241-1243, 1968.
4. MORIEARTY, P. L. — *Scanning electron microscopy of immature schistosomes*. Tese de mestrado. Chicago, Illinois, 1969.
5. STANDEN, O. D. — The *in vitro* effect of normal and immune serum upon the cercariae of *Schistosoma mansoni*. *J. Helmit.* 26: 25-42, 1952.
6. STIREWALT, M. A. & EVANS, A. S. — Serologic reactions in *Schistosoma mansoni* infections. I — Cercaricidal, precipitation, agglutination, and CHR phenomena. *Expl. Parasit.* 4:123-142, 1955.
7. TUBANGI, M. A. & MASILUGAN, V. A. — Studies on the cercaricidal property of the sera of vertebrate animals. *Philipp. J. Sci.* 60:393-398, 1936.

Recebido para publicação em 19/12/1972.