

A COBAIA E O COELHO COMO FONTES DE OBTENÇÃO DE ESQUISTOSSOMOS

J. PELLEGRINO *

RESUMO

Foi feito um estudo comparativo entre a cobaia e o coelho como fontes de obtenção de esquistossomos (*S. mansoni*). Vinte e sete cobaias foram infectadas com 4.000 a 5.000 cercárias e 18 coelhos com 20.000 a 30.000 cercárias, por via transcutânea. Decorridos 60 a 70 dias, os animais foram sacrificados e os esquistossomos localizados no fígado e vasos mesentéricos retirados por perfusão.

Um total de 27.867 esquistossomos foi recolhido das cobaias (1.032 ± 134 vermes por animal) e dos coelhos foram obtidos 48.048 vermes (2.669 ± 575 por animal). Nas cobaias 72,3% dos esquistossomos estavam localizados no mesentério e, no coelho, apenas 30,8% aí se encontravam. A percentagem de cercárias recuperadas como esquistossomos foi de 22,3% e 11,5%, respectivamente para a cobaia e o coelho. Foi calculado o número de esquistossomos necessário para perfazer 1 grama de material: 22.000 para a cobaia e 27.000 para o coelho.

Para a obtenção de esquistossomos (*S. mansoni*), a cobaia apresenta sôbre o coelho uma série de vantagens: melhor desenvolvimento dos vermes, traduzido pelo maior pêso, maior percentagem de recuperação e migração para os vasos mesentéricos; animal mais barato, mais fácil de ser mantido no laboratório e de ser perfundido (um técnico treinado pode perfundir 10 ou mais cobaias por dia).

INTRODUÇÃO

Para a realização de levantamentos sorológicos em larga escala é necessário que se disponha de material básico em quantidade apreciável para o preparo de antígenos. Quando o material básico é representado por esquistossomos, assume grande importância a escolha de um animal adequado para que se tenha um bom rendimento, dentro de condições economicamente satisfatórias. Os seguintes animais de laboratório podem ser utilizados com esta finalidade: camundongo, hamster, cobaia e coelho. Os dois primeiros podem fornecer, individualmente, um número reduzido de esquistossomos: 20 a 30 para o camundongo e aproximadamente 200 para o hamster. Entretanto, o emprêgo de técnicas simplificadas de perfusão aumenta o rendimento pois possi-

bilita a colheita dos esquistossomos em apreciável número de animais (RADKE, BERRIOS-DURAN & MORAN⁴) em tempo relativamente curto.

Desde 1955 temos utilizado a cobaia como fonte de esquistossomos para o preparo de antígenos, com resultados satisfatórios (PELLEGRINO & SIQUEIRA³) e na literatura encontram-se referências à obtenção de elevado número de vermes (até 6.000) de coelhos infectados com cercárias de *S. mansoni* (SCHUBERT⁶, MILLIMANN & MERGENHAGEN¹).

No presente trabalho estudamos, comparativamente, o rendimento na obtenção de esquistossomos pela infecção de cobaias e coelhos com cercárias de *S. mansoni*.

* Instituto Nacional de Endemias Rurais, Centro de Pesquisas de Belo Horizonte e Instituto de Biologia, Faculdade de Filosofia da Universidade de Minas Gerais.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e contagem de cercárias para infecção dos animais — Exemplares de *A. glabratus* naturalmente infestados pelo *S. mansoni* foram separados em grupos de 20 a 50 em beakers contendo cerca de 300 ml de água desclorada e em seguida expostos à luz artificial por 1 a 2 horas. O líquido contendo as cercárias foi filtrado através de 4 camadas de gaze para reter fezes dos caramujos e outros detritos, e o número de cercárias determinado pela média de contagens em 3 amostras de 1 ml. Para isso o filtrado foi ligeiramente agitado com um bastão de vidro e as amostras de 1 ml retiradas e colocadas em lâminas de 7,5 × 5 cm com anéis de parafina. Em cada anel foi colocada uma gota de solução corante (ácido acético, 2 ml; formol, 5 ml; azul de metileno, 100 mg; água, 100 ml) para facilitar a contagem das cercárias ao microscópio entomológico.

examinadas ao microscópio entomológico para controle da penetração das cercárias.

Perfusão dos animais — Os animais foram sacrificados 60 a 70 dias depois de infectados. Foi feita, separadamente, a perfusão do fígado e dos vasos mesentéricos segundo a técnica descrita por PELLEGRINO & SIQUEIRA³. Os esquistossomos foram lavados por sedimentações sucessivas em soro fisiológico e, depois de contados, foram colocados em ampôlas de vidro e liofilizados.

RESULTADOS

Total de esquistossomos e média por animal — Das 27 cobaias foi retirado, pela perfusão do fígado e mesentério, um total de 27.867 vermes, correspondendo a 1.032 ± 134 esquistossomos por animal. Dos 18 coelhos foram colhidos 48.048 vermes, correspondendo a 2.669 ± 575 esquistossomos por animal (quadro I).

QUADRO I

Estudo comparativo entre a cobaia e o coelho como fonte de obtenção de esquistossomos (*S. mansoni*)

Animal	Média de vermes por animal	Distribuição		% cercárias recuperadas como esquistossomos	N.º aproximado de esquistossomos necessário para perfazer 1 g de material dessecado
		Fígado	Mesentério		
Cobaia	1.032 ± 134	27,7%	72,3%	22,3%	22.000
Coelho	2.669 ± 575	69,2%	30,8%	11,5%	27.000

Infecção dos animais — As observações contidas no presente trabalho foram feitas em 27 cobaias e 18 coelhos. Cada cobaia foi infestada com 4.000 a 5.000 cercárias e cada coelho com 20.000 a 30.000 cercárias. O pêlo do abdome dos animais foi raspado com aparelho elétrico e em seguida a pele foi lavada com água. Depois de amarrar os animais a suportes adequados, placas de Petri (10 cm de diâmetro para cobaias e 15 cm para coelhos; altura 2 cm), contendo número de cercárias previamente calculado, foram colocadas sob o abdome de modo que este ficasse em contacto com o líquido. Decorridos 40 a 60 minutos as placas foram

Distribuição dos vermes no fígado e mesentério — Em 20 cobaias foi feita, separadamente, a contagem dos vermes que se encontravam no fígado e no mesentério. Do total de 20.035 vermes, 14.485 (72,3%) se encontravam no mesentério e 5.550 no fígado (27,7%). Em 9 coelhos foi também feita a contagem separada dos vermes, tendo sido recolhidos, no fígado, 12.859 esquistossomos (69,2%) e, no mesentério, 5.730 (30,8%). O total de vermes, nos 9 coelhos, foi de 18.589 (quadro I).

Percentagem de cercárias recuperadas como esquistossomos — A percentagem de

cercárias que pôde ser recuperada como esquistossomos foi de 11,5% para o coelho e de 22,3% para a cobaia.

Número de esquistossomos liofilizados necessário para perfazer 1 grama — Este cálculo foi possível pela pesagem de 6.225 vermes colhidos em 6 cobaias e de 7.613 vermes colhidos em 6 coelhos. Foi estimado serem necessários 22.000 esquistossomos colhidos em cobaia para perfazer 1 grama de material liofilizado e 27.000 vermes colhidos em coelho para perfazer o mesmo pêso.

DISCUSSÃO

Em trabalho anterior havia sido demonstrado que cobaias infestadas com grande número de cercárias de *S. mansoni* podem fornecer apreciável quantidade de esquistossomos (PELLEGRINO & SIQUEIRA³). De fato, de 38 cobaias experimentalmente infectadas foram colhidos 53.690 vermes, o que corresponde a um valor médio de 1.412 esquistossomos por animal. De acôrdo com as observações de SCHUBERT⁶, coelhos infectados com 6.000 a 30.000 cercárias forneceram de 300 a 6.000 esquistossomos. Êste autor é de opinião que o coelho representa um hospedeiro satisfatório quando se deseja obter grande número de esquistossomos.

A análise do quadro I mostra que para a obtenção de esquistossomos, a cobaia apresenta sôbre o coelho uma série de vantagens: melhor desenvolvimento dos vermes, traduzido pelo maior pêso, maior percentagem de recuperação e migração para os vasos mesentéricos; animal mais barato, mais fácil de ser mantido no laboratório e de ser perfundido (um técnico treinado pode perfundir 10 ou mais cobaias por dia).

Em relação à percentagem de cercárias recuperadas como esquistossomos, os nossos dados (22,3% para a cobaia e 11,5% para o coelho, quadro I) concordam plenamente com os de MOORE, YOLLES & MELENEY². De fato, êstes autores obtiveram para a cobaia e o coelho, respectivamente 22,9% e 11,8% de recuperação, quando os animais foram infectados por via transcutânea.

De 13.653 esquistossomos adultos colhidos em cobaias, 9.142 eram machos e 4.511 fêmeas, o que dá uma relação de 2,02 ma-

chos para 1 fêmea. Segundo as estimativas de RUIZ⁵ para o pêso do esquistossomo (*S. mansoni*) macho e fêmea, e levando em conta que os machos são duas vêzes mais abundantes do que as fêmeas, o número de vermes colhidos em cobaia, necessário para perfazer 1 grama de material dessecado, seria de 22.500, o que concorda com os nossos dados.

Na cobaia e no coelho, 60 a 70 dias depois de infectados, ao contrário do que acontece no hamster e no camundongo — bons hospedeiros — nem todos os vermes atingem a fase adulta. Muitos esquistossomos são ainda imaturos e, além disso, o tamanho dos adultos é sensivelmente menor do que vermes colhidos no camundongo ou no hamster. Assim, apesar do bom rendimento que a cobaia oferece como fonte de esquistossomos, é preciso levar em conta que o conjunto de vermes colhidos nesse animal representa u'a mistura de esquistossomos em diferentes estádios evolutivos, na maioria adultos. Neste particular, portanto, o camundongo e o hamster apresentam vantagem, pois nestes animais a totalidade dos esquistossomos alcança normalmente a fase de maturidade sexual.

Confirmando as conclusões de PELLEGRINO & SIQUEIRA³, a cobaia representa, portanto, um animal satisfatório para a obtenção de esquistossomos (*S. mansoni*) em larga escala.

SUMMARY

The guinea-pig and the rabbit as sources for schistosomes (S. mansoni)

Guinea-pigs and rabbits were exposed respectively to 4,000 to 5,000 and 20,000 to 30,000 cercariae of *S. mansoni*. The animals were sacrificed after 60 to 70 days of infection and the worms on the liver and in the mesenteric vessels recovered by perfusion.

A total of 27,867 worms was recovered from 27 guinea-pigs (1,032 ± 134 worms per animal) and from 18 rabbits were collected 48,048 worms (2,669 ± 575 per animal). In the mesenteric vessels 72.3 and 30.8 per cent of the worms were found respectively for guinea-pigs and rabbits. The percentage of cercariae recovered as

schistosomes was 22.3 for the guinea-pig and 11.5 for the rabbit. The approximate number of lyophilized schistosomes necessary to make up 1 gram was 22,000 for the guinea-pig and 27,000 for the rabbit.

The guinea-pig has many advantages over the rabbit for the procurement of schistosomes: in the former, the worms developed better and faster as judged from the percentage of cercariae recovered as schistosomes and from the proportion of worms migrated to the mesentery. Moreover, the guinea-pig is cheaper, more easily kept in the laboratory as well as more easily perfused (10 or more guinea-pigs may be perfused per day by one skilled technician).

REFERÊNCIAS

1. MILLEMANN, R. E. & MERGENHAGEN, S. E. — Studies on the penetration of schistosome cercariae. I. Action of the antihistamine promethazine hydrochloride. J. Parasitol. 46:155-163, 1960.
2. MOORE, D. V.; YOLLES, T. K. & MELENEY, H. — A comparison of common laboratory animals as experimental hosts for *Schistosoma mansoni*. J. Parasitol. 35:156-170, 1949.
3. 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.
4. RADKE, M. G.; BERRIOS-DURAN, L. A. & MORAN, K. — A perfusion procedure (Perf. O-Suction) for recovery of schistosome worms. J. Parasitol. 47:366-368, 1961.
5. RUIZ, J. M. — Preparo de antígeno para intradermo-reação na esquistossomose. Mem. Inst. Butantan 25:5-14, 1953.
6. SCHUBERT, M. — Conditions for drug testing in experimental schistosomiasis mansoni in mice. Am. J. trop. Med. 28:121-136, 1948.

Recebido para publicação em 15 janeiro 1962.

