

## SUSCETIBILIDADE DO *CEBUS APELLA MACROCEPHALUS* SPIX, 1823 A INFECÇÕES EXPERIMENTAIS PELO *SCHISTOSOMA MANSONI*

Z. BRENER e Roberto J. ALVARENGA

### RESUMO

Exemplares de *Cebus apella macrocephalus* Spix, 1823 foram experimentalmente inoculados com *Schistosoma mansoni*, sendo estudados certos aspectos da infecção tais como a suscetibilidade dos animais, a percentagem de recuperação de vermes, a distribuição dos mesmos no sistema porta, a eliminação diária de ovos e os seus aspectos anátomo-patológicos. Foi salientada a facilidade com que a técnica de perfusão pode ser usada para a recuperação dos vermes, chamando os autores a atenção para a possibilidade do emprêgo desse animal em estudos quimioterápicos, anátomo-patológicos e imunológicos.

### INTRODUÇÃO

O crescente desenvolvimento das investigações experimentais na esquistossomose mansônica tem levado os pesquisadores a estudar o comportamento dessa infecção em hospedeiros de maior porte que, eventualmente, reproduzam a doença humana e possam ser acompanhados durante largo tempo. Como é natural, os autores têm preferido empregar, com essa finalidade, os primatas, que, por suas características morfológicas e biológicas, deveriam dar origem a infecções similares às do homem. CRAM & FILES<sup>3</sup>, estudando a suscetibilidade de vários animais de laboratório, inocularam, com êxito, macacos *Rhesus*. HILL<sup>5</sup>, NAJARIAN & col.<sup>10</sup>, NAIMARK & col.<sup>9</sup>, NAJARIAN & THOMPSON<sup>11</sup>, ELSLAGER & col.<sup>4</sup> também empregaram, em suas experiências, macacos *Rhesus*, nos quais a doença evolui cronicamente e se mantém por muito tempo. KUNTZ, MALAKATIS & WELLS<sup>6</sup> estudando, também, a suscetibilidade de vários hospedeiros, do ponto de vista experimental, referiram os bons resultados obtidos com a inoculação de macacos

do gênero *Cercopithecus*, nos quais 30 a 70% de vermes foram recuperados. NEWSOM<sup>12</sup> inoculou "baboons" (*Papio hamadryas*), obtendo resultados positivos. LUTTERMOSER, BRUCE & McMULLEN<sup>7</sup>, em experiências de quimioprofilaxia, empregaram o *Cercopithecus aethiops* e *Macaca irus*.

No presente trabalho serão expostos os resultados obtidos com a infecção experimental do *Cebus apella macrocephalus* Spix, 1823, macaco comum da região amazônica, onde é conhecido como "macaco-prego", cuja manutenção em cativeiro, devido ao seu porte e hábitos, não apresenta muitos problemas. Exemplares de *Cebus* sp. já haviam sido inoculados por COELHO & MAGALHÃES F.<sup>o</sup> 2, e, mais recentemente, por MAGALHÃES F.<sup>o</sup> 8, com a finalidade de estudar os aspectos anátomo-patológicos da infecção.

Serão feitas, neste trabalho, considerações sobre o curso geral da infecção esquistossomótica, descrevendo-se as técnicas usadas para a recuperação dos vermes e o estudo da

eliminação de ovos, já que o nosso interesse maior reside no eventual uso desses animais em experiências de quimioterapia.

#### MATERIAL E MÉTODOS

*Inoculação dos animais* — A concentração e contagem das cercárias foi realizada de acordo com técnica descrita anteriormente (BRENER<sup>1</sup>). Os *Cebus*, em número de 10, com pesos variando entre 1.500 a 2.000 g, recebiam, por via parenteral, 0,20 ml de "Somnifêne" e, depois de anestesiados, eram imobilizados em decúbito dorsal, processando-se, então, a depilação do abdome e parte do tórax. A suspensão de cercárias era colocada, gôta a gôta, sobre a pele depilada, recebendo, cada animal, cerca de 500 cercárias.

*Estudo da eliminação de ovos* — A partir do 30.<sup>o</sup> dia de inoculação cerca de 6 g de fezes eram colhidos, de cada macaco, diariamente ou em dias alternados, realizando-se o exame de fezes segundo a técnica de Hoffman, Pons e Janner (1934), com sedimentação única em água de torneira. Após 2 horas cerca de 0,10 ml do sedimento eram colhidos do fundo do cálice cônico de sedimentação, colocados entre lâmina e lamínula, anotando-se, após o exame microscópico, o número total de ovos encontrado na preparação.

*Perfusão dos animais e recuperação dos vermes* — Seis animais foram sacrificados e perfundidos cerca de 5 meses após a inoculação. Os *Cebus* recebiam, por via intracardíaca, 2 ml de uma solução de heparina (correspondentes a 10.000 U.I.) e, em seguida, eram sacrificados por meio de anestesia profunda com clorofórmio. A perfusão foi realizada seguindo-se, no fundamental, a técnica descrita por PELLEGRINO & SIQUEIRA<sup>13</sup> aplicável a cobaias. Após as ligaduras da veia cava inferior, veia porta e esôfago, o fígado era retirado e perfundido através da introdução de salina na porção supradiaphragmática da veia cava inferior. A perfusão do mesentério era feita após retirada das vísceras que drenam o seu sangue para os vasos mesentéricos, conjuntamente com o plano ósseo subjacente; o líquido

perfusor era introduzido através da aorta torácica e os vermes coletados após a sua saída pela veia porta seccionada. Ao invés de usarmos, como aparelho de perfusão, um barrilete contendo salina e colocado a uma determinada altura, como fazem PELLEGRINO & SIQUEIRA<sup>13</sup>, empregamos um compressor cujo reservatório de ar se comunica com uma válvula de redução que permite a passagem de um fluxo constante de ar com pressão de 10 libras; o ar sob pressão se comunica com um reservatório de salina, obtendo-se, assim, um fluxo constante de soro fisiológico com a pressão desejada. Essa técnica de perfusão permite estudar a distribuição relativa dos vermes no fígado e vasos mesentéricos, dado de grande importância na determinação das relações hospedeiro-parasito e na avaliação de atividade terapêutica de agentes medicamentosos.

*Estudo anátomo-patológico* — Após a perfusão, fragmentos de vísceras eram fixados em formol neutro a 10%, incluídos em parafina e os cortes histológicos corados pela hematoxilina-eosina. Considerando a eventual distorção das estruturas, provocada pela perfusão, não foram estudados os aspectos mais finos das alterações tissulares encontradas, dando-se mais ênfase à presença e distribuição de ovos e granulomas nas diferentes vísceras.

Em todos os animais, fragmentos do fígado e da mucosa intestinal foram examinados, a fresco, entre lâmina e lamínula.

#### RESULTADOS

Em todos os 10 exemplares de *Cebus* inoculados o exame de fezes permitiu a comprovação parasitológica da infecção, através do encontro de ovos de *S. mansoni*, a partir da 7.<sup>a</sup> semana de infecção, ou seja, em torno do 50.<sup>o</sup> dia de doença. Nas figuras 1 e 2 estão representadas as curvas obtidas através da contagem de ovos em dois grupos de animais, nos quais, respectivamente, um maior e menor número de vermes foi recuperado. Nos animais não sacrificados e acompanhados até o 8.<sup>o</sup> mês de infecção a eliminação de ovos continuou presente indicando persistência da infecção.

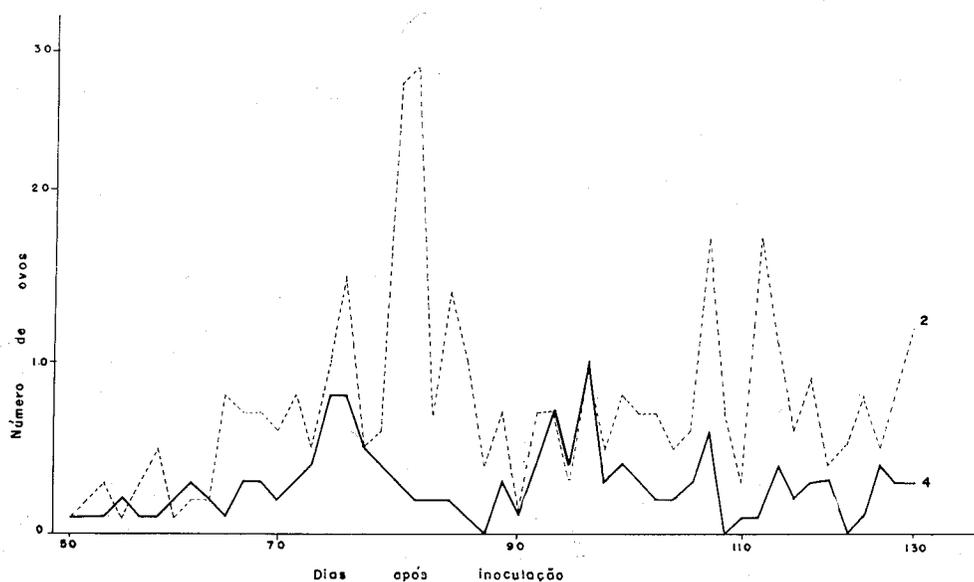


Fig. 1 — Contagem de ovos nas fezes de dois exemplares de *Cebus apella macrocephalus* experimentalmente inoculados com *S. mansoni*, nos quais foram recuperados, respectivamente, 205 e 227 vermes.

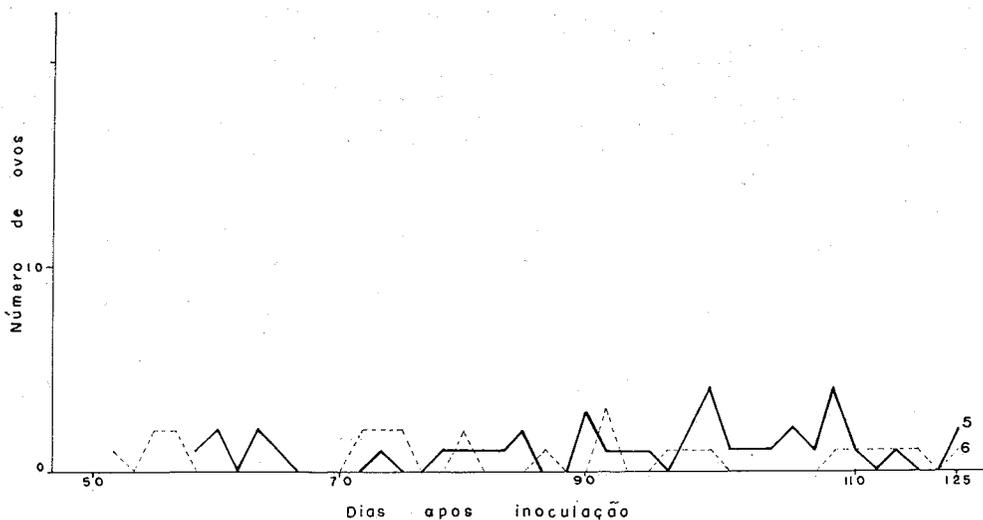


Fig. 2 — Contagem de ovos nas fezes de dois exemplares de *Cebus apella macrocephalus* experimentalmente inoculados com *S. mansoni*, nos quais foram recuperados, respectivamente, 36 e 14 vermes.

No Quadro estão expostos os resultados obtidos com a perfusão dos animais inoculados, incluindo-se o número de vermes recuperados em relação às cercárias usadas e a sua distribuição relativa no fígado e no mesentério.

O exame, entre lâmina e lamínula, de fragmentos da mucosa intestinal e retal permitiu comprovar a presença de ovos em vários estágios evolutivos, reproduzindo-se, desse modo, o aspecto encontrado nas infecções humanas.

QUADRO

Número e distribuição de vermes recuperados em *Cebus apella macrocephalus* experimentalmente inoculados com 500 cercárias de *S. mansoni*

Animal nº	Nº de cercárias inoculadas	Vermes recuperados			
		Total		No fígado	No mesentério
		Nº absoluto	%	(%)	(%)
1	500	183	36,6	8,6	91,4
2	500	205	41,0	8,7	91,3
3	500	10	2,0	20,0	80,0
4	500	227	45,4	40,9	50,1
5	500	36	7,2	25,0	75,0
6	500	14	2,8	7,1	92,9

Ao exame histológico observou-se, no fígado dos animais sacrificados, a presença de granulomas situados nos espaços porta e perilobular, com o aspecto típico constituído por ovos ou restos ovulares, não raro fagocitados por células gigantes, envolvidos por células epitelióides, linfócitos e eosinófilos; alguns granulomas achavam-se em fase de cicatrização, representada por fibrose e hialinose (Fig. 3, C). No baço foi assinalada discreta congestão e, em alguns animais, nódulos de hiperplasia reticular (Fig. 3, D). Ovos e granulomas peri-ovulares foram assinalados em tôdas as túnicas intestinais, porém mais numerosos ao nível da submucosa; os granulomas eram mais raros no intestino grosso que no delgado e mais raros ainda nos animais apresentando poucos vermes. Ovos de *S. mansoni* e até mesmo granulomas periovulares foram encontrados dentro das glândulas, tanto no intestino delgado quanto no grosso (Fig. 3, A). Granulomas peri-ovulares foram também observados no mesentério e gânglios mesentéricos. Fagocitose de ovos por células gigantes foi achado freqüente (Fig. 3, B).

DISCUSSÃO

Considerando sob um aspecto mais geral, o *Cebus apella macrocephalus* pode ser considerado como um bom hospedeiro para o

*S. mansoni*, já que o desenvolvimento dos vermes é normal, os ovos são eliminados sem dificuldade através das fezes e as alterações patológicas encontradas são similares às humanas. Ainda que o número de animais não permita concluir sobre a suscetibilidade da espécie ao *S. mansoni*, o fato de que todos os 10 exemplares tenham se infectado parece indicar que pelo menos uma alta percentagem desses animais deverá contrair a infecção em condições experimentais.

Embora a grande variação encontrada no número de vermes recuperados em grupos de animais inoculados com um número determinado de cercárias seja um fenômeno bem conhecido e encontrado em um grande número de hospedeiros, parece-nos que, em nosso caso particular, essa variação possa ser atribuída a condições ligadas à inoculação, já que os 3 animais que apresentaram um pequeno número de vermes adultos foram inoculados em um mesmo dia e com uma mesma suspensão de cercárias. A distribuição dos vermes corresponde, de um modo geral, à esperada; no caso do animal n.º 4, a alta percentagem de vermes no fígado deve ser atribuída à presença de um excesso de machos não acasalados que representavam mais de 50% do total de vermes recuperados.

O estudo da eliminação de ovos mostrou que, malgrado a natural oscilação no núme-

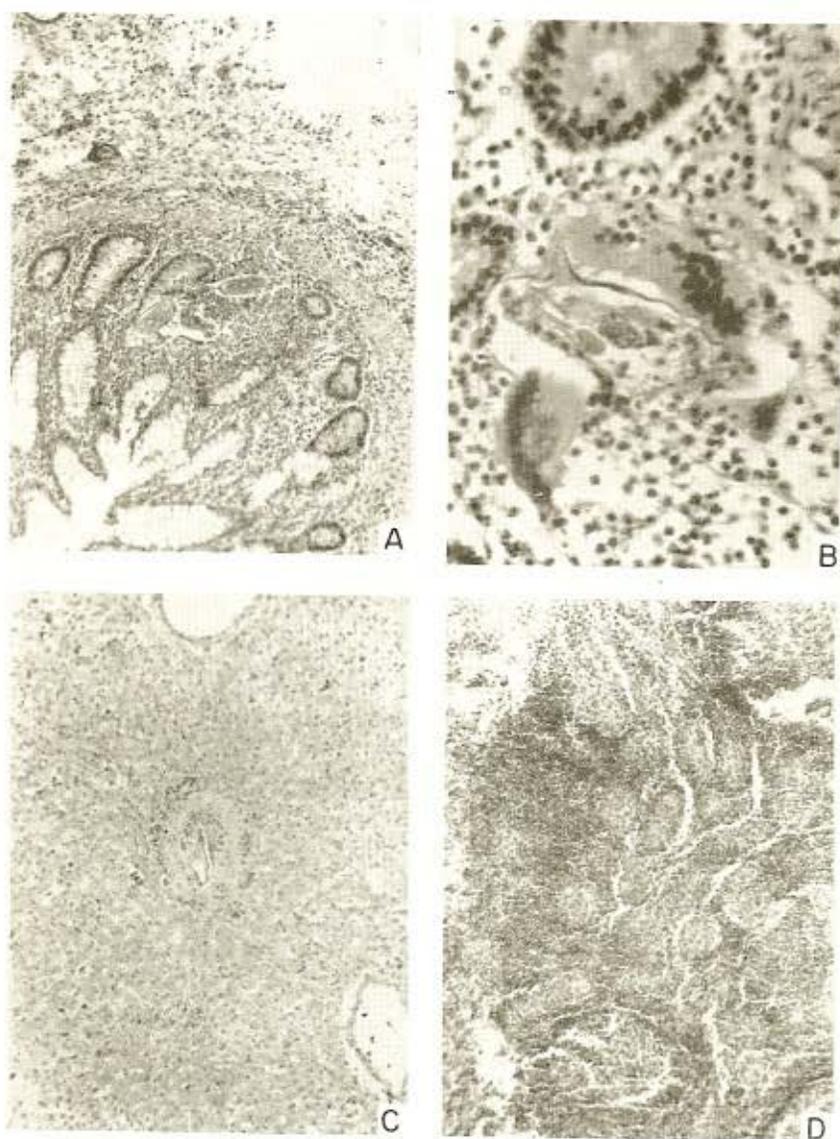


Fig. 3 — *A* — Intestino grosso. Presença de ovo dentro de glândula, notando-se ainda o rompimento da mesma e reação peri-ovular em ovo localizado na lâmina própria (100 $\times$ ). *B* — Intestino delgado. Ovo de *S. mansoni* localizado na lâmina própria, sendo fagocitado por células gigantes (600 $\times$ ). *C* — Fígado. Granuloma peri-ovular em processo de esclerose. Presença de pigmento nas células de Kupffer (100 $\times$ ). *D* — Baco. Hiperplasia reticular (100 $\times$ ).

ro de ovos eliminados diariamente, o exame de fezes foi persistentemente positivo; um aspecto importante reside na correlação que, de um modo muito geral, parece existir entre o número de vermes adultos e as curvas de eliminação de ovos, como se pode observar nas figuras 1 e 2. Esse dado é mui-

to importante, pois permite, sobretudo em estudos de quimioterapia, selecionar os animais que, presumivelmente, apresentem infecções mais homogêneas.

A facilidade com que a perfusão pode ser realizada nesse animal representa uma van-

tagem adicional no que se refere aos estudos de quimioterapia, já que as alterações da distribuição normal dos vermes nos vasos mesentéricos e portais, resultantes da atividade medicamentosa, podem ser facilmente estudadas por êsse processo.

A presença de fibrose de granulomas peri-ovulares no fígado, concomitantemente com congestão e hiperplasia reticular do baço, verificada em pelo menos um dos animais, sugere que essa espécie possa se prestar a um estudo de desenvolvimento de uma eventual forma hepatoplênica.

Um estudo detalhado do comportamento imunológico desses animais seria altamente desejável. Em investigações preliminares foram obtidas, com o sôro de alguns dos animais inoculados, reações peri-ovulares positivas; as reações de fixação do complemento realizadas mostraram a existência de intensa atividade anticomplementar de soros de 4 animais inoculados.

#### SUMMARY

*Susceptibility of "Cebus apella macrocephalus" Spix, 1823, to experimental infection with "Schistosoma mansoni".*

*Cebus apella macrocephalus* monkeys proved to be quite susceptible to experimental *Schistosoma mansoni* infections; in 10 inoculated animals eggs were detected by stool examination around the 50<sup>th</sup> day of inoculation and active infection was still present after 8 months. The worms were recovered by perfusion and were normally distributed in the portal and mesenteric veins. Repeated stool examinations showed a rough correlation between the number of eggs and the number of recovered worms. The authors emphasize the suitability of *Cebus* monkeys for studies of chemotherapy, pathology and immunology in experimental schistosomiasis.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. José Pellegrino pelos dados imunológicos que ilustram êsse traba-

lho e ao Sr. José Francisco da Cruz, da Seção de Zoologia do Museu Nacional, pela identificação dos animais usados na presente investigação.

#### REFERÊNCIAS

1. BRENER, Z. — Esquistossomose experimental. Rev. brasil. Malariol. & Doenças trop. 11:473-506, 1958.
2. COELHO, B. & MAGALHÃES fº, A. — Resultados patológicos da infestação experimental do *Schistosoma mansoni* em macacos do gênero *Cebus* sp. Publ. avulsas Inst. Aggeu Magalhães 2:61-98, 1953.
3. CRAM, E. B. & FILES, V. S. — Experimental mammalian infection with the schistosomes of man. I. Laboratory animals as source of supply of adult schistosomes and their ova. Studies on Schistosomiasis. National Institutes of Health Bull. n° 189:101-105, 1947.
4. ELSLAGER, E. F.; SHORT, F. W.; WORTH, D. F.; MEISENHOLDER, J. E.; NAJARIAN, H. & THOMPSON, P. E. — Effects of tris (p-aminophenyl)-carbonium salts and related compounds on experimental schistosomiasis and paragonimiasis. Nature, London 190:628-629, 1961.
5. HILL, J. — Chemotherapeutic studies with laboratory infections of *Schistosoma mansoni*. Ann. trop. Med. & Parasitol. 50:39-48, 1956.
6. KUNTZ, R. E.; MALAKATIS, G. M. & WELLS, W. H. — Susceptibility of laboratory animals to infection by the Egyptian strain of *Schistosoma mansoni* with emphasis on the albino mouse. Comptes Rendus V Congr. intern. Med. trop & Palud. 2: 374-391, 1953.
7. LUTTERMOSER, G. W.; BRUCE, J. I. & McMULLEN, D. B. — The prophylactic and curative activity of 1-maleinyl-4-(3'-chloro-4'-methyl-phenyl) piperazine (Hoechst S 688) in experimental schistosome infections. Amer. J. trop. Med. & Hyg. 9:39-45, 1960.
8. MAGALHÃES fº, A. — Reações de hipersensibilidade em macacos *Cebus* infestados com *Schistosoma mansoni*. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 3:239-253, 1961.
9. NAIMARK, D. H.; OLIVER-GONZALEZ, J.; CHAFFEE, E. F. & ANDERSON, R. I. — Studies of schistosomiasis mansoni in primates. I. Initial occurrence of serological

- antibodies correlated with egg recovery. J. Parasitol. 43(section 2):26, 1957.
10. NAJARIAN, H. H.; BAYLES, A.; THOMPSON, P. E. & McCARTHY, D. — Experimental *Schistosoma mansoni* infections in Rhesus monkeys with particular reference to chemotherapy. J. Parasitol. 43(section 2):26, 1957.
11. NAJARIAN, H. H. & THOMPSON, P. E. — Drug evaluation in experimental *Schistosoma mansoni* infections of Rhesus monkeys. Sixth Intern. Congr. trop. Med. & Malariol. p. 27-28, 1958.
12. NEWSOME, J. — Experiments with some miracid, acridine and diamidine compounds on *Schistosoma mansoni* infections in baboons. Trans. Roy. Soc. trop. Med. & Hyg. 47:428-430, 1953.
13. 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.

---

Recebido para publicação em 21 março 1962.