

OBSERVAÇÕES SÔBRE O OGRAMA EM COBAIAS E COELHOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS COM *SCHISTOSOMA MANSONI*

Aloísio S. CUNHA, J. PELLEGRINO, Celso A. OLIVEIRA e Roberto J. ALVARENGA

RESUMO

A cobaia e o coelho não constituem bons hospedeiros para o *Schistosoma mansoni*. Embora se possa recuperar dêles grande número de esquistossomos, quando infectados por via transcutânea com elevado número de cercárias, os vermes não se desenvolvem normalmente, a migração para o mesentério é reduzida, especialmente no coelho, e a eliminação de ovos nas fezes constitui achado muito raro.

Fragments do intestino delgado, ceco e reto de 20 cobaias e 10 coelhos infectados foram examinados microscòpicamente e os diversos elementos esquistossomóticos contados e classificados (oograma). Na cobaia chamou a atenção a elevada percentagem de ovos mortos (62,8%) e do 1.º estágio (29,9%) e o número reduzido de ovos do 2.º, 3.º e 4.º estádios (5,8%) e de ovos maduros (1,1%). No coelho os ovos mortos (58,2%) e os granulomas (32,5%) constituíram a maioria dos elementos esquistossomóticos; o número de ovos viáveis foi muito reduzido (9,3%) e não foram encontrados ovos com miracídio completamente desenvolvido.

Embora fêmeas de *S. mansoni* ponham ovos com estrutura aparentemente normal ao nível do intestino de cobaias e coelhos, êstes ovos raramente encerram miracídio completamente formado, ao contrário do que acontece no camundongo, macaco e hamster — bons hospedeiros para o *S. mansoni*. Isto explica porque cobaias e coelhos, embora suscetíveis ao *S. mansoni*, só raramente eliminam ovos dêste helminto. O exame de fezes foi positivo para ovos de *S. mansoni* em apenas uma cobaia, dentre todos os animais examinados.

INTRODUÇÃO

Um dos requisitos básicos para que um animal possa ser considerado bom hospedeiro do *Schistosoma mansoni* é o de eliminar regularmente ovos dêste helminto nas fezes. Isto só se verifica quando os vermes têm um desenvolvimento somático e fisiológico normal e se deslocam, acasalados, para as finas ramificações das veias mesentéricas onde as fêmeas ovipõem. Entre os animais comumente usados no laboratório, o hamster, o camundongo e o macaco satisfazem perfeitamente a estas exigências, sendo por isso preferidos para a maioria das investigações sôbre esquistossomose mansônica.

Embora um número apreciável de esquistossomos possa ser recuperado de cobaias e coelhos infectados com cercárias de *S. mansoni* (SHUBERT¹⁶, PELLEGRINO & SIQUEIRA¹³, MILLEMANN & MERGENHAGEN⁸, PELLEGRINO¹¹), do ponto de vista do desenvolvimento somático dos vermes e da eliminação de ovos nas fezes, êstes animais não podem ser considerados como bons hospedeiros. De fato, na cobaia e, principalmente no coelho, o desenvolvimento dos vermes é retardado, sua migração para as veias mesentéricas é pouco acentuada e a presença de ovos nas fezes constitui achado pouco freqüente (Vo-

GEL²⁰, COUTINHO², STANDEN¹⁸, MOORE, YOLLES & MELENEY⁹, STIREWALT, KUNTZ & EVANS¹⁹, KUNTZ, MALAKATIS & WELLS⁴, PELLEGRINO¹¹).

No presente trabalho foi feito um estudo da freqüência dos diversos elementos esquistossomóticos (oograma) encontrados ao nível do intestino de cobaias e coelhos experimentalmente infectados com cercárias de *S. mansoni* e os resultados foram comparados com o oograma obtido no camundongo (bom hospedeiro).

MATERIAL E MÉTODOS

Infecção dos animais — Cercárias de *S. mansoni*, eliminadas por exemplares de *Australorbis glabratus* naturalmente infectados, foram usadas para infectar 20 cobaias e 10 coelhos. Para isso, o pêlo do abdome desses animais foi raspado com aparelho elétrico e a infecção foi feita por via transcutânea, deixando-se o abdome em contato, durante 40 minutos, com uma placa de Petri na qual havia sido colocado volume adequado de líquido contendo determinado número de cercárias. Cada cobaia foi infectada com 4 a 5.000 cercárias e cada coelho com 20.000 cercárias.

Exame dos animais — As cobaias foram sacrificadas entre o 49.º e o 69.º dia de infecção e, os coelhos, entre o 64.º e o 101.º dia. O fígado e os vasos mesentéricos dos animais foram perfundidos, com sôro fisiológico, de acôrdo com a técnica descrita por PELLEGRINO & SIQUEIRA¹³. A contagem dos esquistossomos foi feita para cada animal, anotando-se, separadamente, os vermes localizados no fígado e no mesentério. Parte dos vermes colhidos no mesentério foi fixada em líquido de Railliet & Henry para coloração com carmim asséptico de Semichon. Fragmentos do intestino delgado, ceco e reto foram fixados em formol a 10% para exame histopatológico. A pesquisa de ovos de *S. mansoni* nas fezes foi feita de acôrdo com a técnica de sedimentação de HOFFMAN, PONS & JANER³, aproveitando-se o conteúdo fecal de todo o intestino. Para isso foram feitas tantas preparações quantas

necessárias para o exame integral do sedimento.

Oograma — Fragmentos de aproximadamente 1 cm² foram retirados do intestino delgado, ceco e reto de cada um dos animais. Depois de lavados em água e secados rapidamente em papel de filtro, os fragmentos foram colocados entre lâmina e lamínula e examinados ao microscópio depois de comprimidos fortemente. Os diferentes elementos esquistossomóticos contidos em cada fragmento foram contados e classificados (oograma) de acôrdo com o seguinte critério estabelecido por PRATA¹⁴ para ovos de *S. mansoni*:

- 1 — Ovos viáveis: imaturos (1º, 2º, 3º e 4º estádios) e maduros.
- 2 — Ovos com distúrbio no desenvolvimento embrionário.
- 3 — Ovos mortos: imaturos (hemitransparentes, escuros, granulosos, com embrião retraído) e maduros (estrutura apagada, miracídio retraído, granulações grossas, calcificados).
- 4 — Granulomas: com ovos, com cascas, sem conteúdo, mistos.
- 5 — Cascas.

RESULTADOS

O quadro I resume os resultados da perfusão do fígado e vasos mesentéricos de 20 cobaias (infectadas com 4.000 a 5.000 cercárias) e de 10 coelhos (infectados com 20.000 cercárias) para a colheita de esquistossomos. A média de vermes por animal foi maior no coelho (1949) do que na cobaia (937). Entretanto, a percentagem de cercárias recuperadas com esquistossomos foi maior na cobaia (20,8%) do que no coelho (9,7%). Nas cobaias a maior parte dos esquistossomos estava localizada no mesentério (72,3%) ao passo que o mesmo não foi verificado no coelho (70,5% no fígado).

Os resultados da contagem e classificação dos elementos esquistossomóticos (oograma) em fragmentos do intestino delgado, ceco e reto das cobaias e coelhos estão representa-

dos no quadro II. Chama a atenção, no oograma da cobaia, a elevada percentagem de ovos mortos (62,8%) e do 1.º estágio (29,9%), o número reduzido de ovos do 2.º, 3.º e 4.º estádios (5,8%) e a ausência de granulomas. No oograma do coelho nota-se a elevada percentagem de ovos mortos (58,2%) e granulomas (32,5%), o reduzido número de ovos viáveis (9,3%) e a ausência de ovos maduros. O número médio de elementos esquistossomóticos por fragmento examinado (1 cm²) foi aproximadamente de 100 para a cobaia e de 10 para o coelho.

O exame parasitológico das fezes foi positivo em apenas uma cobaia. Neste animal foram encontrados 22 ovos maduros no exame parasitológico de todo o conteúdo intestinal.

do muito raro é referido na literatura por vários autores (VOGEL²⁰, SCHUBERT¹⁶, COUTINHO², MOORE, YOLLES & MELENEY⁹, STANDEN¹⁸). Esta particularidade é muito interessante, pois tanto na cobaia como no coelho os vermes podem alcançar a maturidade sexual e, depois de acasalados, podem migrar para os vasos mesentéricos, fazendo as fêmeas postura de ovos morfológicamente normais na parede intestinal. Em nosso material, constituído de 20 cobaias e 10 coelhos, somente em uma cobaia foram encontrados ovos nas fezes. Esta cobaia albergava 1.724 esquistossomos — correspondendo a cerca de 40% das cercárias utilizadas na infecção — dos quais 90% foram retirados dos vasos mesentéricos, o que indica evolução excepcionalmente favorável do *S. mansoni* neste animal (cf. quadro I).

QUADRO I

Resultado da perfusão do fígado e vasos mesentéricos de 20 cobaias e 10 coelhos experimentalmente infectados com *S. mansoni*.

Animal	Média de esquistossomos por animal	Distribuição		% de cercárias recuperadas como esquistossomos
		Fígado (%)	Mesentério (%)	
Cobaia *	937	27,7	72,3	20,8
Coelho **	1949	70,5	29,5	9,7

* Infecção com 4.000 a 5.000 cercárias.

** Infecção com 20.000 cercárias.

DISCUSSÃO

O *S. mansoni* desenvolve-se melhor na cobaia do que no coelho. De fato, o exame do quadro I mostra que, na cobaia, maior percentagem de cercárias foi recuperada como esquistossomos e que a migração dos vermes para os vasos mesentéricos foi também mais acentuada na cobaia. Estes dados confirmam as observações relatadas por um de nós (PELLEGRINO¹¹).

O fato de que a eliminação de ovos de *S. mansoni* nas fezes de cobaias e coelhos experimentalmente infectados constitui acha-

Os dados resumidos no quadro II explicam porque dificilmente são encontrados ovos de *S. mansoni* nas fezes de cobaias e coelhos experimentalmente infectados. Nestes animais, o número de ovos viáveis localizados na parede intestinal é muito pequeno em relação ao número de ovos mortos, sendo que os ovos imaturos do 2.º, 3.º e 4.º estádios constituem minoria quando comparados com os do 1.º estágio. Isto indica que a grande maioria dos ovos morre nos primeiros dias após a oviposição. A ausência de ovos maduros no coelho e a pequena percentagem desses ovos (1,1%) na cobaia corroboram esta interpretação (Fig. 1).

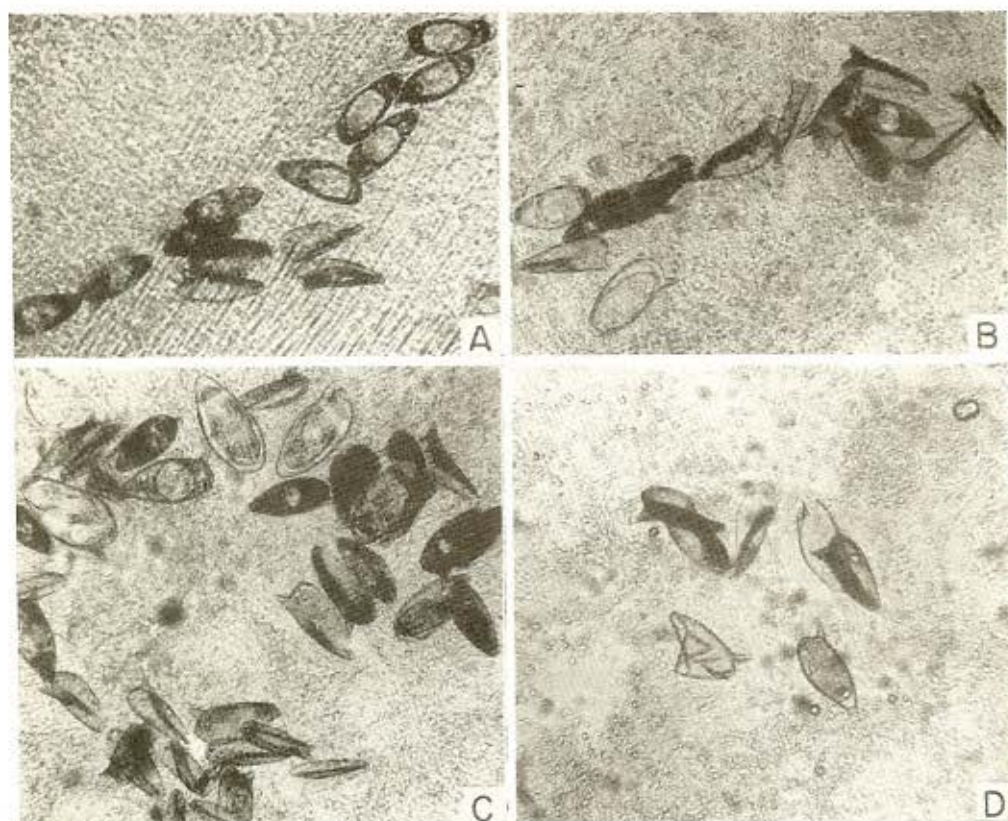


Fig. 1 — Preparações obtidas por compressão, entre lâmina e laminula, de fragmentos intestinais retirados de cobaias experimentalmente infectadas. Notar em B, C e D, numerosos ovos mortos. Em A, ovos imaturos em evolução e poucos ovos mortos. C, fragmento retirado da única cobaia que apresentou ovos de *S. mansoni* nas fezes: notar a presença de ovos maduros.

Observa-se ainda, no quadro II, que o número de ovos de *S. mansoni*, na cobaia, foi aproximadamente o mesmo no delgado, ceco e reto, enquanto que no coelho o número de ovos encontrado no ceco foi nitidamente inferior. É interessante ressaltar também que, dos 10 coelhos examinados, somente em 5 foram encontrados ovos na parede intestinal.

Como já foi referido, a presença de granulomas só foi verificada no coelho, aparentemente em grande número (32,5% dos elementos esquistossomóticos). É interessante salientar que granulomas foram observados em apenas 4 coelhos, sendo que em um deles em número muito elevado (380). Nos outros 3 coelhos só foram encontrados, respectivamente, 6, 19 e 20 granulomas. Ad-

mite-se que na infecção esquistossomótica a formação de granulomas seja condicionada à presença de ovos maduros, por estímulo gerado pelo miracídio vivo (PRATA¹⁴). Em face das nossas observações, parece que granulomas esquistossomóticos podem formar-se, também, em torno de ovos que não chegaram a completar seu desenvolvimento, uma vez que no coelho não foram encontrados, na parede intestinal, ovos maduros. Esse problema merece ser investigado com maior detalhe.

O fenômeno do hermafroditismo em esquistossomas machos foi verificado tanto na cobaia como no coelho, tendo sido mais frequente na cobaia. Este fato, assinalado por numerosos autores (LAGRANGE & SCHEEMANS⁵, VOGEL²⁰, SHORT¹⁷, BUTTNER¹, PA-

QUADRO II

Contagem e classificação dos elementos esquistossomóticos (oograma) em fragmentos do intestino delgado, ceco e reto de cobaias e coelhos experimentalmente infectados com *S. mansoni*.

Elementos esquistossomóticos	Em 20 cobaias *					Em 10 coelhos **				
	No intestino delgado	No ceco	No reto	Total		No intestino delgado	No ceco	No reto	Total	
				Nº	%				Nº	%
<i>Elementos viáveis</i>	1.420	1.578	1.479	4.477	36,8	77	6	40	123	9,3
Ovos imaturos	1.399	1.523	1.415	4.337	35,7	77	6	40	123	9,3
1º estágio	1.275	1.205	1.148	3.628	29,9	75	6	37	118	8,9
2º estágio	91	162	170	423	3,5	2	—	2	4	0,3
3º estágio	26	99	61	186	1,5	—	—	—	—	—
Ovos maduros	7	57	36	100	0,8	—	—	1	1	0,1
<i>Elementos não viáveis</i>	21	55	64	140	1,1	—	—	—	—	—
Ovos com distúrbio do desenvolvimento	1	5	1	7	0,1	—	—	—	—	—
Ovos mortos	2.345	2.553	2.727	7.625	62,8	498	12	260	770	58,2
— imaturos	2.292	2.449	2.609	7.350	60,5	497	12	260	769	58,1
— maduros	53	104	118	275	2,3	1	—	—	1	0,1
Granulomas	—	—	—	—	—	205	—	225	430	32,5
Casca	12	20	7	39	0,3	—	—	—	—	—
Total	3.778	4.156	4.214	12.148	100,0	780	18	525	1.323	100,0

* Elementos esquistossomóticos contados em 2 fragmentos de 1 cm².

** Elementos esquistossomóticos contados em 4 fragmentos de 1 cm².

RAENSE¹⁰, RUIZ & COELHO¹³), parece resultar de má adaptação do parasito em relação ao hospedeiro.

Uma interpretação adequada dos dados fornecidos pelo oograma permite prever se animais de determinada espécie constituem bons hospedeiros para o *S. mansoni*. Neste caso, como foi verificado no camundongo (PELLEGRINO & col.¹²), ovos viáveis em todos os estádios evolutivos constituem a grande maioria dos elementos esquistossomóticos e o número de ovos maduros é sempre elevado. A julgar-se pelo comportamento do oograma na cobaia e no coelho, confirmando a opinião de numerosos autores, conclui-se que estes animais constituem maus hospedeiros para o *S. mansoni*.

O oograma em diversas espécies de animais silvestres, suscetíveis ao *S. mansoni*, está sendo investigado. É possível que o oograma represente elemento fundamental para se avaliar a importância relativa de diferentes espécies de depositários silvestres (cf. MARTINS⁷) na manutenção do ciclo biológico do *S. mansoni*.

SUMMARY

Oogram of guinea pigs and rabbits experimentally infected with "Schistosoma mansoni".

When guinea pigs and rabbits are exposed to 5,000 to 20,000 cercariae of *S. mansoni*, a good yield of schistosomes can be recovered. Nevertheless guinea pigs and rabbits are not considered good hosts for *S. mansoni*. Indeed, in these animals, the worms do not develop normally into adults, the number of schistosomes in the mesenteric veins is small, especially in the rabbit, and eggs are rarely eliminated with the feces.

The frequency of schistosomal elements (oogram) was studied in press-preparations of intestinal fragments from 20 guinea pigs and 10 rabbits experimentally infected with *S. mansoni*. In the guinea pigs, a high percentage of dead (62.8%) and of immature eggs in the 1st stage (29.9%) was found; mature eggs represented only 1.1%

of the schistosomal elements. In rabbits, dead eggs (58.2%) and granulomas (32.5%) constituted the major part of the schistosomal elements. The number of viable eggs was very small (9.3%) and no mature eggs were found.

The peculiarities of the oogram of guinea pigs and rabbits experimentally infected with *S. mansoni* account for the fact that only rarely are mature eggs found in the feces of these animals.

REFERÊNCIAS

1. BUTTNER, A. — Labilité particulière du sexe chez *Schistosoma mansoni*: essai d'interprétation. Ann. Parasit. hum. & comp. 25:297-307, 1950.
2. COUTINHO, J. O. — Notas sobre a eliminação de ovos do *Schistosoma mansoni* pelas fezes de cobaias e coelhos experimentalmente infectados. Folia clin. & biol. 16: 3-7, 1949.
3. HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A. & JANER, J. L. — The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. Puerto Rico J. publ. Health & trop. Med. 9:283-291, 1934.
4. 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. Compt. rend. V Congr. inter. Med. trop. & Palud. 2:374-391, 1953.
5. LAGRANGE, E. & SCHEEQMANS, G. — La bilharziose expérimentale du cobaye. Compt. rend. Soc. Biol. 143:1396, 1946.
6. LANGERON, M. — Précis de microscopie. 7e. éd. Paris, Masson, 1949.
7. MARTINS, A. V. — Non-human vertebrate hosts of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni*. Bull. Wld. Hlth. Org. 18:931-944, 1958.
8. MILLEMANN, R. E. & MERGENHAGEN, S. E. — Studies on the penetration of schistosome cercariae. I. Action of the anti-histamine promethazine hydrochloride. J. Parasitol. 46:155-163, 1960.
9. 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.

10. PARAENSE, W. L. — Observações adicionais sobre o sexo do *Schistosoma mansoni* nas infestações por cercárias de um único molusco. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 47:535-556, 1949.
11. PELLEGRINO, J. — A cobaia e o coelho como fontes de obtenção de esquistossomos. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo (no prelo).
12. PELLEGRINO, J.; OLIVEIRA, C. A.; FARIAS, J. & CUNHA, A. S. — New approach to the screening of drugs in experimental schistosomiasis *mansoni* in mice. Am. J. trop. Med. & Hyg. (no prelo).
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.
14. PRATA, A. — Biopsia retal na esquistossomose *mansoni*: bases e aplicações no diagnóstico e tratamento. Rio de Janeiro, 1957. Tese. Fac. Med. Bahia.
15. RUIZ, J. M. & COELHO, E. — Schistosomose experimental. II. Hermafroditismo do *Schistosoma mansoni* verificado na cobaia. Mem. Inst. Butantan 24:115-126, 1952.
16. SCHUBERT, M. — Conditions for drug testing in experimental schistosomiasis *mansoni* in mice. Am. J. trop. Med. 28:121-136, 1948.
17. SHORT, R. B. — Hermaphrodites in Puerto Rico strain of *Schistosoma mansoni*. J. Parasitol. 34(suppl.):30, 1948.
18. STANDEN, O. D. — Experimental schistosomiasis. II. Maintenance of *Schistosoma mansoni* in the laboratory, with some notes of experimental infection with *S. haematobium*. Ann. trop. Med. & Parasitol. 43:268-283, 1949.
19. STIREWALT, M. A.; KUNTZ, R. E. & EVANS, A. S. — The relative susceptibilities of the commonly-used laboratory mammals to infection by *Schistosoma mansoni*. Am. J. trop. Med. 31:57-82, 1951.
20. VOGEL, H. — Hermaphrodites of *Schistosoma mansoni*. Ann. trop. Med. & Parasitol. 41:266-277, 1947.

Recebido para publicação em 24 abril 1962.