

SCHISTOSOMA MANSONI: ASPECTOS DA OVIPOSIÇÃO DA CEPA LE' EM CAMUNDONGOS INFECTADOS COM UM CASAL DE VERMES (**)

Teresinha E. VALADARES (1), Paulo Marcos Z. COELHO (1,2), J. PELLEGRINO (1)(*) e Ivan Barbosa M. SAMPAIO (3)

RESUMO

Foi estudada a oviposição do *Schistosoma mansoni* (cepa LE') nos intestinos de camundongos, infectados com um casal de vermes, em diferentes períodos após a infecção. Observou-se diferença significativa na postura diária por fêmea, sendo que o local de maior concentração de ovos ocorreu entre o 20° cm a partir do piloro e a primeira metade do intestino grosso, em todos os períodos estudados. Este trabalho contribui para o aprimoramento do oograma, que é o método mais sensível atualmente para seleção de drogas esquistossomicidas em laboratório.

INTRODUÇÃO

Dentre as diversas técnicas utilizadas para "screening" de drogas esquistossomicidas, encontra-se o método do oograma^{4,14}, que é considerado o mais sensível.

Como este é o método utilizado pelo GIDE (Grupo Interdepartamental de Estudos sobre Esquistossomose), para nós este estudo sobre oviposição da cepa LE, onde se estimaria o total de ovos/dia e os locais preferenciais de postura ao longo do intestino, nos forneceria inestimáveis conhecimentos para aperfeiçoamento do método do oograma. Para tanto, utilizaram-se camundongos infectados com um casal de vermes.

MATERIAL E MÉTODOS

Camundongos albinos de dois a seis dias de idade foram infectados por via transcutânea com três cercárias⁹ de *Schistosoma mansoni* (cepa LE'; esta cepa foi isolada em 1959, de um paciente — Luiz Evangelista — com infec-

ção crônica contraída de uma única exposição a cercárias de Belo Horizonte. Desde o isolamento, ela vem sendo mantida em *Biomphalaria glabrata*, segundo técnica padronizada por FREITAS⁵).

A partir de quarenta dias após a infecção, grupos de quatro ou cinco camundongos foram sacrificados e perfundidos¹³ em diferentes períodos. Aqueles apresentando um casal de parasita tiveram o intestino isolado, do piloro até o anus, para estudos do oograma. Todo o órgão foi cortado em fragmentos de 1 cm, sendo cada fragmento macerado entre lâmina e lamínula e examinado ao microscópio para classificação¹² e contagem de todos os ovos.

As médias entre os grupos foram comparadas, usando-se análise de variação e teste de Student, considerando para nível de significância $p < 0,05$. Todas as vezes que a variável estudada era expressa em porcentagem, utilizou-se a transformação em $\arcsen \sqrt{X}$ segundo SNEDECOR¹⁶.

(1) Grupo Interdepartamental de Estudos sobre Esquistossomose (GIDE), Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais

(2) Departamento de Parasitologia, ICB/UFMG

(3) Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Minas Gerais

(*) Falecido em 1977

(**) Contribuição número 111 do Grupo Interdepartamental de Estudos sobre Esquistossomose (GIDE). Este trabalho foi financiado, em parte, pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pela Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP)

RESULTADOS

Na Tabela I encontram-se sumariados os limites da faixa dos intestinos que apresentaram

maior concentração de ovos maduros, nos diversos períodos após a infecção. Tais faixas correspondem aos locais preferenciais de postura do parasito.

T A B E L A I

Limites da faixa (12 cm de extensão) com maior concentração de ovos maduros da cepa LE' de *Schistosoma mansoni*, encontrados nos intestinos delgado e grosso de camundongos com um casal do parasito, em diferentes dias após a infecção.

N.º de camundongos	Dias após infecção	Intestinos delgado e grosso	
		Extensão total (cm)	
		Média ± desvio padrão	Limites da faixa (12 cm) com maior concentração de ovos maduros
5	42,6 ± 1,1	52,8 ± 1,8	28.º — 42.º
5	53,8 ± 1,3	54,0 ± 4,5	20.º — 36.º
5	71,4 ± 7,7	58,4 ± 6,2	12.º — 60.º
4	149,2 ± 38,4	56,5 ± 6,0	8.º — 42.º
5	317,8 ± 92,0	61,6 ± 4,6	24.º — 48.º

As quantidades de ovos de primeiro estágio, encontrados em diferentes períodos após a infecção, estão relacionados na Tabela II. Tais quantidades representam a oviposição diária por casal de verme.

T A B E L A II

Ovos do primeiro estágio da cepa LE' de *Schistosoma mansoni* encontrados nos intestinos delgado e grosso de camundongos com um casal do parasito, em diferentes dias após a infecção.

N.º de camundongos	Média ± desvio padrão		Valores de P
	Dias após infecção	Ovos de primeiro estágio	
5	42,6 ± 1,1	163,6 ± 159,2	NS
5	53,8 ± 1,3	273,0 ± 66,7	
5	71,4 ± 7,7	432,8 ± 77,8	0,025
4	149,2 ± 38,4	288,8 ± 43,4	0,025
5	317,8 ± 92,0	295,2 ± 53,8	NS

NS = Não significativo
 Teste de Student $p < 0,05$

As extensões dos segmentos dos intestinos contendo ovos de primeiro estágio estão registradas na Tabela III. Estes segmentos correspondem aos locais do sistema porta onde o ca-

sal de parasitos transitou no período de 24 horas.

Sobre os diferentes estádios dos ovos encontrados nos intestinos, os dados encontram-se na Tabela IV e Figs. de 1 a 4.

DISCUSSÃO

Diversos pesquisadores observaram que nos intestinos do camundongo, a maior quantidade de ovos ocorria no intestino delgado^{1,2}. Nos camundongos aqui estudados, a extensão do intestino grosso correspondeu a um quinto de todo intestino.

Observando a Tabela I, verifica-se que a maior concentração de ovos maduros localizou-se, parcial ou totalmente, entre o 20º cm a partir do piloro e a primeira metade do intestino grosso. Como estes ovos representam a etapa final do processo evolutivo, a referida porção corresponde ao local de maior concentração de ovos viáveis e, portanto, a faixa preferencial de postura da cepa LE' em intestino de camundongo.

A oviposição diária do casal de *S. mansoni* foi quantificado por diversos pesquisadores^{6,8,10,11,17}. Ela corresponde ao número de ovos do 1.º estágio encontrados nos tecidos, visto que estes elementos apresentam uma vida média de 24 horas¹².

T A B E L A III

Extensão do segmento dos intestinos delgado e grosso com ovos de primeiro estágio de *Schistosoma mansoni* (cepa LE'), encontrados em camundongos com um casal do parasito.

N.º de camundongos	Dias após infecção	Média ± Desvio padrão		Valores de P
		Intestinos delgado e grosso		
		Comprimento total (cm)	% com ovos de 1.º estágio	
5	42,6 ± 1,1	52,8 ± 1,8	64,8 ± 18,0	0,05
5	53,8 ± 1,3	54,0 ± 4,5	80,2 ± 12,0	NS
5	71,4 ± 7,7	58,4 ± 6,2	87,6 ± 11,0	0,025
4	149,2 ± 38,4	56,5 ± 6,0	68,8 ± 12,1	NS
5	317,8 ± 92,0	61,6 ± 4,6	58,4 ± 27,9	

NS = Não significativo
Teste de Student $p < 0,05$

T A B E L A IV

Ovos viáveis e mortos da cepa LE' de *Schistosoma mansoni*, encontrados nos intestinos delgado e grosso de camundongos com um casal do parasito, em diferentes dias após a infecção.

N.º de camundongos	Dias após infecção	Média ± Desvio padrão			Valores de P	
		Ovos nos intestinos delgado e grosso %			OV	OM
		Viáveis	Mortos	Total		
5	42,6 ± 1,1	906,0 ± 898,6 (90,5)	96,8 ± 115,5 (9,5)	1002,8 ± 1012,1	0,025	NS
5	53,8 ± 1,3	1378,0 ± 657,2 (84,2)	257,8 ± 204,7 (15,8)	1635,8 ± 634,3	0,005	NS
5	71,4 ± 7,7	2605,4 ± 209,1 (86,3)	412,4 ± 331,7 (13,7)	3017,8 ± 358,3	NS	NS
4	149,2 ± 38,4	2273,0 ± 379,4 (66,7)	1132,8 ± 502,0 (33,3)	3405,8 ± 472,7	NS	0,001
5	317,8 ± 92,0	2483,4 ± 374,6 (26,5)	6881,2 ± 4499,2 (73,5)	9364,6 ± 4245,2		

NS = Não significativo
Teste de Student $p < 0,05$

OV = Ovos viáveis
OM = Ovos mortos

Pela Tabela II, nota-se que a postura diária da cepa LE' variou de $163,6 \pm 159,2$ a $432,8 \pm 77,8$ ovos por casal, nos diferentes períodos após a infecção. Houve aumento significativo ($p < 0,025$) entre os dias $42,6 \pm 1,1$ e $71,4 \pm 7,7$. Em seguida, ocorreu uma queda ($p < 0,025$) entre os dias $71,4 \pm 7,7$ e $149,2 \pm 38,4$ e, posteriormente, ela permaneceu aproximadamente cons-

tante até o final do experimento ($317,8 \pm 92,0$ dias).

A distribuição de ovos de 1.º estágio ao longo do intestino, que correspondeu à postura diária, refletiu a movimentação das fêmeas ao longo do sistema porta (PELLEGRINO & COELHO¹⁵).

Como pode ser visto na Tabela III, alguns camundongos mostraram um segmento do intestino correspondente a mais de 80% do comprimento total do órgão apresentando ovos de primeiro estágio. Vê-se que, no início e mais no final do experimento, o segmento contendo ovos de primeiro estágio foi significativamente ($p < 0,05$) menor que nas observações em da-

tas intermediárias. Possivelmente, este fato se deva, nas datas iniciais, à pouca idade do parasito e, nos períodos finais de observação, à presença de tecido fibroso dificultando a postura em determinadas localizações^{2,7}.

Sobre a Tabela IV e Figs. 1 e 2, observa-se que, enquanto o número de ovos viáveis aumen-

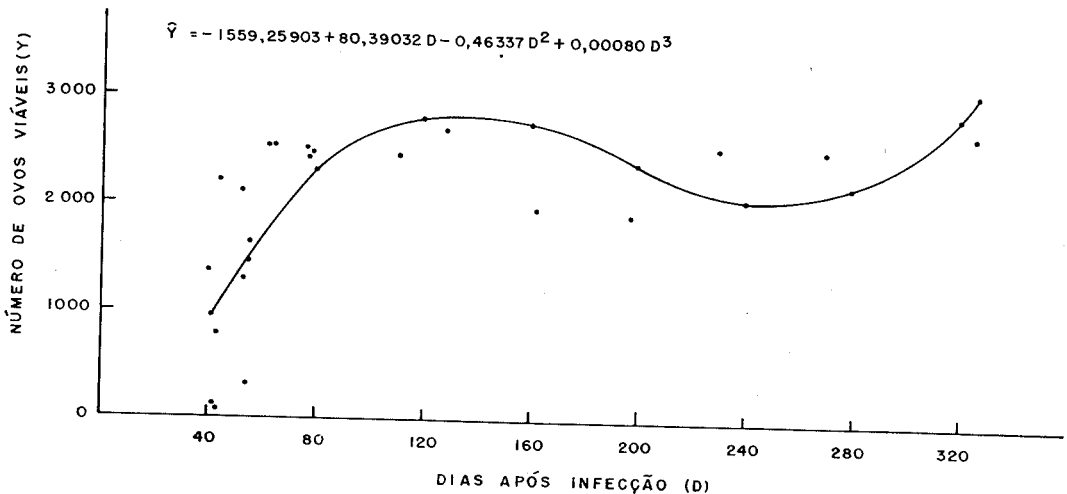


Fig. 1 — Curva dos mínimos quadrados que melhor se ajustou ao número de ovos viáveis da cepa LE' de *Schistosoma mansoni*, encontrados nos intestinos delgado e grosso de camundongos com um casal do parasito, entre os dias 42 e 326 após a infecção.

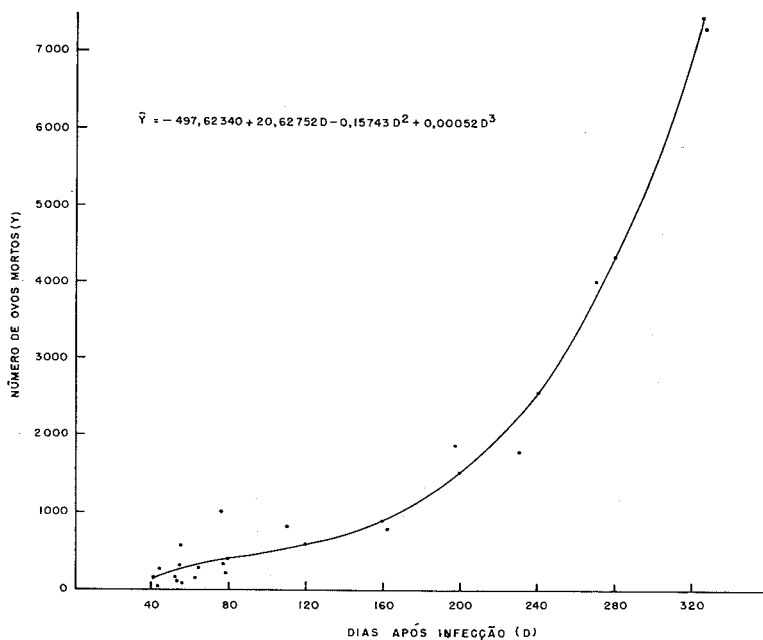


Fig. 2 — Curva dos mínimos quadrados que melhor se ajustou ao número de ovos mortos da cepa LE' de *Schistosoma mansoni*, encontrados nos intestinos delgado e grosso de camundongos com um casal do parasito, entre os dias 42 e 326 após a infecção.

tuou significativamente no início da oviposição, atingindo valores aproximadamente constantes, posteriormente, o inverso se verificou em relação ao número de ovos mortos. Provavelmente, se o experimento prosseguisse por mais tempo, o número de ovos mortos também atingiria valores aproximadamente constantes, devido à taxa de destruição de ovos nos tecidos³. Exa-

minando as porcentagens dos diferentes estádios de ovos viáveis (Fig. 3), verifica-se que, depois de $71,4 \pm 7,7$ dias após a infecção, as referidas porcentagens permaneceram aproximadamente constantes. É plausível que isto se deva à vida média de cada estádio¹². Examinando também a Fig. 4, verifica-se que as proporções dos estádios de ovos viáveis permaneceram re-

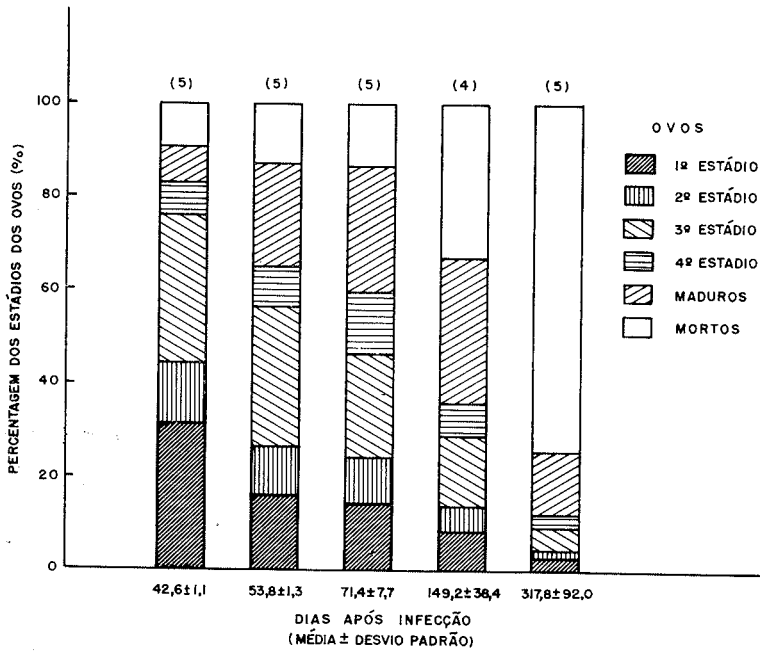


Fig. 3 — Porcentagem dos diferentes estádios de ovos da cepa LE' de *Schistosoma mansoni*, encontrados nos intestinos delgado e grosso de camundongos com um casal do parasito, em diferentes dias após a infecção (n).

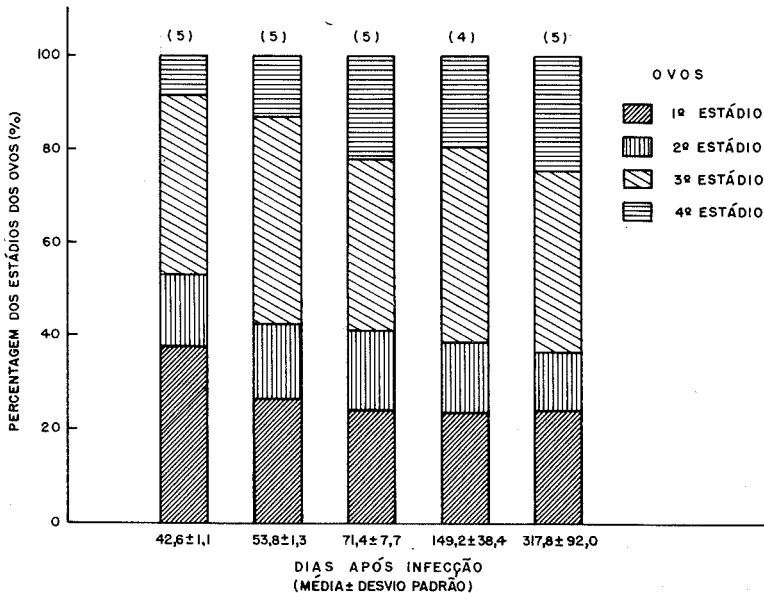


Fig. 4 — Porcentagem dos diferentes estádios de ovos imaturos da cepa LE' de *Schistosoma mansoni*, encontrados nos intestinos delgado e grosso de camundongos com um casal do parasito, em diferentes dias após a infecção (n).

lativamente constantes a partir da mesma data ($71,4 \pm 7,7$). Por outro lado, a proporção destes ovos viáveis tornou-se cada vez menor, em comparação com a proporção de ovos mortos, em função do envelhecimento da infecção.

SUMMARY

Schistosoma mansoni: some aspects of oviposition (LE' strain) in mice infected with a couple of worms.

The oviposition of *S. mansoni* (LE' strain) in the intestine of mice, infected with a couple of worms, was studied at different days after infection. It was noticed significant difference in the daily egg laying by female, the highest concentration of eggs occurring at the site localized between 20 cm after the pylorus and the first half of the large intestine, in all the periods studied. This work is a contribution to the improvement of the oogram method, which is the most sensitive technique used for screening antischistosomal drugs, at present.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARRETO, A. C. — Observações em torno da migração, acasalamento e postura do *Schistosoma mansoni*. [Tese, Docência-livre]. Bahia, Faculdade de Farmácia, 1961, 59 p.
2. BRENER, Z. — Observações sobre a infecção do camundongo pelo *Schistosoma mansoni*. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 8: 565-575, 1956.
3. CHEEVER, A. W. & ANDERSON, L. A. — Rate of destruction of *Schistosoma mansoni* eggs in the tissue of mice. *Am. J. Soc. Trop. Med. Hyg.* 20: 62-68, 1971.
4. CUNHA, A. S. — O método do oograma em ensaios terapêuticos clínico na esquistossomose mansoni. [Tese, Docência-livre]. Belo Horizonte, Faculdade de Medicina, UFMG, 1963, 172 p.
5. FREITAS, J. R. — Ritmo de crescimento de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). Padronização da técnica de criação. [Tese, Docência-livre]. Belo Horizonte, ICB/UFMG, 1973, 108 p.
6. KLOETZEL, K. — Egg and pigment production in *Schistosoma mansoni* infections of the white mouse. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 16: 293-299, 1967.
7. KLOETZEL, K. — Tissue reactions to *Schistosoma mansoni* eggs. II — Distribution of eggs in faeces at different levels of the intestinal wall, at intervals after infection. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 64: 116-121, 1970.
8. KOURA, M. — The relation between egg production and worm burden in experimental schistosomiasis. *J. Egypt. Med. Ass.* 53: 598-603, 1970.
9. MOORE, D. E. & WARREN, K. S. — Hepatosplenic schistosomiasis mansoni and japonica compared in mice each infected with one pair of worms. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 61: 104-109, 1967.
10. MOORE, D. V. & SANDGROUND, J. H. — The relative egg producing capacity of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 5: 831-840, 1956.
11. NEWSOME, J. — Maturation of schistosome egg "in vitro". *Nature* (London) 195: 722-723, 1962.
12. PRATA, A. — *Biopsia retal na esquistossomose mansoni. Bases e aplicações no diagnóstico e tratamento.* [Tese, Docência-livre]. Rio de Janeiro, Serviço Nacional de Educação Sanitária, 1957, 197 p.
13. PELLEGRINO, J. & SIQUEIRA, A. F. — Técnica de perfusão para colheita de *Schistosoma mansoni* em cobaias experimentalmente infectadas. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 8: 589-597, 1956.
14. PELLEGRINO, J. & FARIA, J. — The oogram method for screening of drugs in schistosomiasis mansoni. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 14: 363-369, 1965.
15. PELLEGRINO, J. & COELHO, P. M. Z. — *Schistosoma mansoni*: wandering capacity of a worm couple. *J. Parasit.* 64: 181-182, 1978.
16. SNEDECOR, G. W. & COCHRAN, W. G. — *Statistical Methods.* U.S.A., Iowa State University Press, 1967.
17. WEINMANN, J. C. & HUNTER, G. W. — Studies on schistosomiasis. XVI — The effect of immune serum upon egg production by *Schistosoma mansoni* in mice. *Exp. Parasit.* 11: 56-62, 1961.

Recebido para publicação em 10/6/1980.