

SOBRE O COMPORTAMENTO DE DUAS LINHAGENS DE SCHISTOSOMA MANSONI SAMBON, 1907. Proposição para método de estudo quantitativo.*

Luiz A. Magalhães** José F. de Carvalho***

Depois de tecerem comentários sobre as relações parasito-hospedeiro, os autores propõem um método para o estudo quantitativo de duas linhagens de Schistosoma mansoni. Após a proposição do método e sua aplicação, os autores concluem que a linhagem mineira de S. mansoni é mais patogênica do que a linhagem paulista do mesmo trematódeo.

INTRODUÇÃO

Certos de termos ingressado na época da quantificação dos fenômenos biológicos, propo-nos estudar duas linhagens de um parasita que apresentasse grande interesse em saúde pública.

Railliet¹⁹ em 1895 escreveu "... Em verdade, temos por constante que o parasitismo comporta quase sempre modalidade tal que a ação do parasita se encontre equilibrada pela resistência do hospedeiro. Mas esta harmonia biológica é logo rompida quando modificações desvantajosas vêm produzir-se na constituição deste último. Aparecem então as perturbações funcionais que caracterizam as *doenças parasitárias*".

Percebemos, pela leitura do texto acima, que os parasitologistas dos fins do século passado já tinham compreendido a bilateralidade do fenômeno parasitário no sentido de que à ação do parasita contrapõe-se a reação do hospedeiro.

A ação do parasita e a reação do hospedeiro podem ser, pois, consideradas forças oponentes de um sistema.

Partindo do fato de que os parasitas, para que tenham importância médica, devem ser de

algum modo lesivos ao seu hospedeiro, admitimos que certas transformações observáveis no hospedeiro possam ser interpretadas como fruto de atividade do parasita, sendo freqüentemente mensuráveis em unidades de nocividade.

Creemos ser possível exprimir em números as lesões produzidas no hospedeiro por quantidade determinada de parasitas, considerando o número de lesões em função do número de parasitas. À quantidade de lesões que um parasita produz em um tempo predeterminado e sob condições controláveis em laboratório, convencionamos chamar de *grau de nocividade*.

Nessas circunstâncias, torna-se óbvio que a sobrevivência dos hospedeiros será função do grau de nocividade produzido pelos parasitas.

Mediante a análise destas funções julgamos possível obter números que seriam utilizados na pretendida mensuração.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Durante o processo evolutivo, alguns seres vivos adaptaram-se por seleção natural ao parasitismo. Esta forma de vida poderia ou não ter evoluído para um parasitismo obrigatório, dependendo esta alternativa de um conjunto de

* Trabalho realizado com o auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq)

** Instituto de Biologia da UNICAMP. Caixa Postal 1170. Campinas São Paulo.

*** Instituto de Ciências Matemáticas de São Carlos, USP, São Carlos, SP.

Recebido para publicação em 28.4.76.

situações, as quais poderíamos resumir da seguinte maneira: o parasitismo obrigatório seria instalado a medida em que as condições fornecidas pelo ambiente de vida livre ao parasita não permitisse a sobrevivência da espécie e, sempre que as novas circunstâncias fornecidas pelo parasitismo propiciassem meios a uma melhor adaptação hospedeiro-parasita.

A interação *ser de vida livre* — *ecossistema* dependeria, então, da adaptabilidade do ser vivo e de fatores mais ou menos variáveis do ambiente; porém, de um modo geral, poderíamos considerar apenas uma variável adaptativa: *o ser vivo*. Dizemos isto, conscientes de que, nas relações *ser vivo-ecossistema*, entram em jogo variados fatores, inclusive os relacionados com outros seres vivos participantes da biocenose. Entretanto para fins de estudo, a adaptação ao ambiente é muito mais fácil de ser notada no ser de vida livre particularmente considerado, que na resposta do conjunto da biocenose tomada como um todo.

Na interação *parasita* — *hospedeiro*, as variáveis adaptativas passam não só a correr por conta do parasita como também por parte do hospedeiro. Teríamos neste segundo caso, um ambiente para o ser vivo parasita muito mais dinâmico sob o ponto de vista adaptativo, embora que, submetido a um processo de homeostase. Sobremaneira é de se notar, que a reação promovida pelo hospedeiro é, em grande parte, dirigida contra o parasita, reação tão evidente, que por vezes poderíamos medí-la através de modificações observadas no organismo do hospedeiro.

Considerando-se os conjuntos *parasita* — *ecossistema* e *parasita* — *hospedeiro* como grandes sistemas formados por dois sistemas menores, quais sejam, os organismos vivos e o ecossistema, teríamos sistemas que passariam a funcionar em interação e em interdependência, estando sujeita às resultantes destes sistemas a sobrevivência do hospedeiro e do parasita.

Expostos tais fatos, poderíamos supor que seria mais simples o estudo quantitativo das condições de sobrevivência de uma espécie de ser vivo não parasita, em virtude de usarmos no presente caso, uma só variável adaptativa. Entretanto, os fatores ligados ao *ecossistema* são tão numerosos e complexos e ao mesmo tempo a variabilidade tão difícil de ser medida, que a obtenção de um modelo representativo da dinâmica *ser de vida livre* — *ecossistema*, só foi praticável em poucos casos.

Já no sistema *parasita* — *hospedeiro*, pela

limitação do ambiente do ser parasita e pelo maior número de informações obtidas através do comportamento do organismo do hospedeiro, seria possível, dentro de certos limites, obtermos dados que possibilitassem a maior compreensão do fenômeno parasitário, tornando realizável o cálculo de constantes e variáveis. De acordo com este modelo, poderíamos obter uma maneira de avaliar quantitativamente o fenômeno parasitário estudado.

A fim de que pudéssemos estabelecer critérios para as diversas variáveis que entram na elaboração do nosso modelo, necessitaríamos limitá-los dentro de certos conceitos, que necessariamente não teriam que concordar com os conceitos clássicos adotados, por não corresponderem estes a um critério definido sob o ponto de vista em que nos colocamos.

A definição adotada para parasita e hospedeiro, é contudo clássica e preconizada por Pavlovsky¹⁴:

"PARASITA — é uma espécie biológica que vive às expensas de outra, biológica e ecologicamente, intimamente conectada com ela".

"HOSPEDEIRO — é o ser vivo que alberga em seu organismo outro ser vivo, em perfeita interação com ele, fato indispensável para a sobrevivência do albergado, havendo entre eles um íntimo contato e vivendo o parasita às expensas do primeiro".

O fato do ser vivo parasita obrigatório necessitar para sua sobrevivência do íntimo contato com o hospedeiro significa que o hospedeiro sempre lhe fornece algo: alimento, calor, espaço, etc. Poderíamos aventar a hipótese de que o parasita retira do hospedeiro determinada substância indesejável a este, fato indispensável à sobrevivência do hospedeiro. Este fato parece-nos, nunca foi observado na natureza e, mesmo assim, não excluiria a utilização por parte do parasita de outras propriedades do hospedeiro, quanto mais não fosse do espaço ocupado pelo parasita. É também pouco provável, sob o ponto de vista da evolução, que um ser de vida livre se tenha tornado parasita, em consequência de possuir a propriedade de retirar determinada substância do organismo de seu futuro hospedeiro, substância lesiva ao hospedeiro. Acreditamos que este mecanismo não se enquadra dentro do critério que teria selecionado as espécies existentes, ou pelo menos, torna este evento muitíssimo pouco provável.

Por princípio aceitamos que os parasitas são sempre lesivos ao hospedeiro.

Por outro lado, sabemos que alguns parasitas danificam o hospedeiro por vários mecanismos, como por exemplo, através da ação de toxinas, ações alergisantes, imunitárias, mecânicas, etc.

O prejuízo decorrente da ação do parasita sobre o hospedeiro é traduzido através de um *Grau de Nocividade*.

Como por exemplo, no caso de ação espoliativa poderíamos medir o *Grau de Nocividade* mediante as mudanças observadas no hospedeiro, em virtude da retirada de atributos de seu organismo, como ocorre no caso da anemia ancilostomótica.

Outro mecanismo de nocividade seria igualmente fornecido pela competição entre hospedeiro e parasita, visando à utilização de substâncias necessárias a ambos.

Vemos assim, que o termo nocividade aqui utilizado é de sentido bem amplo, sendo sempre usado com o significado de traduzir o malefício causado pelo parasita ao hospedeiro.

Denominamos *Grau de Nocividade* ao maior ou menor malefício causado pelo parasita ao hospedeiro.

Necessariamente a retirada de atributos do hospedeiro pelo parasita não causaria dano perceptível ao hospedeiro. É, entretanto, lógico raciocinar-se que, quanto maior a quantidade de atributos retirados, mais o hospedeiro sentirá o parasitismo, havendo assim, um limite em que a vida do hospedeiro não seria mais possível, tal o malefício provocado pelo parasita. Em outras palavras, diríamos que, em se tendo um grupo de hospedeiros parasitados por determinado número de parasitas, acima de determinado limite, o grau de nocividade determinaria uma diminuição do número de hospedeiros que sobreviveriam em um tempo t .

Por outro lado, pelo fato de admitirmos um parasita obrigatório, teríamos que concordar que esse parasita só sobreviveria mediante uma quantidade mínima de atributos retirados do hospedeiro, provocando deste modo um grau mínimo de nocividade.

Em outras palavras, cada parasita seria responsável por um grau de nocividade. O grau de nocividade resultante da ação de um determinado número de parasitas seria o resultado do conjunto dos graus de nocividade de cada parasita. O *Grau de Nocividade* estaria assim relacionado ao número de parasitas que conseguissem sobreviver no organismo do hospedeiro em um tempo t .

O grau de nocividade seria conseqüência não só do número de parasitas albergados por

hospedeiro, como também da patogenicidade apresentada pela linhagem estudada.

Teríamos então o seguinte raciocínio: a percentagem de sobrevivência observada em vários lotes de hospedeiros num tempo t variaria em relação inversa com o *Grau Médio de Nocividade* encontrado em cada lote, e a média do número de parasitas sobreviventes por lote de hospedeiros, após decorrido um tempo t , variaria em relação direta com o *Grau Médio de Nocividade* encontrado nos lotes correspondentes de hospedeiros.

Havendo uma interação parasita-hospedeiro e sendo o *Grau de Nocividade* a expressão do malefício causado ao hospedeiro pelo parasita, é evidente que o *Grau de Nocividade* é o mesmo para o conjunto parasita-hospedeiro. Isto é, em determinado momento, e sob determinadas condições, o parasita e o hospedeiro estão sujeitos as conseqüências de um mesmo *Grau de Nocividade*.

Podemos exprimir estes raciocínios mediante as expressões $GN = f(NP)$ e $IS = f(GN)$; isto é, o grau de nocividade encontrado nos hospedeiros é função do número de parasitas obtidos nestes mesmos hospedeiros e o Índice de sobrevivência dos hospedeiros é função do grau de nocividade provocado pelos parasitas nestes mesmos hospedeiros.

Note-se que, no modelo, GN e NP são variáveis aleatórias que, espera-se, são dependentes. Tem sentido as variáveis aleatórias condicionais:

$$GN_y \triangleq (GN/NP = y)$$

$$NP_x = (NP/GN = x)$$

Admitimos que, casualmente, NP "precede" (é causa de) GN . Assim, a regressão $E(GN/NP = y)$ é um caso comum, ao passo que $E(NP/GN = x)$ é um problema de discriminação bem definido como técnica estatística. Portanto, não há problema técnico em se usar $E(NP/GN = x)$, que será feito para fins de apresentação gráfica, mais adiante. Ainda, em favor deste emprego, temos em mente que causa e efeito não se apresentam sempre nesta ordem, se admitimos que existe realimentação (feed-back) neste fenômeno.

A expressão gráfica da função $GN = f(NP)$ é dada colocando-se o grau de nocividade (GN) nas ordenadas e o número de parasitas que sobreviveram a experiência (NP) nas abscissas (Gráfico 1). A função obtida por este gráfico é válida dentro de um tempo t , para espécies determinadas, populações determinadas e den-

tro de certos limites dados pelos meios de primeira e segunda ordem (Zhdanov)²⁶.

A função $IS = f(GN)$ poderia representar-se graficamente como apresentado no Gráfico 2.

GRÁFICO Nº 1

Previsão da expressão gráfica da função

$$GN = f(NP)$$

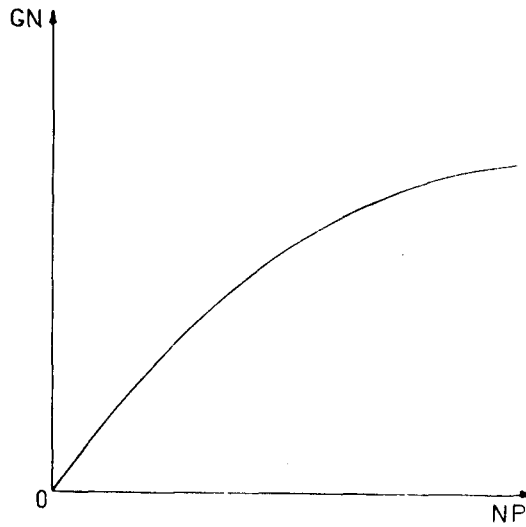
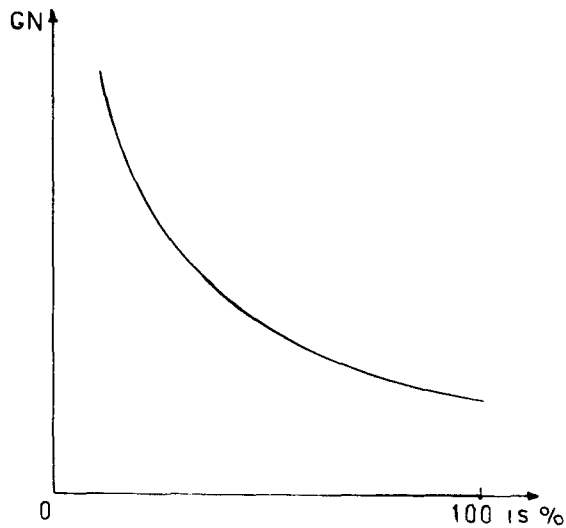


GRÁFICO Nº 2

Previsão da expressão gráfica da função

$$IS = f(GN)$$



Os pontos, obtidos para o traçado das funções, seriam fornecidos pelas diferentes relações entre o *Grau de Nocividade* e a percentagem média de sobrevivência do hospedeiro e o número médio de parasitas que sobrevivessem o período da experiência.

Sabemos que o índice de sobrevivência da população de parasitas deverá ser inversamente proporcional a concentração populacional por área. Em virtude desse fato, quando nos referimos ao parasita, evitamos assinalar o índice de sobrevivência fornecendo o número médio de parasitas que nas condições da experiência, determina um grau de nocividade em um tempo t . Na natureza o grau de infecção de cada espécime de hospedeiro por determinado parasita varia dentro de limites bastante amplos, que certamente poderão ser restringidos em laboratório, mediante a tentativa de uniformização das condições ambientais.

É de se esperar também que a nocividade determinada por um único grau de infecção varie dentro de certa faixa. Essa variabilidade estaria na dependência de fatores imunológicos e homeostáticos, próprios de cada organismo, oriundos, alguns, de determinantes genéticos intra-específicos.

Além do *Grau de Nocividade* outras causas poderão ainda influir na percentagem de sobrevivência do hospedeiro. Entretanto, admitimos que, apesar destes fatores constituírem um motivo de inexatidão do nosso modelo, haverá uma grande relação entre o *Grau de Nocividade* (GN) e a percentagem de sobrevivência dos

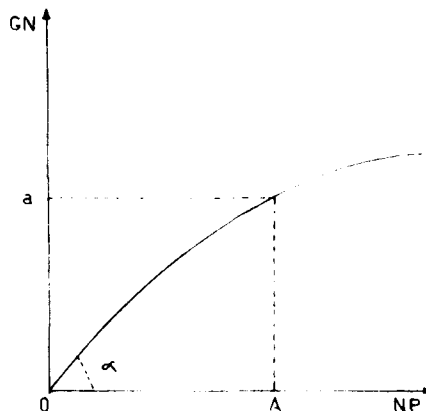
hospedeiros e o número de parasitas sobreviventes, mais ainda se no laboratório, tratarmos de eliminar, tanto quanto possível, as causas prováveis que poderiam influir indesejavelmente sobre a experiência.

O fato de considerarmos o GN fruto da ação do número de parasitas sobreviventes no período da experiência, faz com que desdenhemos a ação nociva dos parasitas que morressem no decurso da experiência. Em se tratando de parasitas longevos, admite-se que os que sobrevivessem a etapa da fixação no hospedeiro, etapa esta crítica à sobrevivência dos mesmos, teriam grande chance de permanecerem vivos até o fim da experiência, levando-se em consideração não ser este período demasiadamente longo.

Mediante o estudo da função $GN = f(NP)$, poderemos admitir que sua representação gráfica nada mais seria que a expressão da média da intensidade de parasitismo, delimitada pela média do número de parasitas sobreviventes e pelo grau médio de nocividade, causados por eles próprios.

A intensidade de parasitismo de um determinado número médio de parasitas seria fornecido na representação gráfica da função $GN = f(NP)$ pelo ângulo α . Nas condições da experiência a intensidade média de parasitismo seria dada pela relação $\frac{GN}{NP}$, ou para um determinado número de parasitas ela poderia ser expressa pelo grau médio de nocividade (Gráfico 3).

GRÁFICO Nº 3

Representação gráfica do ângulo α 

Poderemos definir a *Intensidade de Parasitismo Máximo* como a maior capacidade do parasita estudado em lesar o hospedeiro, nas condições da experiência, isto é, o maior valor numérico de $\frac{GN}{NP}$.

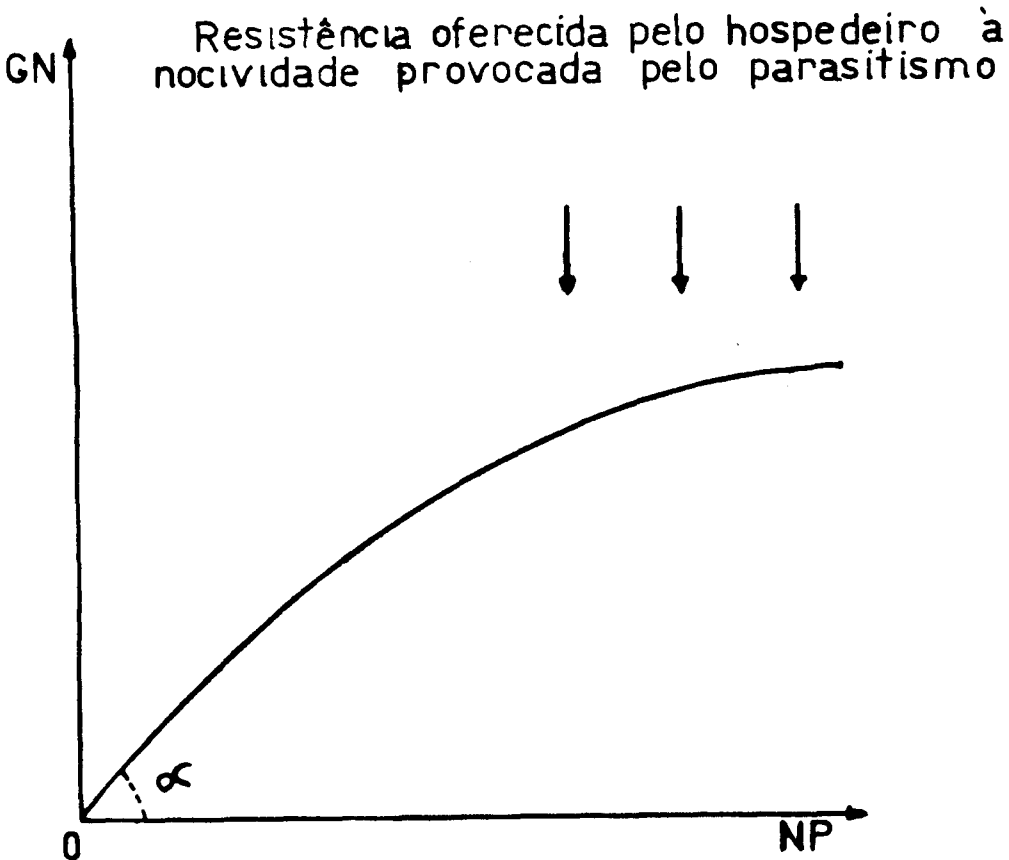
Sabemos que o número de parasitas por hospedeiro é limitado por vários fatores inerentes a própria população de parasitas e ao hospedeiro. Em virtude destes e de outros fatos, acima de determinado limite não haverá a mencionada relação GN/NP.

Entretanto, dentro de limites a serem estabelecidos poderemos admitir uma relação direta

entre o *Grau de Nocividade Médio* e o número médio de parasitas. Concordamos que a *Intensidade Média de Parasitismo* está diretamente relacionada com o *Grau Médio de Nocividade* e é limitada pela resistência oferecida pelo hospedeiro, manifestada por mecanismos de defesa (Gráfico 4).

Imaginamos que se fosse possível durante milhares de anos acompanharmos as relações hospedeiro-parasitas traduzidas através da função $GN = f(NP)$, mantendo-se constante o número de parasitas utilizados nas sucessivas experiências por uma infinidade de gerações, teríamos, hipoteticamente, a obtenção do Gráfico teórico 5.

GRÁFICO Nº 4



Imaginemos um animal de vida livre que gradativamente fosse, por mecanismos de competição e seleção naturais, adaptando-se a vida parasitária.

Numa fase inicial, isto é, durante as primeiras gerações, é de se esperar um aumento de nocividade oriunda da crescente adaptação do animal de vida livre a nova vida parasitária.

A ausência temporária dos mecanismos específicos de defesa do hospedeiro, explicaria a maior intensidade da deflexão inicial.

Com a organização dos mecanismos de defesa do hospedeiro haveria uma queda da nocividade traduzida em menor quantidade de lesões produzidas pelo parasita.

Não tardaria, porém, que os parasitas das gerações posteriores encontrassem novos processos de agressão, produzindo nova deflexão, ainda que mais atenuada.

Como estabelecemos por princípio que o número de parasitas seria o mesmo durante a infinidade de sucessivas infecções, as variações

de nocividade decorreriam da capacidade que cada conjunto de gerações de parasitas possuísse de lesar o hospedeiro.

Do conjunto de raciocínios acima expostos, achamos que com o decorrer do tempo, para uma mesma espécie de parasita e hospedeiro, o ângulo α , que traduz, como vimos anteriormente, a intensidade do parasitismo produzido por um determinado número médio de parasitas, tenderia a diminuir. Em virtude deste fenômeno poderíamos pensar que quanto mais adaptados fosssem os seres vivos ao parasitismo, menor seria o valor de α , isto é, menor seria a nocividade destes parasitas (Gráfico 6).

GRAFICO Nº 5

Expressão gráfica teórica da função $GN = f(t)$ mantendo-se constante NP
t = milhões de anos

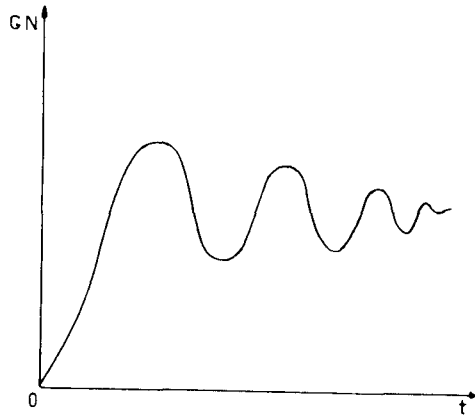
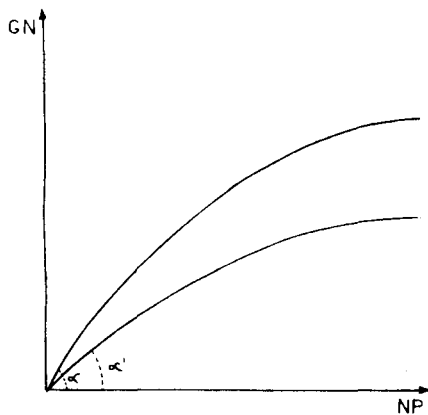


GRÁFICO Nº 6

Expressão gráfica da função $GN = f(NP)$
Ângulo α representa parasitismo menos adaptado que o ângulo α'



O exame do gráfico teórico representativo da função $GN = f(t)$ mantendo-se constante NP, faz-nos imaginar que, após o estabelecimento do equilíbrio hospedeiro-parasita, a retirada abrupta do fator parasita, poderia acarretar um desequilíbrio no sistema, pois os mecanismos de defesa do hospedeiro poderiam agir em detrimento dele próprio.

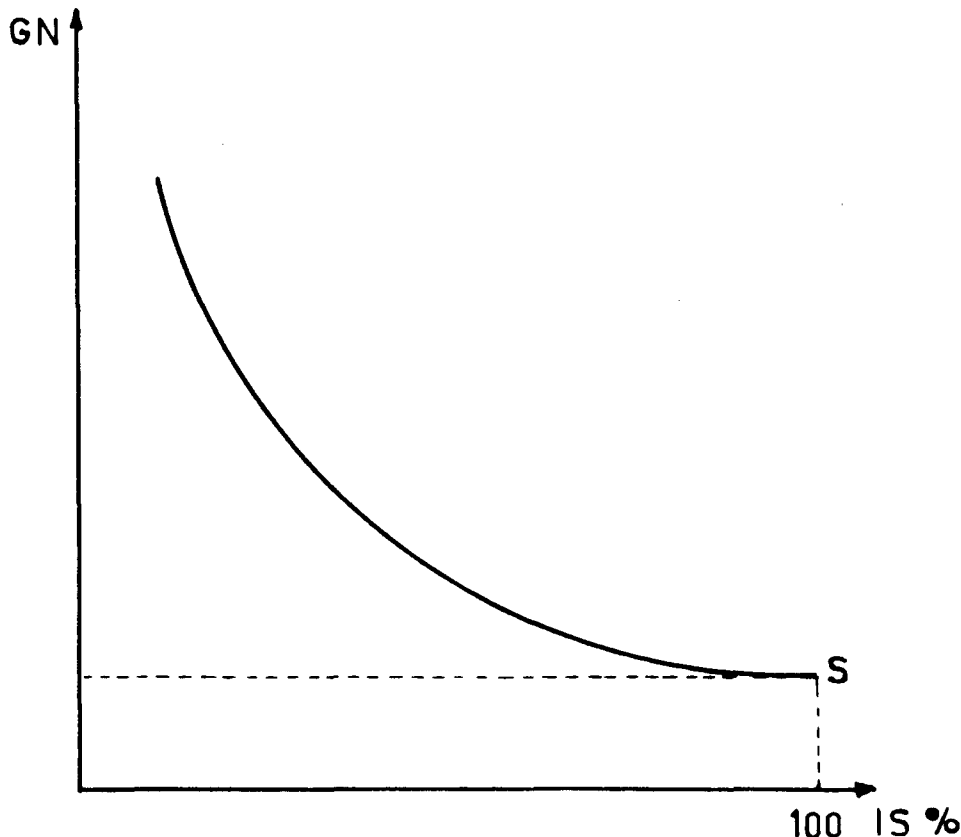
No traçado teórico da função $GN = f(t)$ (mantendo-se NP constante), levamos em conta as forças de defesa do hospedeiro e as forças de defesa do parasita contrárias às do hospedeiro, que tenderiam sempre a um grau médio de

nocividade mais elevado, unidos a fatores oriundos da adaptação do hospedeiro à sua nova circunstância orientada no sentido de suprir condições de sobrevivência a ele mesmo e também ao parasita.

Pela representação da previsão gráfica da função $IS = f(GN)$ onde IS é o índice médio percentual da sobrevivência de lotes de hospedeiros, verificamos que a percentagem máxima de sobrevivência possível ($PS = 100$) é determinada por um valor médio do grau de nocividade. Abaixo deste valor não teríamos manifestações patogênicas capazes de determinar mortalidade dos hospedeiros (Gráfico 7).

GRÁFICO Nº 7

Determinação do ponto S na representação da função $IS = f(GN)$



O ponto determinado na função $IS = f(GN)$ pelo valor $IS = 100$, chamaremos de S. O ponto S determina no eixo das ordenadas o valor médio máximo do grau de nocividade que não provoque modificação da percentagem de sobrevivência dos lotes dos hospedeiros.

Como as representações gráficas de $GN = f(NP)$ e $IS = f(GN)$ são relativas ao mesmo fenômeno parasitário e a escala do grau de nocividade é idêntica para as duas funções, poderemos exprimi-las como representado no Gráfico 8.

GRÁFICO N.º 8

Representação gráfica das funções $GN = f(NP)$ e $IS = f(GN)$ com escala comum de grau de natividade

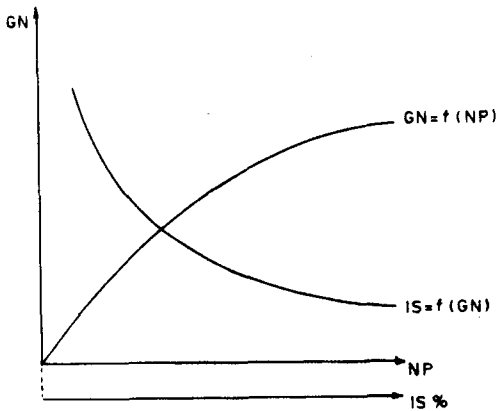
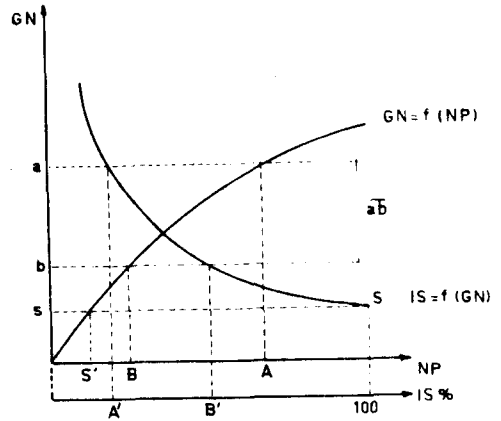


GRÁFICO N.º 9

Determinação da faixa \overline{ab} e do ponto S



Sabemos que quando mantemos linhagens de parasitas em laboratório, por repiques sucessivos utilizando-se para isto lotes de hospedeiros, se a percentagem de sobrevivência dos hospedeiros por lote for muito baixa, haverá uma perda muito grande de parasitas, prejudicando a manutenção da linhagem.

Se por outro lado a quantidade de parasitas por hospedeiro for muito pequena, haverá grande dificuldade na obtenção do material para os repiques. É, pois, de conveniência o estabelecimento de limites mínimos de sobrevivência dos

hospedeiros e de número de parasitas por hospedeiro a obter após decorrido o período da experiência.

Poderemos calcular a quantidade de inóculo de modo que o número médio de parasitas por hospedeiro mantenha-se acima de um determinado limite mínimo arbitrado.

Escolhendo-se por exemplo, o limite mínimo médio A de parasitas a serem obtidos após decorrido determinado tempo de parasitismo, a este ponto corresponderá um grau médio de nocividade a (Gráfico 9).

Este grau médio de nocividade a determinará um índice médio de sobrevivência dos hospedeiros que será o limite máximo médio de hospedeiros sobreviventes no final da experiência.

Arbitrando-se o limite médio mínimo de sobreviventes hospedeiros em B' , este valor corresponderá ao grau médio de nocividade b que por sua vez corresponderá a um limite máximo médio do número de parasitas B .

Nos limites estabelecidos para a experiência o grau médio de nocividade variará de a a b . Convencionamos chamar o segmento \overline{ab} de faixa de nocividade.

Os valores alcançados de GN dentro dos mesmos limites estabelecidos, serão tanto maiores quanto mais virulenta for a linhagem do parasita estudado.

O ponto S corresponderá a um GN (não capaz de produzir mortalidade nos hospedeiros) que por sua vez corresponderá a um valor S' que será o número médio máximo de parasitas que no período da experiência não produzirá mortalidade aos hospedeiros.

Além da utilidade prática destas determinações na manutenção das cepas, estes pontos servirão para o estudo comparativo do comportamento de duas linhagens diferentes de parasitas pertencentes a uma mesma espécie.

Aplicação do método proposto:

Escolha do parasita e do hospedeiro.

Ao escolhermos o *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, para os nossos ensaios, fizemo-lo por diversos motivos:

1º) Porque já há alguns anos vínhamos desenvolvendo uma linha de pesquisas orientada para o estudo deste helminto e de seus hospedeiros intermediários, adquirindo, desta forma, prática na manutenção dessas espécies em laboratório, e colocando-nos também a par da vasta bibliografia sobre o assunto;

2º) Por julgarmos que os dados obtidos nas experimentações com aquele trematódeo seriam facilmente aplicáveis à execução do nosso plano;

3º) Porque o *S. mansoni* apresenta linhagens distintas. Ao que tudo indica, essas linhagens possuem comportamento diferente, tanto no que diz respeito às suas relações com os hospedeiros intermediários, como também com os definitivos.

Paraense & Corrêa¹³ em 1963 referiram a existência de duas linhagens de *S. mansoni*. Com a descoberta dos focos de esquistossomose

em Santos por Moura, em 1945¹¹ e no Vale do Rio Paraíba em São Paulo por Piza & col., em 1959¹⁷ e em outras localidades do mesmo estado¹⁸ ficou evidente não só a importância desta parasitose no sul do Brasil, como também a diversidade de comportamento de várias populações de helminto.

Escolhemos, por estes motivos, duas linhagens de *S. mansoni*: a primeira, oriunda de população de *Biomphalaria glabrata*²⁰ de Belo Horizonte; a segunda proveniente de *Biomphalaria tenagophila* do Vale do Rio Paraíba²⁵.

Uma vez escolhida as duas linhagens do parasita, restava escolher o hospedeiro definitivo. Dentre os hospedeiros definitivos do *S. mansoni* é, sem dúvida o camundongo⁷ que apresenta melhores vantagens, tanto pela facilidade de sua manutenção em laboratório, como também por sofrer uma patogenia esquistossomótica semelhante à encontrada no homem^{1,6,10,22}.

As duas linhagens do verme foram, portanto, obtidas e mantidas em laboratório, mediante passagens sucessivas, utilizando-se como hospedeiro definitivo camundongos albinos e, como hospedeiros intermediários, as duas espécies de planorbídeos supra mencionados e originalmente responsáveis pela manutenção dos respectivos focos na natureza.

Como critério para determinação do Grau de Nocividade escolhemos a quantidade de granulomas hepáticos observados nos camundongos infectados após o decurso de 60 dias da infecção.

Esta determinação pareceu-nos adequada, pois é fato notório o importante papel destas lesões na patogenia da esquistossomose e sua estreita relação com o número de parasitas.

Também determinamos o índice de sobrevivência apresentado pelos camundongos infectados por diferentes quantidades de cercárias e o número de esquistossomas sobreviventes, após o mesmo período de duração da experiência.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Determinação da percentagem de sobrevivência de camundongos albinos infectados por números de pré-fixados de cercárias de duas linhagens de *S. mansoni*.

Foram utilizadas, na presente experiência, cercárias das duas linhagens de *S. mansoni*, acima referidas.

As cercárias foram obtidas de grupos de 5 moluscos infectados, cada molusco previamente submetido à infecção por 10 miracídios.

Desta maneira, procuramos assegurar maior probabilidade de distribuição igual de vermes machos e fêmeas, por lotes de cercárias utilizadas.

Usamos camundongos albinos oriundos do biotério da Faculdade de Medicina de Ribeirão

TABELA I

Sobrevivência de Camundongos por Números Utilizados de Cercárias de *S. Mansonii* da Linhagem de Belo Horizonte

Número de Cercárias	Número de Camundongos Infectados	Índice de Sobrevivência dos Camundongos (1)
200	13	15,4
100	103	19,4
60	26	30,8
30	10	60,0
10	6	100,0

(1) Dados em percentagem

A partir da infecção, os camundongos foram inspecionados diariamente e os que morreram foram recolhidos e imediatamente necropsiados a fim de se constatar a positividade ou negatividade de infecção esquistossomótica.

Ao fim de 60 dias, contados a partir da data da infecção, determinamos as percentagens de sobrevivência dos camundongos, para cada linhagem do parasita e para cada dose de cercárias.

Todos os roedores sobreviventes foram sacrificados para verificação da infecção.

2. Estudo da relação entre o número de parasitas adultos e o número de granulomas hepáticos.

Esta experiência, como a anterior, foi realizada utilizando-se os mesmos hospedeiros e as mesmas linhagens de *S. mansonii* e envolveu o estudo de duas variáveis, a saber:

a) Número de *S. mansonii* adultos sobreviventes após período de 60 dias de infecção.

b) Número de granulomas hepáticos em camundongos de laboratório infectados por *S. mansonii*.

a) *Primeira variável:*

Utilizamos fêmeas de camundongos albinos pesando entre 14 e 16 gramas cada uma, prove-

Preto. Foram infectadas pela cauda 275 fêmeas, pesando cada uma entre 14 e 16 gramas. Tais fêmeas foram distribuídas em lotes, utilizando-se, respectivamente, 200, 100, 60, 30 e 10 cercárias por camundongo, em cada lote (Tabelas I e II).

TABELA II

Sobrevivência de Camundongos por Números Utilizados de Cercárias de *S. Mansonii* da Linhagem de São José dos Campos

Número de Cercárias	Número de Camundongos Infectados	Índice de Sobrevivência dos Camundongos (1)
200	8	25
100	73	28,8
60	22	59
30	8	75
10	6	100

(1) Dados em percentagem

nientes do biotério da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Separados em lotes, foram infectados pela cauda com os mesmos números de cercárias da experiência anterior. Após 60 dias contados a partir da data da infecção, foram sacrificados e deles foram retirados os exemplares de *S. mansonii* pelo método de perfusão dos vasos mesentéricos e hepáticos^{2, 25} complementado por esmagamento do fígado entre lâminas de vidro^{5, 21}.

b) *Segunda variável:*

Procuramos determinar não só o número de granulomas hepáticos por camundongo, como também a existência de relação entre a quantidade de granulomas e a de helmintos infectantes (primeira variável).

Após a perfusão para coleta dos helmintos adultos, os fígados dos camundongos foram submetidos à contagem de granulomas, empregando-se o método descrito por Pellegrino & Brener, em 1956¹⁵ e por Brener, Pellegrino & Oliveira em 1956³.

RESULTADOS

1. Determinação da percentagem de sobrevivência de camundongos albinos infectados por números pré-fixados de cercárias de duas linhagens de *S. mansonii*.

Os resultados estão transcritos nas Tabelas I e II.

Os camundongos nesta experiência foram convencionalmente considerados como expostos à mortalidade por ação exclusiva da infecção esquistossomótica, dada a intensidade dela para estes pequenos animais.

O processo utilizado para a comparação foi o "teste de mortalidade diferencial", descrito por Cramér.

Aplicando-se este teste aos resultados da experiência, conclui-se, ao nível de 5%, pela não-aceitação da hipótese de igualdade de sobrevivência para doses idênticas de cercárias das duas linhagens.

Realmente, a simples inspeção dos resultados mostra que a linhagem de *S. mansoni* de Belo Horizonte foi mais lesiva para os camundongos infectados do que a cepa desse helminto de São José dos Campos.

2. Estudo da relação entre o número de parasitas adultos e o número de granulomas hepáticos.

TABELA III

Número de *S. Mansoni* Adultos Sobreviventes após 60 dias de Infecção de Camundongos por Número Utilizado de Cercárias da Linhagem de Belo Horizonte

Número de Cercárias e Nº de Ordem do Camundongo		Número de Helmintos	
200	1º	18	19,0
	2º	15	
	3º	24	
	Média		
100	1º	17	17,6
	2º	18	
	3º	19	
	4º	16	
	5º	18	
Média			
60	1º	8	10,8
	2º	10	
	3º	12	
	4º	14	
	5º	6	
	6º	10	
	7º	14	
	8º	12	
Média			
30	1º	9	7,3
	2º	3	
	3º	5	
	4º	12	
Média			
10	1º	4	3,7
	2º	2	
	3º	5	
Média			

a) Número de *S. mansoni* adultos sobreviventes após período de 60 dias de infecção.

Os resultados estão transcritos nas Tabelas III e IV.

TABELA IV

Número de *S. Mansoni* Adultos Sobreviventes após 60 dias de Infecção de Camundongos Albinos por Número Utilizado de Cercárias da Linhagem de São José dos Campos

Número de Cercárias e Nº de Ordem do Camundongo		Número de Helmintos	
200	1º	18	14,0
	2º	14	
	3º	10	
	Média		
100	1º	11	12,4
	2º	15	
	3º	9	
	4º	12	
	5º	15	
Média			
60	1º	10	8,3
	2º	6	
	3º	9	
	4º	8	
Média			
30	1º	2	4,3
	2º	7	
	3º	4	
Média			
10	1º	2	1,0
	2º	1	
	3º	2	
Média			

As cercárias a que foram expostos os camundongos e os parasitas adultos deles obtidos nesta experiência devem ser considerados como uma mesma população, sujeita à mortalidade no tempo entre a exposição e o sacrifício dos roedores.

As capacidades de desenvolvimento das cercárias das duas cepas podem, então, ser comparadas através do teste de mortalidade diferencial supra utilizado no estudo da sobrevivência do hospedeiro.

Feitos os cálculos pertinentes, conclui-se, ao nível de 1%, pela não rejeição da hipótese de igualdade das capacidades de desenvolvimento do *S. mansoni* das cepas estudadas.

b) Número de granulomas hepáticos em camundongos de laboratório infectados pelo *S. mansoni*.

Os resultados estão contidos nas Tabelas V e VI.

Conforme veremos mais adiante, a relação entre o grau de nocividade e o número de parasitas tem aspecto hiperbólico. Tomando-se a relação entre os logaritmos dessas duas quantidades, transformamos aquela forma funcional na de uma reta.

A comparação entre as duas cepas pode, com essa transformação, ser feita através da análise de variância de modelo regressivo.

Os resultados dos cálculos estão enumerados no item da "Análise estatística dos resultados das experiências", onde se conclui, no sub-item "paralelismo", que as cepas diferem significativamente ao nível de 5%. ($F = 14,41$ contra o valor teórico $F_{0,95}(1:34) = 4,13$).

TABELA V

Número de Granulomas Hepáticos Presentes após 60 dias da Infecção por Número Conhecido de Cercárias da Linhagem de Belo Horizonte

Número de Cercárias e Número de Ordem do Camundongo	Número de Granulomas
200 1º	4.320
200 2º	2.106
200 3º	2.457
Média	2.961
100 1º	972
100 2º	1.674
100 3º	2.053
100 4º	1.944
100 5º	2.106
Média	1.750
60 1º	810
60 2º	756
60 3º	1.134
60 4º	1.620
60 5º	540
60 6º	1.080
60 7º	1.080
60 8º	1.566
Média	1.073
30 1º	216
30 2º	810
30 3º	864
30 4º	972
Média	716
10 1º	108
10 2º	108
10 3º	43
Média	86

TABELA VI

Número de Granulomas Hepáticos Presentes após 60 dias da Infecção por Número Conhecido de Cercárias da Linhagem de São José dos Campos

Número de Cercárias e Nº de Ordem do Camundongo	Número de Granulomas
200 1º	918
200 2º	702
200 3º	1.836
Média	1.152
100 1º	810
100 2º	594
100 3º	756
100 4º	1.188
100 5º	1.242
Média	918
60 1º	648
60 2º	756
60 3º	702
60 4º	540
Média	662
30 1º	324
30 2º	270
30 3º	378
Média	324
10 1º	0
10 2º	0
10 3º	0

Utilização dos dados numéricos fornecidos pelas experiências.
Bases para os cálculos das diversas relações.

Com os dados obtidos nas experiências anteriormente assinaladas, calculamos várias relações entre os graus de nocividade, os índices de sobrevivência dos hospedeiros, o número de cercárias infectantes e o número de parasitas adultos obtidos por perfusão.

Como ficou anteriormente convencionado, denominamos grau de nocividade de uma linhagem do parasita ao número médio de granulomas hepáticos causados, no hospedeiro, por determinado número de parasitas adultos.

Os dados numéricos para o cálculo das relações mencionadas dispõem-se nas Tabelas de números VII a XVI.

TABELA VII

Dados para o Cálculo da Relação: Índice Percentual de Sobrevivência do Hospedeiro — Grau de Nocividade da Linhagem do Parasita de Belo Horizonte.

Índice de Sobrevivência do Lote de Hospedeiros (1)	Número de Granulomas Hepáticos em Indivíduos dos Diferentes Lotes de Hospedeiros
15	4.320
	2.106
	2.457
	972
	1.674
19	2.063
	1.944
	2.106
	810
	756
	1.134
	1.620
31	540
	1.080
	1.080
	1.566
	216
	810
60	864
	972
	108
100	108
	43

(1) Em percentagem

TABELA IX

Dados para o Cálculo da Relação: Número de Parasitas Adultos da Linhagem de Belo Horizonte — Número de Granulomas Hepáticos no Hospedeiro

Número de Parasitas	Número de Granulomas Hepáticos
24	4.320
19	2.106
18	2.457
18	2.106
18	1.944
17	1.674
16	972
15	2.106
14	1.620
14	1.566
12	1.134
12	972
12	1.080
10	810
10	1.080
9	864
8	756
6	540
5	810
5	108
4	108
3	216
2	43

TABELA VIII

Dados para o Cálculo da Relação: Índice Percentual de Sobrevivência do Hospedeiro — Grau de Nocividade da Linhagem do Parasita de São José dos Campos

Índice de Sobrevivência do Lote de Hospedeiros (1)	Número de Granulomas Hepáticos em Indivíduos dos Diferentes Lotes de Hospedeiros
25	918
	702
	1.836
	810
	594
29	756
	1.188
	1.242
	648
	756
59	702
	540
	324
	270
	278
	0
100	0
	0

(1) Em percentagem

TABELA X

Dados para o Cálculo da Relação: Número de Parasitas Adultos da Linhagem de São José dos Campos — Número de Granulomas Hepáticos no Hospedeiro

Número de Parasitas	Número de Granulomas Hepáticos
18	1.856
15	1.188
15	1.242
14	918
12	810
11	756
10	702
10	756
9	594
9	708
8	648
7	378
6	540
4	324
2	270
2	0
1	1

Análise Estatística dos Resultados das Experiências.

Os dados obtidos das experiências foram usados para a comparação da parasitose nas duas linhagens consideradas. Os modelos adotados não visam a formulação matemática dos fenômenos pesquisados, mas tão somente a fornecer aproximações razoáveis que tornem as duas linhagens quantitativamente comparáveis.

Interessa ao estudo a análise comparativa das seguintes relações entre:

- 1) Índice de sobrevivência do hospedeiro e grau de nocividade; $IS = f(GN)$;
- 2) número de parasitas e número de cercárias infectantes; $NP = f(NC)$;
- 3) grau de nocividade e número de parasitas; $GN = f(NP)$; e uma relação ligada às anteriores será usada também;
- 4) Índice de sobrevivência dos hospedeiros e número de parasitas; $IS = f(NP)$.

Para a análise faremos primeiro um ajustamento e depois compararemos as funções obtidas em cada ítem, das duas linhagens.

Para o ajustamento foram propostos três modelos:

- 1) exponencial, do tipo $y = ae^{bx}$ e = 2,71828...
- 2) hiperbólico, do tipo $y = ax^b$
- 3) polinomial, do tipo $y = a + bx + cx^2 + dx^3$

A priori, sentimo-nos inclinados ao emprego da hipérbole, que já é de emprego usual, pelo menos para relações dos tipos $IS = f(GN)$ e $IS = f(NP)$. Não confiantes na seleção a priori, é que resolvemos ajustar os dois outros modelos e compará-los com o hiperbólico.

Utilizou-se nos cálculos o programa Regressão Passo a Passo ("Stepwise Regression"), no Computador IBM-1130 do Centro de Computação da Universidade Estadual de Campinas. Este programa calcula os coeficientes dos ajustamentos e testa a significância da dependência entre as variáveis. Em particular, no polinômio em nenhum caso o termo x^3 teve coeficiente significativamente diferente de zero.

Comparados os resultados dos ajustamentos, na grande maioria das funções a hipérbole revelou-se mais adequada, pois forneceu coeficientes de correlação maiores do que as outras formas funcionais e do mesmo modo quanto ao valor de F que testava a significância do ajustamento.

Constam da Tabela XVII os resultados dos ajustamentos segundo a hipérbole $y = ax^b$, e os valores de $\hat{p}(\log y, \log x)$, estimativa do coefi-

ciente de correlação, F, valor que testa a significância da dependência e o número de graus de liberdade usados no teste.

Convém lembrar que os ajustamentos na verdade, são feitos com os logaritmos das variáveis. Os coeficientes de correlação e o teste concernem a essas variáveis transformadas. Onde ocorreram valores observados nulos, estes foram retirados do cálculo, por motivos óbvios.

Comparação entre as cepas

A fim de comparar as cepas de *S. mansoni* de Belo Horizonte e de São José dos Campos, para efeitos do presente trabalho, comparamos as expressões $IS = f(GN)$, $GN = f(NP)$ e $NP = f(NC)$ utilizando o modelo regressivo para a análise da variância, trabalhando sempre com os logaritmos.

Comparação de $IS = f(GN)$

Os resultados da análise estão contidos na Tabela XVIII, e mostram que:

1º) as retas podem ser consideradas paralelas ($F = 1,52$);

2º) as retas têm o mesmo coeficiente linear ($F = 1,15$);

logo, as retas não diferem significativamente, isto é, podem ser consideradas idênticas as funções $IS = f(GN)$ de ambas as cepas.

Os valores da ajustante $IS = f(GN)$ encontram-se nas Tabelas XX e XXI.

Comparação de $GN = f(NP)$

Os resultados contidos na Tabela XIX, de pronto dão resultado significativo no item paralelismo. Logo, as funções $GN = f(NP)$ diferem significativamente.

Os valores da ajustante $GN = f(NP)$ encontram-se nas Tabelas XXII e XXIII.

Comparação de $NP = f(NC)$

Já foi feita uma tentativa de comparar esta relação para as duas cepas, quando aplicamos o teste de mortalidade diferencial, cujo resultado foi significativo a 1% e não-significativo a 5%, deixando-nos uma faixa de decisão que Cramér recomenda seja corroborada por outros argumentos.

Assim, já que foram ajustadas as hipérbolas $NP = f(NC)$ para ambas as linhagens, resolvemos compará-las usando a análise de variância.

Os resultados, encontrados nas Tabelas XXIV e XXV, mostram que as retas $\log NP = f(\log NC)$ são paralelas ($F = 1,68$), mas que não são coincidentes, pois não cruzam o mesmo

TABELA XI

Dados para o Cálculo da Relação: Número de Cercárias Infectantes da Cepa de Belo Horizonte — Número de Parasitas Adultos Obtidos por Perfusão Vascular dos Hospedeiros

Número de Cercárias Infectantes	Número de Parasitas
200	18
	15
	24
100	17
	18
	19
	16
	18
60	8
	10
	12
	14
	6
	10
30	14
	12
	9
	3
10	5
	12
	4
	2
	5

TABELA XII

Dados para o Cálculo da Relação: Número de Cercárias Infectantes de São José dos Campos — Número de Parasitas Adultos Obtidos por Perfusão Vascular dos Hospedeiros

Número de Cercárias Infectantes	Número de Parasitas
200	18
	14
	10
100	11
	15
	9
	12
	15
60	10
	6
	9
	8
30	2
	7
	4
10	0
	1
	2

TABELA XIII

Dados para o Cálculo da Relação: Índice Percentual de Sobrevivência dos Hospedeiros — Número de Parasitas da Cepa de Belo Horizonte Obtidos por Perfusão dos Vasos Mesentéricos dos Hospedeiros

Índice Percentual de Sobrevivência dos Lotes dos Hospedeiros	Número de Parasitas
15	18
	15
	24
19	17
	18
	19
	16
	18
31	8
	10
	12
	14
	6
	10
60	14
	6
	10
	14
100	12
	9
	3
60	5
	12
	4
100	2
	5

TABELA XIV

Dados para o Cálculo da Relação: Índice Percentual de Sobrevivência dos Hospedeiros — Número de Parasitas da Cepa de São José dos Campos Obtidos por Perfusão dos Vasos Mesentéricos dos Hospedeiros

Índice Percentual de Sobrevivência dos Lotes de Hospedeiros	Número de Parasitas
25	18
	14
	10
29	11
	15
	9
	12
	15
59	10
	6
	9
	8
75	2
	7
	4
100	0
	1
	2

ponto na reta $x = 0$ ($F = 12,97$).

Assim, somos levados a concluir pela não-aceitação da hipótese de que as relações $NP = f(NC)$ são iguais para as duas cepas.

Os valores da ajustante $IS = f(NP)$ encontram-se nas Tabelas XXVI e XXVII.

DISCUSSÃO

Do desenvolvimento das cercárias

No estudo da correlação entre o número de cercárias que penetram nos camundongos e o número de vermes adultos por hospedeiro, verificamos que, de uma maneira geral, o número de vermes encontrados em camundongos sobreviventes após 60 dias contados a partir da data da infecção, é maior nos animais infectados por dose também maior de cercárias.

Após a penetração das cercárias pelo tegumento, estas formas larvares sofrem, evidentemente, os efeitos de um processo de defesa orgânica no hospedeiro durante o qual muitas são destruídas. Clegg & Smithers⁴, em 1968, concluem que a maior barreira à penetração das cercárias é o tecido dérmico do hospedeiro. As que conseguem sobreviver a esta barreira, provavelmente, ainda terão que vencer outras etapas até seu completo desenvolvimento.

Brener, em 1962² já havia verificado que camundongos submetidos a infecção percutânea com 100 cercárias de Belo Horizonte, apresentavam, ao final da experiência, a recuperação de 18,5% dos vermes. Para as mesmas quantidades de cercárias de mesma origem, obtivemos o completo desenvolvimento de 17,6%. Apesar do número de vermes nos 500 camundongos utilizados por Brener ter variado de 1 a 73, a grande maioria dos camundongos apresentou uma infecção de 11 a 25 vermes.

Warren & Peters²⁴, em 1967 referiram variações na capacidade de penetração e do desenvolvimento dos helmintos em camundongos submetidos a diluições diferentes de cercárias. Esses autores verificaram que quanto maior a diluição menor a penetração e maturação das larvas. A maturação de 40 cercárias diluídas em 5, 100 e 400 ml de água e colocadas em contato com a cauda de camundongos forneceu valores aproximadamente de 40, 30 e 20% respectivamente. A linhagem por aqueles autores utilizada foi a de Porto Rico.

Em nossos trabalhos utilizamos cercárias diluídas em 5 ml de água.

Para a cepa brasileira, Warren²³ encontrou um índice de desenvolvimento de cerca de

27,2% utilizando 40 cercárias por camundongo.

Em nossas experiências obtivemos um índice de desenvolvimento dos helmintos muito próximo aos encontrados por Warren. Assim é que para a linhagem de Belo Horizonte, utilizando-se 30 cercárias por camundongo, o índice de desenvolvimento dos helmintos foi de 24,3%.

Verificou-se que quanto maior o número de cercárias utilizadas, menor o índice de desenvolvimento das mesmas.

Do número de granulomas hepáticos

Quanto ao número de granulomas encontrados no fígado após 60 dias contados da data da infecção, nossos resultados foram semelhantes aos de Brener. Brener utilizou a cepa mineira infectando cada camundongo com 100 cercárias. Após o 52º dia da data da infecção, contou em média 2295 granulomas por fígado. Para 100 cercárias da mesma linhagem, encontramos uma média de 1750 granulomas.

Com relação a cepa de São José dos Campos, não encontramos dados na literatura.

Para ambas as linhagens houve correlação positiva entre o número de parasitas adultos e o número de granulomas hepáticos por camundongo.

A linhagem de Belo Horizonte apresentou número de granulomas significativamente maior do que a linhagem paulista.

Sabendo-se que a formação dos granulomas hepáticos é decorrência da presença de ovos de *S. mansoni* naquele órgão, o maior número de granulomas encontrados na linhagem mineira, poderia ser decorrência dos seguintes fatores:

Maior oviposição das fêmeas de *S. mansoni* da linhagem mineira;

Maior quantidade de fêmeas da linhagem de Belo Horizonte observados dentre os helmintos assinalados;

Diferente distribuição dos ovos no organismo do hospedeiro para as duas cepas estudadas.

Tendo em vista nossos estudos anteriores⁹, em que assinalamos, nas condições da experiência, a mesma relação entre machos e fêmeas nas duas linhagens, deixamos de discutir aqui a segunda hipótese.

Quanto a terceira hipótese suscitada, como as demais, pela presente investigação, nada encontramos na literatura e nada existe em nossos próprios registros que ofereça bases adequadas para o seu exame neste momento: ela deverá ser objeto de um plano especial de investigação. cremos, entretanto, que a diferente localização dos vermes no corpo do animal¹⁶ pode contri-

TABELA XV

Dados para o cálculo da relação: Índice percentual de sobrevivência dos hospedeiros por grupo de camundongos infectados — número de cercárias infectantes da CEPA de Belo Horizonte

Número de Cercárias Infectantes	Índice Percentual de Sobrevivência dos Hospedeiros por Grupo de Camundongos Infectados
200	15,2 %
100	19,4 %
60	30,7 %
30	60,0 %
10	100,0 %

TABELA XVI

Dados para o cálculo da relação: Índice percentual de sobrevivência dos hospedeiros por grupo de camundongos infectados — número de cercárias infectantes da CEPA de São José dos Campos

Número de Cercárias Infectantes	Índice Percentual de Sobrevivência dos Hospedeiros por Grupo de Camundongos Infectados
200	25,0 %
100	8,7 %
60	59,9 %
30	75,0 %
10	100,0 %

TABELA XVII

Resultados dos Ajustamentos ($y = ax^b$)

Tipo de função e cepa	a	b	$\hat{\rho}$	Teste (1)		
				F	g.l. (num.)	g.l. (dens.)
IS = f(GN) BH	860,10	-0,4826	-0,8721	66,7	1	21
	SJ	3854,30	-0,6954	-0,7697	18,9	1
GN= f(NP) BH	21,266	1,6040	0,9299	134,33	1	21
	SJ	112,679	0,8312	0,9264	78,65	1
IS = f(NP) BH	219,64	-0,8222	-0,8614	60,417	1	21
	SJ	130,69	-0,5348	-0,8381	35,416	1
NP= f(NC) BH	0,802	0,6289	0,8480	53,775	1	21
	SJ	0,264	0,7993	0,8986	62,912	1

(1) O teste, feito pelo (F) indica dependência funcional entre as variáveis; se $F < F_0$, as variáveis não guardam relação entre si. F_0 é o valor crítico, dado por $F_0(1,21) = 4,35$ e $F_0(1,13) = 4,75$; ao nível de 5%. Todos os valores encontrados são significativos.

TABELA XVIII

Análise de Variância
IS = f (GN)

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F
Horizontalidade	8,429698	1	8,429698	88,22
Entre \hat{b} e \bar{b}	0,109557	1	0,109557	1,15
Paralelismo	0,145223	1	0,145223	1,52
Desvio em torno das retas de regressão	3,248700	34	0,095550	
Total	11,933178	37		

TABELA XIX

Análise de Variância
GN = f(NP)

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F
Horizontalidade	25,565463	1	25,565463	202,95
Entre \bar{b} e \hat{b}	0,021264	1	0,021264	0,17
Paralelismo	1,815672	1	1,815672	14,41
Desvio em torno das retas de regressão	4,282920	34	0,125968	
Total	31,685319	37		

$F(1,34) = 4,13$
0,95

TABELA XX

Valores da Ajustante IS = f(GN) (1)

Linhagem de Belo Horizonte

Graus de nocividade (GN) (2)	Percentagem de Sobrevivência (IS)
4.320	15,2
2.457	19,9
2.106	21,3
2.053	21,5
1.944	22,2
1.674	23,8
1.620	24,3
1.566	24,8
1.134	28,8
1.080	29,4
972	31,2
864	32,2
810	33,8
756	35,2
540	41,3
216	64,1
108	90,0

- (1) $IS = 860,10 \cdot GN^{-0,4826}$
(2) Número de granulomas hepáticos

TABELA XXI

Valores da Ajustante IS = f(GN) (1)

Linhagem de São José dos Campos

Graus de nocividade (GN) (2)	Percentagem de Sobrevivência (IS)
1.836	20,9
1.242	27,4
1.188	28,2
918	33,8
810	37,0
756	38,5
702	40,4
648	42,9
594	45,6
540	48,9
378	62,8
324	69,4
270	79,0

- (1) $IS = 3854,30 \cdot GN^{-0,6954}$
(2) Número de granulomas hepáticos

TABELA XXII

Valores da Ajustante GN = f(NP) (1)

Linhagem de Belo Horizonte

Graus de nocividade (GN) (2)	Número de parasitas (NP)
4.320	27,4
2.457	19,3
2.106	17,5
2.053	17,3
1.944	16,6
1.674	15,2
1.620	14,9
1.566	14,6
1.134	11,8
1.080	11,6
972	10,8
864	10,1
810	9,7
756	9,1
540	7,5
216	4,3
108	2,7
43	1,6

(1) $NP = 0,1494 \cdot GN^{0,62344}$

(2) Número de granulomas hepáticos

TABELA XXIII

Valores da Ajustante GN = f(NP) (1)

Linhagem de São José dos Campos

Graus de nocividade (GN) (2)	Número de parasitas (NP)
1.836	28,8
1.242	18,0
1.188	17,0
918	12,4
810	10,7
756	9,9
702	9,0
648	8,2
594	7,3
540	6,6
378	4,3
324	3,6
270	2,9

(1) $NP = 0,0033 \cdot GN^{1,20308}$

(2) Número de granulomas hepáticos

TABELA XXIV

Valores da Ajustante NP = f(NC)

Linhagem de Belo Horizonte

Número de cercárias Infectantes	Número de parasitas
200	22,45
100	14,50
60	10,50
30	6,80
10	3,40

TABELA XXV

Valores da Ajustante NP = f(NC)

Linhagem de São José dos Campos

Número de cercárias infectantes	Número de parasitas
200	18,30
100	10,50
60	7,00
30	4,00
10	1,70

TABELA XXVI

Valores da Ajustagem IS = f(NP)

Linhagem de Belo Horizonte

Número de parasitas	Índice Percentual de Sobrevivência dos Hospedeiros
18	20,4
15	23,7
24	16,1
17	21,4
18	20,4
19	19,5
16	22,5
18	20,4
8	39,7
10	33,1
12	28,5
14	25,1
6	50,3
10	33,1
14	25,1
12	28,1
9	36,1
3	89,0
5	58,5
12	28,5
4	70,3
2	124,22
5	58,5

TABELA XXVII

Valores da Ajustante IS = f(NP)

Linhagem de São José dos Campos

Número de parasitas	Índice Percentual de Sobrevivência dos Hospedeiros
18	27,9
14	31,9
19	38,1
11	36,2
15	30,7
9	40,4
12	34,6
15	30,7
10	38,1
6	50,1
9	40,4
8	43,0
2	90,2
7	46,2
4	62,3
1	130,7
2	90,2

buir para as diferentes localizações dos ovos.

Resta-nos a primeira hipótese: a de que a maior quantidade de granulomas observados nos fígados dos camundongos infectados com a cepa mineira, se deva à maior capacidade de oviposição das fêmeas pertencentes a essa cepa.

Recordamos aqui que as duas linhagens estudadas eram provenientes de focos de moluscos pertencentes a espécies diferentes (*B. glabrata* e *B. tenagophila*). Sabe-se por outro lado da resistência observada à infecção cruzada entre estas duas linhagens^{1,3}. Estes autores admitem que, no momento, estaria em curso um processo de especiação entre estas linhagens. Teríamos, portanto, diferenças de comportamento das raças de *S. mansoni*, induzidas pela diversidade do hospedeiro intermediário.

Da sobrevivência dos camundongos

De uma maneira geral a mortalidade referida em camundongos infectados por cercárias de *S. mansoni* tem sido bem menor que a encontrada por nós no presente trabalho. Nós mesmos, em camundongos do biotério do INERu infectados por 60 cercárias de Brasília⁸, obtivemos um índice de sobrevivência de 74% contra 30,7% observados no presente trabalho para a cepa de Belo Horizonte. A explicação deste fato, poderia estar ligada ou a linhagem dos camundongos utilizada na presente experiência, ou ao tipo de alimentação, talvez deficiente, ministrada aos nossos camundongos no decurso do trabalho. De qualquer forma, o tratamento dado aos camundongos foi o mesmo, de forma que os presentes dados numéricos sobre sobrevivência podem ser comparados entre as duas cepas estudadas.

Importa dizer também que achamos correlação negativa entre o número de cercárias que penetraram nos camundongos e o índice de sobrevivência dos camundongos.

Dentro de limites houve diferença significativa do índice de sobrevivência para as duas linhagens. O índice de sobrevivência para a linhagem de São José dos Campos foi significativamente maior. Como na nossa experiência o desenvolvimento dos vermes não diferiu significativamente, podemos atribuir a maior sobrevivência apresentada pela linhagem paulista entre outras causas, ao menor número de granulomas encontrados por fígado de camundongo parasitado por essa linhagem.

Esta hipótese foi confirmada pelo estudo da correlação entre o número médio de granulo-

mas hepáticos e a percentagem média de sobrevivência dos hospedeiros.

Talvez a média dos diâmetros dos granulomas das linhagens estudadas difira significativamente. Isto quereria dizer que o granuloma produzido em decorrência do parasitismo pela linhagem mineira seria diferente do granuloma decorrente do parasitismo pela linhagem paulista. Esta hipótese, apesar de não ter sido por nós comprovada, já foi referida por Warren^{2,3} em estudo comparativo entre as linhagens de *S. mansoni* de Porto Rico, Brasil, Egito e Tanzânia.

De qualquer forma, em nossa experiência, a procedência dos granulomas não influenciou significativamente no índice de sobrevivência dos camundongos infectados.

Exame dos gráficos 14 e 15:

Estabelecendo-se 6 (A) como limite mínimo de parasitas sobreviventes por hospedeiro da linhagem de Belo Horizonte, este limite determinará o valor médio de 440 granulomas hepáticos (a) que ocasionarão o índice máximo médio de 44,5% de sobrevivência dos camundongos infectados (A').

Estabelecendo-se na mesma linhagem, o limite mínimo de 25% (B') de sobrevivência dos hospedeiros, este índice será determinado pela cifra média de 1.500 granulomas (b) que ocasionará o limite máximo médio de 14 *S. mansoni* por hospedeiro (B). Nestas condições o grau de nocividade variará de 440 a 1.500 granulomas por fígado de roedor (valores médios).

O índice de sobrevivência médio variará de 25% a 44,5% e o número médio de parasitas por roedor de 6 a 14.

Se adotarmos os mesmos limites para a linhagem de São José dos Campos estes valores serão:

\bar{ab} — 440 a 1.400

IS — 25% a 51%

NP — 6 a 20,4

CONCLUSÕES

Para ambas as linhagens de *S. mansoni* o número médio de vermes adultos encontrados nos hospedeiros, 60 dias após a infecção, correlacionou-se positivamente com o número de cercárias a que tais hospedeiros tinham sido expostos;

Para ambas as linhagens houve correlação positiva entre o número de parasitas adultos encontrados nos hospedeiros 60 dias após a

GRÁFICO Nº 10

Representação gráfica da função $GN=f(NP)$
da linhagem de Belo Horizonte

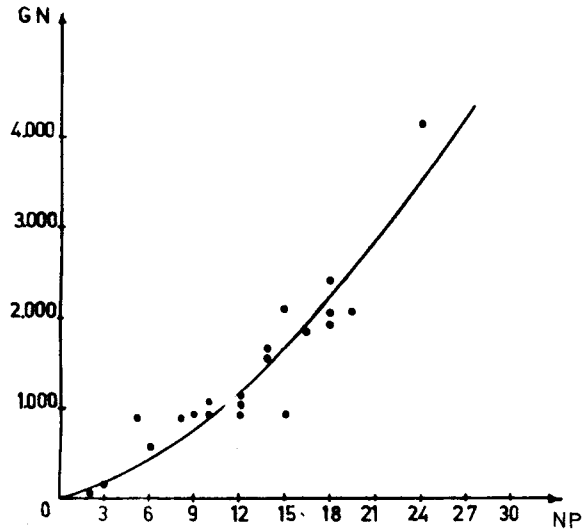


GRÁFICO Nº 11

Representação gráfica da função $GN=f(NP)$
da linhagem de São José dos Campos

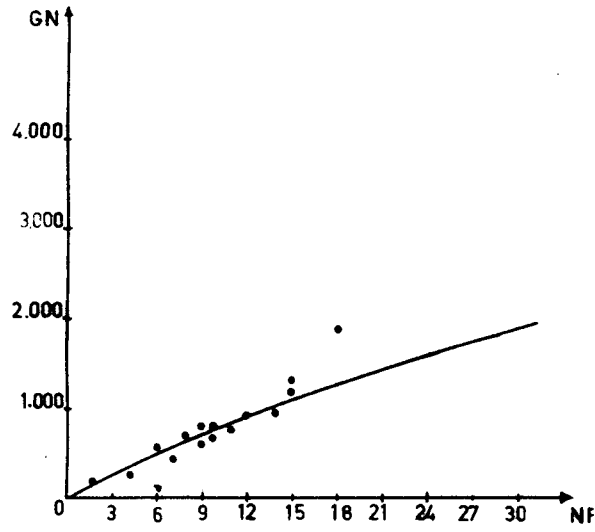


GRÁFICO Nº 12

Representação gráfica da função $IS=f(GN)$
da linhagem de Belo Horizonte

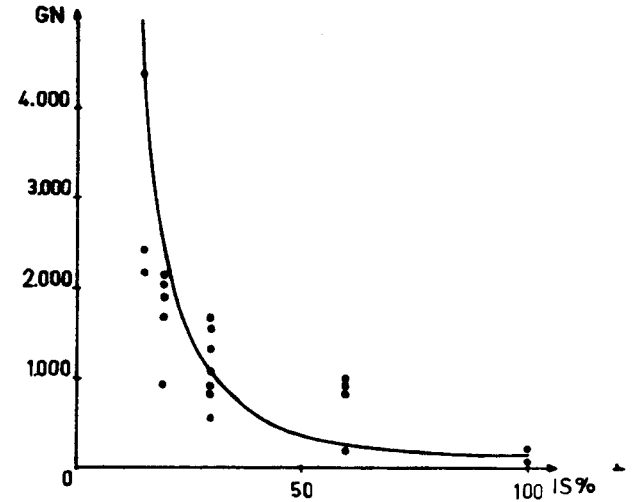


GRÁFICO Nº 14

Representação gráfica das funções $GN = f(NP)$ e $IS = f(GN)$ da linhagem de Belo Horizonte com escala comum de grau de nocividade.

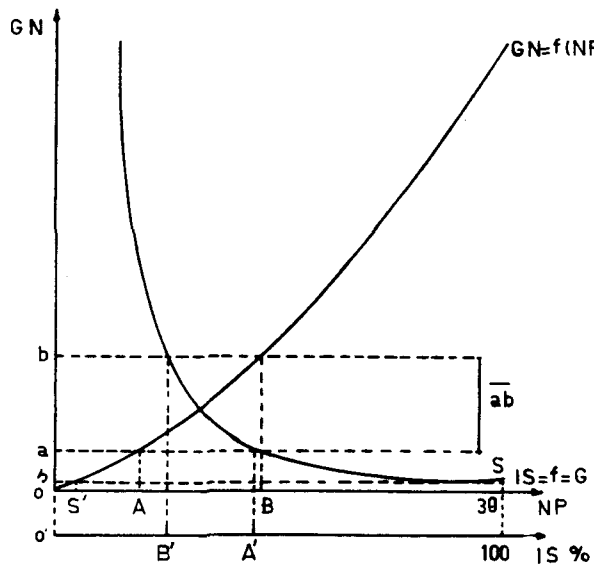


GRÁFICO Nº 15

Representação gráfica das funções $GN = f(NP)$ e $IS = f(GN)$ da linhagem de São José dos Campos com escala comum de grau de nocividade.

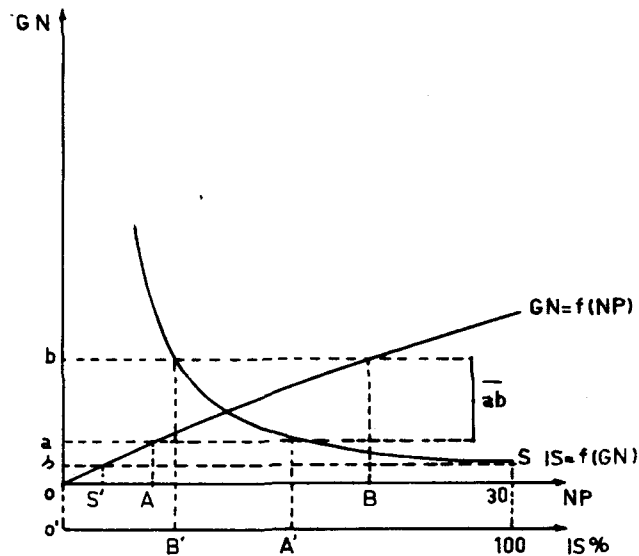
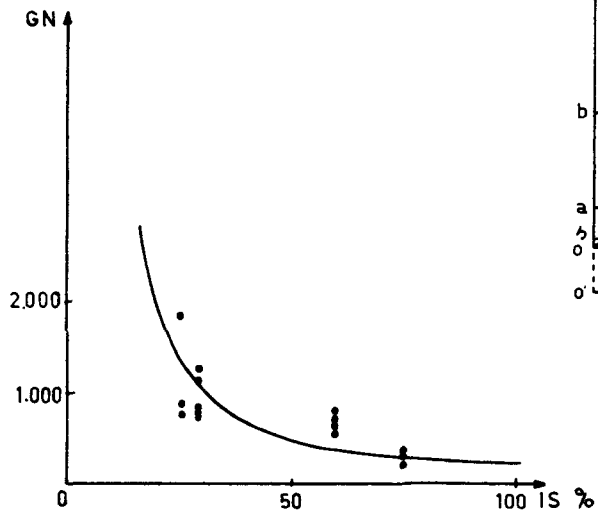


GRAFICO Nº 13

Representação gráfica da função $IS = f(GN)$ da linhagem de São José dos Campos



infecção e o número de granulomas hepáticos nos mesmos hospedeiros;

Tanto para a linhagem de Belo Horizonte como para a de São José dos Campos foi encontrada correlação negativa entre o número médio de granulomas hepáticos e a percentagem média de sobrevivência dos hospedeiros;

Acima de um determinado número de parasitas adultos presentes, houve significativamente maior número de granulomas nos camundongos infectados com a cepa mineira;

Dentro de limites, houve percentual significativamente menor de sobrevivência nos camundongos infectados com a linhagem mineira;

Para o mesmo número de granulomas as sobrevivências não diferiram significativamente entre os hospedeiros infectados por uma ou outra das linhagens, donde se infere a alta plau-

sibilidade da hipótese segundo a qual a maior patogenicidade da linhagem mineira decorre de ocasionar ela, no camundongo, maior número de granulomas por fêmea adulta presente.

Dentro dos limites estabelecidos para o índice de sobrevivência do hospedeiro e o número de parasitas, a faixa do grau de nocividade \bar{ab} manteve-se em limites muito próximos para as duas linhagens;

Porém, para a linhagem de São José dos Campos o número de parasitas obtidos após a experiência foi significativamente maior, donde se conclui que um número bem menor de helmintos de Belo Horizonte provocou, nos camundongos utilizados na experiência, níveis semelhantes de nocividade e de mortalidade, que maior número de helmintos de São José dos Campos

SUMMARY

After the commentaries made of host parasitic relations, the authors suggest a method for the study of two strains of Schistosoma mansoni.

With the method proposed and its experimental use, the authors concluded

For both strains of S. mansoni, the average number of adult worms found in the host was 60 days after infection correlating positively with the number of cercariae which the host were exposed to.

For both strains there was a positive correlation between the number of adult parasites found in the hosts 60 days after infection and the number of liver granuloma of the same hosts.

For both the Belo Horizonte strain as to the São José dos Campos strain, a negative correlation was found between the number of liver granuloma and the average percentage of host survival.

Over a certain number of adult parasites present, there was a significant large number of granuloma on the infected mice with the Belo Horizonte strain.

Within limits there was a smaller significant percentual survival of mice infected with the Belo Horizonte strain.

For the same number of granuloma, survival was not significantly different between infected host, by one or the other strain, therefore it is suggested that the hypothesis most likely, is that the pathogenecity of the Belo Horizonte strain results from larger number of granuloma per adult female present.

Within the limits established for the host survival index and number of parasites, the band of the degree of pathogenecity \bar{ab} keeps within close limit of each other for the two strains. Although for the São José dos Campos strain the number os parasites after the experiment was significantly greater, concluding that a smaller number of Belo Horizonte worms caused on the mice used in the experience, similar levels of pathogenecity and mortality, than a larger number of São José dos Campos worms.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRENER, Z. — Observações sobre a infecção do camundongo pelo *Schistosoma mansoni*. *Rev. Bras. Malariol. Doenç. Trop.*, 8: 565-575, 1956.
2. BRENER, Z. — Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da esquistossomose mansônica. Tese de Cátedra. Belo Horizonte, 1962.
3. BRENER, Z.; PELLEGRINO, J. & OLIVEIRA, F.C. — Terapêutica experimental da esquistossomose mansoni. Aplicação do método de isolamento de granulomas do fígado de camundongos. *Rev. Bras. Malariol. Doenç. Trop.*, 8: 583-587, 1956.
4. CLEGG, J.A. & SMITHERS, J.R. — Death of schistosomose cercariae during penetration of the skin: II — Penetration of mammalian skin by *S. mansoni*. *Parasitology*, 58: 111-128, 1968.
5. HILL, J. — Chemotherapeutic studies with laboratory infections of *Schistosoma mansoni*. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 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, 1953.
7. LINNAEUS, C. — *Systema naturae per regna tria naturae secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentitiis, synonymis, locis*. Editio decima, reformata, 1758.
8. MAGALHÃES, L.A. — Moluscos planorbídeos do Distrito Federal, Brasília. Tese de Doutorado apresentada à Universidade Estadual de Campinas, 1967.
9. MAGALHÃES, L.A. & CARVALHO, J.F. — Verificação do número de machos e fêmeas de *Schistosoma mansoni* capturados em camundongos infectados por duas cepas do helminto. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 5: 253-254, 1969.
10. MOORE, D.V.; YOLLES, T. K. & MELENEY, H. — A comparison of common laboratory animals as experimental hosts for *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit.*, 35: 156-170, 1949.
11. MOURA, S.A.L. — Esquistossomose mansoni autóctone em Santos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 5: 279-311, 1945.
12. ORBIGNY, A. — Synopsis terrestrium et fluviatilium molluscarum in suo per American Meridionalem itinere collectorum. *Mag. Zool.* 5^o année, 62: 26-28, 1837.
13. PARAENSE, W.L. & CORRÊA, L.R. — Sobre a ocorrência de duas raças biológicas do *Schistosoma mansoni* no Brasil. *Ciênc. Cult.* 15: 245-246, 1963.
14. PAVLOVSKY, E.N. — Natural Nidality of transmissible diseases. Peace Publishers. Moscow, sem data.
15. PELLEGRINO, J. & BRENER, Z. — Method for isolating schistosomose granulomas from mouse liver. *J. Parasit.*, 42: 564, 1956.
16. PELLEGRINO, J. & KATZ, N. — Infection of baby mice with *S. mansoni*: some aspects in connection with experimental chemotherapy. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 63: 568-575, 1969.
17. PIZA, J.T.; RAMOS, A.S.; BRANDÃO, C.S.H. & FIGUEIREDO, C.G. — A esquistossomose no Vale do Paraíba (Estado de São Paulo — Brasil). Observações sobre a doença em alguns municípios e a fauna planorbídica da região. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 19: 97-143, 1959.
18. PIZA, J.T. & RAMOS, A.S. — Os focos autóctones de esquistossomose no estado de São Paulo. *Arq. Hig. Saúde Públ. São Paulo*, 25: 261-271, 1960.
19. RAILLET, A. — *Traité de zoologie médicale et agricole*. 2nd. ed. Paris, 1895.
20. SAY, T. — Account of two genera and several species of fresh water and land shells. *J. Acad. Nat. Sci. Philadelphia*. 1: 276-284, 1818.
21. STANDEN, O.D. — The relationship of sex in *Schistosoma mansoni* to migration within the hepatic port system of experimentally infected mice. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 47: 139-145, 1953.

22. STIREWALT, M.A.; KUNTZ, R.E. & EVANS, A.S. — The relative susceptibility of the commonly used laboratory mammals to infection by *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Trop. Med.*, 31: 57, 1951.
23. WARREN, K.S. — A comparison of Puerto Rico, Brazilian, Egyptian and Tanzanian strains of *Schistosoma mansoni* in mice. Penetration of cercariae, maturation of schistosomes and production of liver disease. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.* 61: 795-802, 1967.
24. WARREN, K.S. & PETERS, P.A. — Comparison of penetration and maturation of *Schistosoma mansoni* in the hamster, guinea pig, rabbit and rat. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 16: 718-722, 1967.
25. YOLLES, T.K.; MOORE, D.V.; DE GINSTI, D.L.; RIPSON, C.A. & MELENEY, H.F. — A technique for the perfusion of laboratory animals for the recovery of schistosomes. *J. Parasit.* 33: 419-426, 1947.
26. ZHDANOV, V. — Epidemiology. Foreign languages Publishing House. Moscow, sem data.