

ESTUDO DE UMA CEPA HUMANA DE SCHISTOSOMA MANSONI RESISTENTE A AGENTES ESQUISTOSSOMICIDAS *

Naftale Katz, E. P. Dias, Neusa Araujo e C. P. Souza

Foi isolada uma cepa de Schistosoma mansoni proveniente de dois pacientes tratados com hycanthone, por duas vezes, na dose de 2,5mg/kg, i.m., em janeiro e em abril de 1970, e com niridazole (25mg/kg dia x 5 oral), em abril de 1971. O número de ovos por grama de fezes nestes pacientes antes do tratamento era de 2675 e 1025, respectivamente e, após o terceiro tratamento, em torno de 100 ovos/g.

Mirácidios obtidos das fezes destes pacientes, infectaram caramujos (Biomphalaria glabrata), que passaram a eliminar cercárias (cepa WW). Estas foram utilizadas para infecção experimental de camundongos albinos. Os animais infectados foram tratados com esquemas múltiplos de hycanthone, niridazole e oxamniquine.

Estudos comparativos das cepas WW e LE (esta última mantida rotineiramente em nossos laboratórios) mostraram diferenças acentuadas quando à sensibilidade aos esquistossomicidas usados. De fato, com hycanthone, na dose de 80mg/kg, i.m. houve 100% de alteração do oograma nos camundongos infectados com a cepa L.E. e de 0,0% nos infectados com a cepa WW. Com a oxamniquine e niridazole as diferenças foram menores, mas, ainda assim, suficientes para indicar maior resistência da cepa WW a estes esquistossomicidas.

Esta é a primeira vez na literatura, que se demonstra resistência em cepas de S. mansoni provenientes de pacientes tratados.

INTRODUÇÃO

Em trabalho anterior estudamos 28 pacientes com período de infecção esquistossomótica conhecido e que foram tratados com hycanthone, em diferentes épocas após o contágio. De 15 pacientes tratados, 2 a 8 meses após o contágio, apenas 6 (40%) se curaram [Katz (4)]. Os 9 pacientes não curados foram novamente tratados com hycanthone, na mesma dose, isto é, 2,5mg/kg, i.m., 4 a 9 meses após o primeiro tratamento. Destes, 7 ficaram curados e 2 continuaram eliminando ovos viáveis de *S. mansoni* nas fezes. Estes 2 pa-

cientes foram tratados pela terceira vez com niridazole (Ambilhar) e o controle parasitológico posterior mostrou que, ainda desta vez, não haviam sido curados.

No presente trabalho são discutidos os resultados obtidos em camundongos experimentalmente infectados com a cepa obtida destes pacientes, e tratados com três drogas sabidamente esquistossomicidas.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois pacientes (14 e 13 anos de idade) foram tratados pela primeira vez em janeiro de 1970, 7 meses após o contágio, com

* Trabalho do Centro de Pesquisas "René Rachou", INERu — FTOCRUZ e Seção de Parasitoses da Prefeitura de Belo Horizonte, realizado com auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas.
Enderço: INERu — Caixa Postal, 1743 — 30000 B. Hte. — Brasil

Recebido para publicação em 20-7-1973.

hycanthone na dose de 2,5mg/kg, i.m.. Pela segunda vez, em abril de 1970, com a mesma dose de hycanthone e, finalmente, pela terceira vez, em abril de 1971, com nirimazole (25mg/kg/dia x 5). O último tratamento teve que ser interrompido no quinto dia, uma vez que os pacientes apresentaram quadro de alucinação e/ou convulsão. Para o controle parasitológico foi utilizado o método de Kato quantitativo (5).

Miracidios obtidos das fezes destes pacientes, no princípio de 1973, infectaram *Biomphalaria glabrata* no laboratório, que passaram a eliminar cercárias (cepa WW), utilizadas para infecção experimental de camundongos albinos. As técnicas utilizadas foram aquelas já anteriormente descritas [Pellegrino & Katz (7)].

Quarenta e cinco dias após a infecção, grupos de 10 camundongos foram tratados com hycanthone (80 e 20mg/kg, i.m.), nirimazole (100 e 50mg/kg/dia x 5, oral) e oxamniquine (100 e 50mg/kg dose única, i.m.).

O grupo controle foi constituído por camundongos albinos experimentalmente infectados com o mesmo número de cercárias, isto é, 100 ± 20 porém da cepa LE. Esta cepa, mantida há vários anos em nossos laboratórios, provém de um paciente esquistossomótico de Belo Horizonte, não tratado.

Sete dias após o tratamento os animais foram sacrificados e os esquistossomos localizados nas veias mesentéricas e fígado, recuperados por perfusão. O estudo do oograma foi feito em fragmentos retirados do intestino delgado. Alterações do oograma foram consideradas significativas quando um ou mais estágios correspondentes a ovos imaturos estavam ausentes. O número de vermes mortos no fígado foi determinado após o esmagamento deste órgão entre duas placas de vidro e examinados ao microscópio de dissecação [Pellegrino & Katz (7)].

RESULTADOS

No gráfico I podem ser vistos os resultados obtidos nos dois pacientes tratados. O número de ovos por grama de fezes, antes do tratamento, era de 2675 e 1025, respectivamente. Após o primeiro tratamento, passou a 915 e 167; após o segundo tratamento a 70 e 271 e após o terceiro trata-

mento, conservou-se sempre em torno de 100 ovos/grama em ambos pacientes.

Os resultados obtidos após a administração do hycanthone, nirimazole e oxamniquine em camundongos infectados experimentalmente com as cepas LE e WW podem ser vistos na Tabela I e II, respectivamente.

Quando foi administrado hycanthone na dose de 80mg/kg, i.m. nos camundongos infectados com a cepa LE foi observado que 100% dos animais apresentaram alterações do oograma (Tabela I). Dos animais infectados com a cepa WW nenhum apresentou parada da postura, em que pese o número de vermes deslocados para o fígado ter sido aproximadamente o mesmo com as duas cepas (em torno de 57%) (Tabelas I e II).

Com o nirimazole (100mg/kg/dia x 5, oral), em 100% dos animais infectados com a cepa LE houve parada da postura e em 40% dos infectados com a cepa WW, e com a dose de 50mg/kg/dia x 5 oral foi de 40% e 11% respectivamente, com as cepas LE e WW. Considerando-se o número de vermes mortos encontrados no fígado, foi de 25% com a maior dose nos camundongos infectados com cepa LE e de apenas 2,6% nos infectados com a cepa WW. No deslocamento dos vermes para o fígado não foram observadas diferenças significativas com as duas cepas.

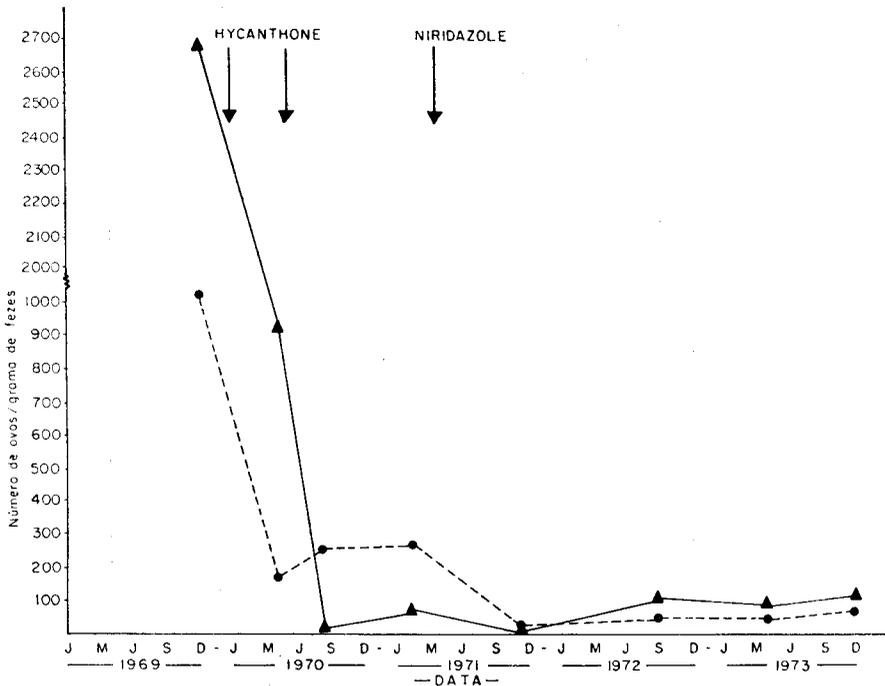
Após a administração de oxamniquine (100mg/kg, dose única, i.m.) em 90% dos camundongos infectados com a cepa LE houve parada da postura, enquanto que foi de 37% nos infectados com a cepa WW. Com a dose de 50mg/kg, i.m. de oxamniquine houve em 57% e 20% dos animais infectados com a cepa LE e WW, respectivamente, a parada da postura.

Em relação ao número de vermes mortos no fígado foi de 31,1 e 3,9% respectivamente com as cepas LE e WW, quando se utilizou a maior dose de oxamniquine. Com a menor dose foi de 10,6 e 1,5%, respectivamente. Com esta droga o deslocamento para o fígado foi também maior nos animais inoculados com a cepa LE.

DISCUSSÃO

Diferentes respostas terapêuticas de várias cepas a drogas esquistossomicidas tem sido relatada várias vezes. De fato,

GRÁFICO - I
Números de ovos de *S. mansoni* por grama de fezes nos dois pacientes
tratados com hycanthon e niridazole.



Gonnert & Vogel (3) demonstraram que uma cepa de *S. mansoni* oriunda da Libéria era mais suscetível que uma do Egito à ação parasiticida do lucanthon. Thompson *et al.* (9) também demonstraram diferença de atividade do pamoato de tris — (P-aminofenil) carbonium em duas cepas diferentes. Mais recentemente, Lee *et al* (6) estudando cepas de *S. mansoni* de Porto Rico, Libéria, Belo Horizonte e Santa Lúcia, em camundongos experimentalmente infectados, puderam concluir que a cepa de Porto Rico era muito sensível ao hycanthon e relativamente resistente ao stibofen. Bueding *et al* (2) estudando o comportamento de seis diferentes cepas de *S. mansoni*, sendo 3 de Porto Rico, e as outras, da Libéria, Tanzânia e Santa Lúcia, em camundongos tratados com hycanthon e com um seu análogo (clorindazol), observaram consideráveis diferenças na susceptibilidade das diferentes cepas às drogas utilizadas.

Em trabalho anterior, Rogers & Bueding (8) tratando camundongos e hamsters infectados com uma cepa de Porto Rico com hycanthon (60mg/kg) constataram que após 9 a 10 dias os vermes tinham migrado das veias mesentéricas para o fígado. Qua-

tro a 12 meses após o tratamento vermes vivos foram encontrados em mais de 90% dos animais tratados. Os esquistossomas recuperaram-se completamente e iniciaram novamente a postura de ovos, que infectaram caramujos. As gerações de vermes oriundos destes (F_1 até F_4) mostraram estar resistentes a doses bem maiores de hycanthon pois não foram observados deslocamento para o fígado, lesão do sistema genital da fêmea, perda de peso e/ou depleção do glicogênio nos vermes submetidos ao tratamento. É interessante observar que os esquistossomas hycanthon-resistentes apresentaram resistência cruzada a outras duas drogas relacionadas quimicamente, lucanthon e uma aminoalquiltetrahydroquinolina (oxamniquine), mas eram suscetíveis a um derivado nitrovinilfurânico (8). Yarinsky (1), repetindo estas experiências, com uma cepa diferente da usada por Rogers & Bueding (8) e com doses menores da droga, obteve nas gerações descendentes, a mesma susceptibilidade ao hycanthon encontrada ao primeiro tratamento.

A cepa WW, que foi isolada de dois pacientes tratados por 3 vezes sem que fosse obtida a cura parasitológica, mostrou ser

TABELA I: ATIVIDADE DE DROGAS ESQUISTOSSOMICIDAS EM CAMUNDONGOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS PELA CEPA LE DE *S. MANSONI*

Droga	Esquema de tratamento mg/kg/dia-via	Número de animais		Média de vermes	Distribuição de vermes — %			Alteração do oograma %
		Tratados	Examinados		Mesentério	Fígado	Mortos no fígado	
Hycantone	80 x 1 i.m.	10	6	16,1	42,4	57,6	1,3	100,0
Hycantone	20 x 1 i.m.	10	10	22,3	49,7	50,3	0,0	0,0
Niridazole	100 x 5 oral	10	10	6,8	61,7	38,3	25,0	100,0
Niridazole	50 x 5 oral	10	8	19,1	36,3	13,7	0,0	40,0
Oxamniquine	100 x 1 i.m.	10	9	24,0	18,1	81,9	31,1	90,0
Oxamniquine	50 x 1 i.m.	10	7	16,1	40,8	59,2	10,6	57,0
Controle	—	—	10	34,2	83,2	16,8	0,0	0,0

mais resistente ao hycanthono, niridazole e oxamniquine em camundongos experimentalmente infectados. De fato, com hycanthono, na dose de 80mg/kg, não foi observada alteração do oograma em nenhum dos animais infectados com a cepa WW, em contraste com a cepa LE, rotineiramente utilizada em nossos laboratórios onde houve parada da oviposição em 100% dos animais tratados. Maior resistência da cepa WW também foi demonstrada ao niridazole e oxamniquine.

Os dados até agora obtidos não permitem concluir se foi através de seleção ou de indução que foi obtida esta cepa mais

resistente. De toda maneira, foi pela primeira vez na literatura que se demonstrou a possibilidade de existir uma cepa resistente a drogas comprovadamente esquistossomicidas oriundas de pacientes tratados com doses curativas. As implicações do aparecimento ou seleção de cepas resistentes, quando se considera o tratamento com esquistossomicida, em áreas endêmicas, são bastante óbvias e mostram a necessidade de se prosseguirem estudos visando o melhor conhecimento da resistência e susceptibilidade de cepas de *S. mansoni* oriundas de casos humanos.

SUMMARY

There has been isolated a Schistosoma mansoni strain from two patients submitted to two courses of treatment with hycanthono (2.5mg/kg, i.m.), in January and April, 1970, and to one course with niridazole (25mg/kg/day x 5, per os), in April, 1971. Before treatment, the number of eggs in the faeces of those patients was, per gram, 2,675 and 1,025, respectively; after completion of treatment, such number had come down to around 100 eggs/gram.

Miracidia hatched from the patients faeces could infect Biomphalaria glabrata snails, which eliminated cercariae (WW strain) that were used for experimental infection of albino mice. The infected animals were, afterwards, treated with hycanthono, niridazole and oxamniquine under various schedules.

Comparative studies of WW and LE strains (the latter being routinely kept in our laboratories) revealed marked differences in their sensitivity to the schistosomicides employed. Actually, after treatment with hycanthono, at the dosage of 80 mg/kg, i.m., a 100% oogram changes were observed in the intestinal wall of mice inoculated with LE strain, whereas no alterations could be detected in the mice infected with WW strain. As regards oxamniquine and niridazole the changes were smaller although still quite sufficient to indicate greater resistance of WW strain to these schistosomicides.

It is worth while remembering that, in the pertaining literature, it is the first time that resistance in S. mansoni strains from treated patients has been demonstrated.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARCHER, S. & YARINSKY, A. — Recent developments in the chemotherapy of schistosomiasis. Em "Progress in Drug Research", vol. 16 (Jucker, E. — ed.) pp. 12-16 Birkhäuser Verlag, Basel and Stuttgart, 1972.
2. BUEDING, E., FISHER, J. & BRUCE, J. — The antischistosomal activity of a chloroindazole analog of hycanthono in mice infected with *Schistosoma mansoni*. Pharmacol. Exp. Ther., 186: 402-407, 1973.
3. GONNERT, R. & VOGEL, H. — Über die Abhängigkeit des Therapieerfolges von Wirtsund Parasitenstamm bei der experimentellen Schistosomiasis. Z. Tropenmed. Parasit., 6: 193-198, 1955.
4. KATZ, N. — Avaliação terapêutica do hycanthono em pacientes com período

TABELA II: ATIVIDADE DE DROGAS ESQUITOSSOMICIDAS EM CAMUNDONGOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS PELA CEPA WW DE *S. MANSONI*

Droga	Esquema de tratamento mg/kg/dia-via	Número de animais		Média de vermes	Distribuição de vermes — %			Alteração do oograma %
		Tratados	Examinados		Mesentério	Fígado	Mortos no fígado	
Hycantone	80 x 1 i.m.	10	8	25,8	42,6	57,4	0,0	0,0
Hycantone	20 x 1 i.m.	10	10	37,6	61,7	38,3	0,0	0,0
Niridazole	100 x 5 oral	10	10	15,3	63,3	36,7	2,6	40,0
Niridazole	50 x 5 oral	10	9	17,4	88,5	11,5	0,0	11,0
Oxamniquine	100 x 1 i.m.	10	8	15,8	44,9	55,1	3,9	37,0
Oxamniquine	50 x 1 i.m.	10	10	19,3	65,8	34,2	1,5	20,0
Controle	—	—	10	30,4	92,1	7,9	0,0	0,0

- de infecção esquistossomótica conhecido. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 5: 55-60, 1971.
5. KATZ, N., CHAVES, A. & PELLEGRINO, J. — A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 14: 397-400, 1972.
 6. LEE, H G. CHEEVER, A. W., & FAIRWEATNER, W. R. — Influence of parasite strain on chemotherapy of murine schistosomiasis mansoni. Bull. Wld Hlth Org., 45: 147- 155, 1971.
 7. PELLEGRINO, J. & KATZ, N. — Experimental chemotherapy of schistosomiasis mansoni. Advances Parasitology, 6: 233-290, 1968.
 8. ROGERS, S. H. & BUEDING, E. — Hycanthone resistance: development in *Schistosoma mansoni*. Science, 172: 1057-1058, 1971.
 9. THOMPSON, P. E., MEISENHOLDER, J. E., MOORE, A. K. & WAITZ, J. A. — Laboratory studies on the joint effects of certain tris (p-aminophenyl) carbonium salts and antimonials as antischistosomal drugs Bull Wld Hlth Org 33: 517-535, 1965.