

COMPORTAMENTO DA CEPA LE DE *SCHISTOSOMA MANSONI*, APÓS PASSAGEM EM HOSPEDEIRO HUMANO INFECTADO ACIDENTALMENTE

Neusa Araújo, Cecília Pereira de Souza, Emmanuel Pinto Dias e Naftale Katz

Uma auxiliar de laboratório infectou-se acidentalmente, com cercárias de Schistosoma mansoni, cepa LE, mantida rotineiramente em nossos laboratórios. Decorridos 5 meses, o exame parasitológico de fezes revelou 108 ovos/g. A paciente foi tratada com oxamniquine, porém a infecção continuou ativa (6 ovos/g). Foi então obtido o isolado SSF mantido no modelo Biomphalaria glabrata – camundongo albino. Os resultados obtidos no estudo comparativo, entre o isolado SSF e a cepa LE, que lhe deu origem, mostraram que a duração do período pré-patente e o índice de infectividade em camundongos, bem como a resposta aos agentes esquistossomicidas (hycanthone, oxamniquine e praziquantel) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Por outro lado, o número de miracídeos obtidos dos intestinos e fígados dos camundongos infectados foi o dobro com a cepa LE, quando comparados com aquele do isolado SSF. Também a variação do peso dos animais foi bastante diferente. Concluiu-se que apenas uma passagem pelo hospedeiro humano não mudou substancialmente as características da cepa estudada.

Palavras chaves: *Schistosoma mansoni*. Cepa. Estudo experimental comparativo.

A cepa LE de *Schistosoma mansoni* vem sendo mantida em nossos laboratórios há aproximadamente 20 anos desde o seu isolamento, realizado por J. Pellegrino, das fezes de um paciente que se infectou pela primeira e única vez em Belo Horizonte, MG, usando-se o modelo *Biomphalaria glabrata* – camundongo ou hamster – *B. glabrata*.

Esta cepa tem sido utilizada como padrão “normal” para comparação com outras isoladas de pacientes tratados e não curados, com diferentes formas clínicas, etc. Nos estudos de terapêutica experimental a cepa LE mostra-se muito suscetível aos esquistossomicidas conhecidos.

Recentemente, uma auxiliar de laboratório infectou-se acidentalmente, no exercício de suas atividades diárias, tendo sido revelado após 5 meses, ovos viáveis de *S. mansoni* nas fezes. Foi então, tratada com oxamniquine com dose única oral de 15 mg/kg. O controle parasitológico realizado através de repetidos exames de fezes mostrou que a infecção continuava ativa.

Para verificar se a não-cura poderia ser imputada a mudança nas características da cepa, os miracídeos provenientes desta paciente (isolado SSF) foram utilizados para fechar o ciclo do parasita em laboratório. Foram estudados comparativamente com

a cepa LE os seguintes parâmetros: duração do período pré-patente, infectividade, eclosão de miracídeos, peso dos camundongos infectados e resposta ao tratamento específico.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados a cepa LE (mantida há anos com passagens sucessivas em *B. glabrata* e camundongo ou hamster) e o isolado SSF.

O isolado SSF foi proveniente de uma paciente de 23 anos, branca, com dois exames parasitológicos de fezes negativos (janeiro e maio de 1981) e que começou a trabalhar no moluscário em fevereiro do mesmo ano. Provavelmente em junho de 1981 contaminou-se acidentalmente com cercárias LE.

Em outubro do mesmo ano, o exame parasitológico quantitativo de fezes (método de Kato-Katz) revelou 108 ovos de *S. mansoni* por grama de fezes. Ao exame clínico, as queixas eram de diarreia e dores abdominais que haviam começado no mês anterior. O exame físico não revelou nenhuma anormalidade. Em 20-10-81 foi tratada com oxamniquine (dose única oral de 15mg/kg). Exames de fezes repetidos após 10 meses, revelaram 6 ovos por grama de fezes.

Miracídeos obtidos de intestino delgado e fígado de camundongos experimentalmente infectados (cepa LE) e de fezes humanas (SSF) foram utilizados para infecção experimental de *B. glabrata*¹⁷.

Após 20 dias da infecção, amostras de água dos dois aquários foram retiradas e examinadas diariamente, para se detectar a presença de cercárias. Decorridos 35 dias da exposição os moluscos foram examinados individualmente, após 30 minutos de

Do Centro de Pesquisas “René Rachou” – Fundação Oswaldo Cruz, Ministério da Saúde, C.P. 1743, 30000 Belo Horizonte, MG, Brasil.

Trabalho subvencionado parcialmente pelo Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Financiadora de Estudos e Pesquisas (FINEP).

Recebido para publicação em 25/11/85.

exposição à luz e separados aqueles que estavam eliminando cercárias.

As cercárias eliminadas pelos caramujos positivos após 90 minutos de exposição à luz foram utilizadas para inoculação subcutânea de 150 camundongos albinos (100 ± 10 cercárias/camundongo)¹¹. Estes camundongos foram separados em grupos de 10 e os respectivos pesos foram anotados no dia da inoculação e, a partir daí, semanalmente durante 52 dias.

As fezes dos camundongos de cada grupo foram colhidas diariamente a partir do 30º dia da infecção, homogenizadas com solução salina e preparadas para o exame pelo método de Kato-Katz quantitativo⁹, para verificar a duração do período pré-patente.

Quarenta e cinco dias após a infecção com a cepa LE e com o isolado SSF, grupos de 10 camundongos de cada foram tratados com hycanthon (40 e 80 mg/kg, i.m.) oxamniquine (50 e 100 mg/kg, via oral) e praziquantel (200 e 400 mg/kg, via oral); um grupo de 10 camundongos de cada uma das cepas foi ainda utilizado para obtenção de miracídios do mesentério e fígado e posterior infecção em massa de caramujos (*B. glabrata*).

Sete dias após o tratamento, os camundongos tratados com as diversas drogas esquistossomicidas foram sacrificados por fratura cervical, para se proceder à colheita e contagem de vermes adultos, e verificar sua distribuição nas veias mesentéricas e fígado, através de perfusão. O número de vermes mortos no fígado foi determinado através do esmagamento deste órgão entre duas placas de vidro e exame em microscópio de dissecação. Fragmentos do intestino delgado (± 1 cm) foram retirados, esmagados entre lâmina e laminula, e observados ao microscópio para avaliação da alteração do oograma. Considerou-se alterado o oograma que não apresentasse ovos em um ou mais estágios imaturos¹⁶.

Para análise estatística foram utilizados o Qui quadrado de Pearson e teste "t" de Student, sendo estipulado o nível de significância de $p \leq 0,01$.

RESULTADOS

Os caramujos expostos a miracídios de cada uma das duas cepas começaram a eliminar cercárias 28 dias após a infecção.

A duração do período pré-patente em camundongos, também foi igual nas duas, com aparecimento de ovos nas fezes 43 dias após a infecção.

A diferença no índice de infectividade não foi estatisticamente significativa. De fato, as perfusões de dois grupos de 20 camundongos cada, revelaram médias de $32,0 \pm 15,7$ e $34,2 \pm 16,7$ vermes/camundongo, respectivamente, para a cepa LE e para o isolado SSF.

Os resultados obtidos após a administração das drogas esquistossomicidas em camundongos inoculados com as cepas LE e SSF podem ser vistos nas Tabelas 1 e 2. De fato quando foi administrado hycanthon nos camundongos infectados com a cepa LE a alteração do oograma foi de 83,3 e 71,4% com as duas doses (40 e 80 mg/kg i.m.) respectivamente. Nos camundongos infectados com o isolado SSF foi de 83,3 e 100,0%. Estas diferenças não foram estatisticamente significativas ($X^2 = 0,00$ e 2,67). O percentual de vermes mortos no fígado também não foi significativo ($X^2 = 0,01$ e 1,92). Com oxamniquine a alteração do oograma foi de 100,0% com as duas doses utilizadas nos camundongos infectados com a cepa LE e 83,3 e 100% nas doses de 50 e 100 mg/kg, respectivamente, com a SSF ($X^2 = 1,43$ e 0,00) sendo que o percentual de vermes mortos no fígado variou de 54,8 a 83,8%. Após a administração de praziquantel também não houve diferenças significativas entre as cepas, pois observou-se parada da postura em 100,0% dos animais infectados e o percentual de vermes mortos no fígado variou de 57,5 a 94,3%.

A média de vermes nos camundongos infectados com a cepa LE foi de 36,5, com um total de 77 machos, 64 fêmeas e 112 acasalados, semelhante à média de vermes nos camundongos infectados com a cepa SSF que foi de 35,0 assim distribuídos: 60 machos, 76 fêmeas e 107 acasalados. Entretanto, o número de miracídios obtidos do intestino e fígado destes camundongos foi significativamente diferente ($p < 0,01$): 3526 com a cepa LE e 1791 com o isolado SSF, isto é, quase o dobro com a cepa LE.

Os pesos dos camundongos infectados e de um grupo controle (sem infecção) podem ser vistos no Gráfico 1.

Os camundongos infectados com a cepa LE perderam peso gradativamente a partir do 7º dia da inoculação das cercárias e durante todo o decorrer da experiência; aqueles infectados com o isolado SSF, porém ganharam peso nas primeiras semanas para somente após o 35º dia da inoculação, mostrarem uma perda vertiginosa de peso. Estas diferenças nos pesos dos camundongos foram significativas ($p < 0,01$, Fig. 1).

DISCUSSÃO

Diferenças entre isolados de *S. mansoni* de áreas geográficas diversas^{1 8 13 14 18 20 21 22 24}, bem como de pacientes tratados e não curados^{2 3 5 6 7 10 12 19 22 23 25}, e mesmo de pacientes nunca anteriormente tratados^{2 4} tem sido relatados na literatura.

De fato, Katz e cols¹⁰ demonstraram que a cepa isolada de dois pacientes tratados duas vezes com hycanthon e uma vez com niridazol e que continuavam eliminando ovos viáveis de *S. mansoni* nas

Tabela 1 – Atividade de drogas esquistossomicidas em camundongos experimentalmente infectados pela cepa LE de *Schistosoma mansoni*.

Droga	Dose única mg/kg-via	Nº de animais		Média de vermes	Distribuição de vermes (%)		Mortos no Fígado	Alteração do Oograma (%)
		Tratados	Examinados		Total Mesentério	Fígado		
Hycanthone	40-i.m.	10	6	31,5	61,4	38,6	0,5	83,3
Hycanthone	80-i.m.	10	7	29,0	6,9	93,1	55,1	71,4
Oxamniquine	50-oral	10	8	29,5	3,0	97,0	83,8	100,0
Oxamniquine	100-oral	10	5	28,2	7,8	92,2	67,7	100,0
Controle	—	—	10	36,5	95,1	4,9	0,0	0,0
Praziquantel	200-oral	10	5	38,6	2,1	97,9	94,3	100,0
Praziquantel	400-oral	10	6	24,2	4,1	95,9	86,0	100,0
Controle	—	—	10	29,0	81,0	19,0	0,0	0,0

Tabela 2 – Atividade de drogas esquistossomicidas em camundongos experimentalmente infectados pelo isolado SSF de *Schistosoma mansoni*.

Droga	Dose única mg/kg-via	Nº de animais		Média de Vermes	Distribuição de vermes (%)		Mortos no Fígado	Alteração do Oograma (%)
		Tratados	Examinados		Total Mesentério	Fígado		
Hycanthone	40-i.m.	10	6	18,5	65,2	37,8	0,0	83,3
Hycanthone	80-i.m.	10	8	22,9	37,7	62,3	31,2	100,0
Oxamniquine	50-oral	10	6	20,7	34,7	65,3	54,8	83,3
Oxamniquine	100-oral	10	7	31,0	24,7	75,3	65,6	100,0
Controle	—	—	10	35,0	94,9	5,1	0,0	0,0
Praziquantel	200-oral	10	7	35,3	19,8	80,2	57,5	100,0
Praziquantel	400-oral	10	9	18,0	38,9	61,1	61,1	100,0
Controle	—	—	10	33,5	73,7	26,3	0,0	0,0

fezes, apresentaram resistência ou baixa suscetibilidade aos esquistossomicidas conhecidos quando inoculadas em camundongos. Relatos semelhantes foram feitos por Campos e cols³ e Dias e cols⁶. Também, Araújo e cols² encontraram cepas resistentes em pacientes nunca anteriormente tratados. Respostas diferentes aos quimioterápicos também foram descritas em cepas originárias da Libéria, Egito, Porto Rico, etc^{7 12 22 23}.

O período pré-patente é outra característica variável de acordo com a cepa^{8 20 21}. Anderson e Cheever¹ trabalhando com cepas de *S. mansoni* originárias de Santa Lúcia, de Porto Rico e do Brasil encontraram os primeiros ovos do parasita em tecidos de camundongos 32 a 36 dias após a infecção, sendo que uma mesma cepa podia apresentar um desvio de 2 a 3 dias, quando os experimentos foram repetidos.

A taxa de infectividade também tem sido usada para o estudo comparativo entre cepas. Os resultados

obtidos por vários autores concordam no que se refere à taxa de infectividade de cepas provenientes de determinadas regiões geográficas^{15 21 24} embora existam também resultados discordantes, mostrando que uma mesma cepa pode apresentar diferentes graus de infectividade em experimentos duplicados^{1 18}.

O número de ovos depositados pela fêmea de *S. mansoni* nos tecidos do hospedeiro varia, de acordo com a cepa^{14 15 21}. Anderson e Cheever¹ observaram que o número de ovos produzidos por casal de vermes das cepas de *S. mansoni* oriundas de Porto Rico, da Bahia e de Santa Lúcia era, na maioria das vezes, maior que o número de ovos produzidos por casal de vermes de outra cepa de Porto Rico ou de cepas provenientes de Belo Horizonte e Mwanza.

No presente trabalho estuda-se o isolado SSF, proveniente de uma paciente que se infectou acidentalmente no laboratório com cercárias da cepa LE, mantida rotineiramente em nossos laboratórios, e que

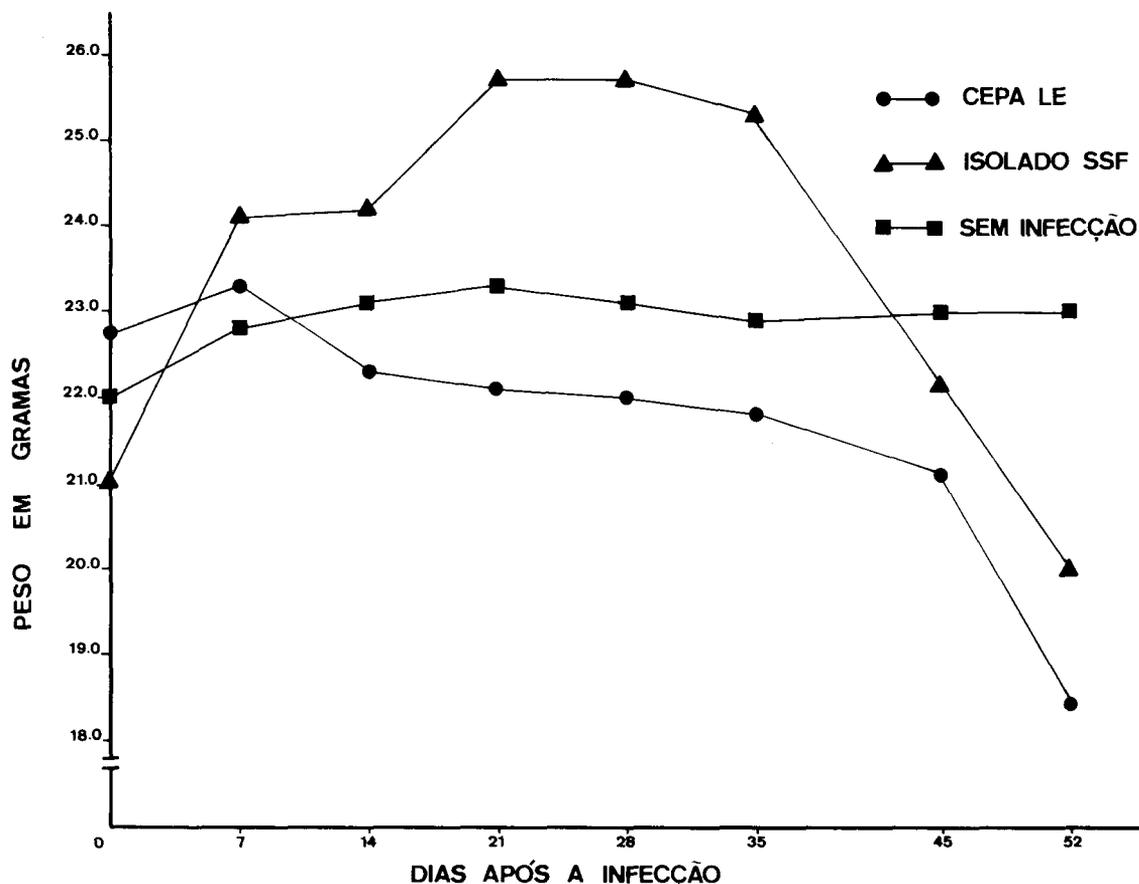


Figura 1 – Relação entre os pesos de camundongos infectados com cercárias de *Schistosoma mansoni* das cepas LE, isolado SSF e de um grupo controle (sem infecção) no decorrer de 52 dias da infecção.

não se curou, apesar da diminuição significativa do número de ovos de *S. mansoni* eliminados nas fezes após a administração de oxamniquine. A comparação entre a cepa LE e o isolado SSF, no que se refere a ação terapêutica da oxamniquine em camundongos experimentalmente infectados não mostrou diferenças significativas. Também não foram observadas diferenças na duração do período pré-patente e infectividade. Todavia, é interessante assinalar as diferenças encontradas no número de miracídios obtidos do intestino e fígado de camundongos infectados com a cepa LE que foi o dobro da observada com a SSF, em que pese o número de vermes por camundongo ser semelhante. Também, o peso dos animais infectados comportou-se diferentemente. Enquanto nos infectados com a cepa LE a perda de peso foi discreta porém gradativa a partir do 7º dia, sendo intensa a partir do 45º dia da infecção, nos infectados com o isolado SSF houve acentuado aumento de peso até o 35º dia, quando então foi observado acentuada e progressiva queda de peso, até o 52º dia, quando foram encerradas as observações.

Em que pese as diferenças encontradas para as quais não conseguimos explicações, no que se refere

ao período pré-patente, infectividade e suscetibilidade aos esquistossomicidas utilizados (hycanthone, oxamniquine e praziquantel) ambas se comportaram semelhantemente, mostrando que uma passagem pelo hospedeiro humano não mudou substancialmente as características da cepa estudada.

SUMMARY

A laboratory technician was accidentally infected with the LE strain of Schistosoma mansoni cercariae maintained in our laboratories. After 5 months infection parasitological examination revealed 108 eggs/g faeces. Although treated with oxamniquine, the infection still persisted (6 eggs/g of faeces). An isolate (SSF) was obtained from that person and maintained in Biomphalaria glabrata – Swiss mouse by alternate passage. The experimental comparative results between the newly obtained SSF isolate and the original LE strain showed that the differences in pre-patent period, the mice infectivity level and the schistosomicidal response to hycanthone, oxamniquine and praziquantel was not statistically significant. On the other hand the

number of miracidia recovered from intestines and livers of equally infected mice was twice as much in the LE strain than in the SSF isolate. Furthermore, among the LE and SSF infected mice and the non infected control weight gains were different. While the LE infected mice lost weight since the beginning of the infection, the SSF ones initially gained and then lost weight. The conclusion is that only one passage into the human host did not substantially alter the studied strain characteristics.

Key words: *Schistosoma mansoni*. Strain Comparative experimental study.

AGRADECIMENTOS

À Sueleny Silva Ferreira pela dupla colaboração tanto como paciente, quanto na assistência técnica, como funcionária do laboratório. A Antonio Emidio Ferreira pelo auxílio técnico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Anderson LA, Cheever AW. Comparison of geographical strains of *Schistosoma mansoni* in the mouse. Bulletin of the World Health Organization 46: 233-242, 1972.
2. Araújo N, Katz N, Dias EP, Souza CP. Susceptibility, to chemotherapeutic agents, of *Schistosoma mansoni* strains isolated from treated and untreated patients. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 29: 890-894, 1980.
3. Campos R, Moreira AAB, Sette Jr. H, Chamone DAF, Silva LC. Hycanthone resistance in a human strain of *Schistosoma mansoni*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 70: 261-262, 1972.
4. Costa MFFL, Katz N. Comparative study on *Schistosoma mansoni* strains isolated from patients with toxemic or intestinal form of schistosomiasis. American Journal Tropical Medicine and Hygiene 31: 499-504, 1982.
5. Dias LCS, Pedro RJ, Rigo E, Goto MMF, Mafra GL. Linhagem humana de *Schistosoma mansoni* resistente a esquistossomicidas. Revista de Saúde Pública de São Paulo 12: 110, 1978.
6. Dias LCS, Pedro RJ, Deberaldini ER. Use of praziquantel in patients with schistosomiasis mansoni previously treated with oxamniquine and/or hycanthone: resistance of *Schistosoma mansoni* to schistosomicidal agents. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 76: 652-659, 1982.
7. Gonnert R, Vogel H. Über die abhángigkeit des therapieerfolges von wirtsund parasitenstamm bei der experimentellen schistosomiasis. Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie 6: 193-198, 1955.
8. Hsu HF, Hsu SY. The prepatent period of four geographic strains of *Schistosoma japonicum*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 52: 363-367, 1958.
9. Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 14: 397-400, 1972.
10. Katz N, Dias EP, Araújo N, Souza CP. Estudo de uma cepa humana de *Schistosoma mansoni* resistente a agentes esquistossomicidas. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 6: 381-387, 1973.
11. Katz N. Chemotherapy of schistosomiasis mansoni. Advances in Parasitology 14: 1-70, 1977.
12. Lee H, Cheever AW, Fairweather WR. Influence of parasite strain on chemotherapy of murine infections with *Schistosoma mansoni*. Bulletin of the World Health Organization 45: 147-155, 1971.
13. Magalhães LA, Carvalho JF. Desenvolvimento do *Schistosoma mansoni* das linhagens de Belo Horizonte (MG) e de São José dos Campos (SP) em *Mus musculus*. Revista Saúde Pública São Paulo 7: 285-287, 1973.
14. Magalhães LA, Alcântara FG, Carvalho JF. Alguns dados referentes ao estudo parasitológico e anatomo-patológico de duas linhagens de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. Revista Saúde Pública São Paulo 9: 1-5, 1975.
15. Nelson GS, Saoud MFA. A comparison of the pathogenicity of two geographical strains of *Schistosoma mansoni* in rhesus monkeys. Journal of Helminthology 42: 339-362, 1968.
16. Pellegrino J, Faria J. Infection of the golden hamster with *Schistosoma mansoni* cercariae through the cheek pouch. Journal of Parasitology 51: 1015, 1965.
17. Pellegrino J, Katz N. Experimental chemotherapy of schistosomiasis mansoni. Advances in Parasitology 6: 233-290, 1968.
18. Powers KG, Cheever AW. Comparison of geographical strains of *Schistosoma mansoni* in the rhesus monkey. Bulletin of the World Health Organization 46: 295-300, 1972.
19. Rogers SH, Bueding E. Hycanthone resistance: development in *Schistosoma mansoni*. Science 172: 1057-1058, 1971.
20. Saoud MFA. Comparative studies on the characteristic of some geographical strains of *Schistosoma mansoni* in mice and hamsters. Journal of Helminthology 39: 101-112, 1965.
21. Saoud MFA. The infectivity and pathogenicity of geographical strains of *Schistosoma mansoni*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 60: 585-600, 1966.
22. Taylor MG; Nelson GS. A comparison of the susceptibility to niridazole of two geographical strains of *Schistosoma mansoni* in mice with a note on the susceptibility of *S. mattheei*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 65: 169-174, 1971.
23. Thompson PE, Meisenhelder JE, Moore AK, Waitz JA. Laboratory studies on the joint effects of certain Tris (p-aminophenil) carbonium salts and antimonials as antischistosomal drugs. Bulletin of the World Health Organization 33: 517-535, 1965.
24. Warren K. A comparison of Puerto Rican, Brazilian, Egyptian and Tanzanian strains of *Schistosoma mansoni*

Araújo N, Souza CP, Dias EP, Katz N. Comportamento da cepa LE de *Schistosoma mansoni*, após passagem em hospedeiro humano infectado acidentalmente. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 19: 213-218, Out-Dez, 1986.

in mice: penetration of cercariae, maturation of schistosomes and production of liver diseases. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 61: 795-802, 1967.

25. Yarinsky A. Susceptibility of schistosomes to chemotherapy with particular reference to hycanthone. *Proceeding of the International Conference on Schistosomiasis* 1: 259-269, 1978.