

SCHISTOSOMA MANSONI: NÍVEIS DE INFECCIOSIDADE PARA OS MOLUSCOS HOSPEDEIROS INTERMEDIÁRIOS DO BRASIL

Cecília Pereira de Souza, Liana K. Jannotti-Passos, Iaci Belo de F.
Vieira e Ivan Barbosa Machado Sampaio

Os níveis de infecciosidade de *Schistosoma mansoni* para as três espécies de *Biomphalaria*, hospedeiras intermediárias do parasita no Brasil, foram pesquisados após exposições conjuntas dos moluscos a miracídios, no laboratório e no campo. Foram utilizadas as cepas LE e SJ de *S. mansoni*, mantidas no laboratório e WVS e RFS obtidas de fezes de escolares de Belo Horizonte, MG. Os resultados mostraram a infecciosidade maior de *S. mansoni* para *B. glabrata*, com taxas de infecção de 4,7 a 85,5%. *A. B. straminea* foi suscetível às cepas LE, SJ e WVS, com taxas de infecção de 11,0 a 24,6%. *A. B. tenagophila* foi suscetível a LE e SJ com taxas de infecção de 2,5 a 6,5%. As médias de cercárias da cepa WVS, eliminadas por dia por *B. straminea* e *B. glabrata* variaram de 93 ± 59 e 782 ± 1.120 , respectivamente.

Palavras-chaves: *Schistosoma mansoni*. Infecciosidade. Moluscos hospedeiros. Brasil.

A larga distribuição geográfica dos moluscos hospedeiros de *Schistosoma mansoni* no Brasil, onde a *B. glabrata* é encontrada em 17 dentre 27 unidades federativas, a *B. straminea* em 23 e a *B. tenagophila* em 10^{13 14 15 16 29 30 31}, nos levou ao estudo do nível de infecciosidade do trematódeo para as três espécies de moluscos. A importância epidemiológica de *B. glabrata* nas regiões onde ela ocorre é indiscutível. *A. B. straminea* é um vetor importante na região nordeste e a *B. tenagophila* nas regiões sudeste e sul^{1 2 3 4 6 7 8 12 18 25}.

Em Minas Gerais levantamentos malacológicos diversos já registraram a ocorrência de *B. glabrata* em 167 municípios, de *B. straminea* em 74 e de *B. tenagophila* em 31^{5 13 15 28}. Em alguns municípios mineiros ocorrem duas ou as três espécies hospedeiras, como em Belo Horizonte, Jaboticatubas, Coronel Fabriciano, Governador Valadares, Frei Inocêncio, Engenheiro Caldas, Nova Era, Dom Joaquim, dentre outras^{5 13 15 28}. A

ocorrência de duas ou três espécies em uma mesma região, possibilita o encontro eventual dessas espécies juntas em um mesmo criadouro.

No presente estudo, foram feitas infecções experimentais conjuntas das três espécies de *Biomphalaria*, com diferentes cepas de *S. mansoni*, no laboratório e no campo, com o objetivo de conhecer melhor o comportamento do trematódeo e dos moluscos hospedeiros em criadouros onde eventualmente podem ser encontradas duas ou três espécies, como ocorre na região da Pampulha, em Belo Horizonte¹⁰.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram usados moluscos *Biomphalaria* criados no laboratório ou capturados no campo: a) *B. glabrata*, criada no laboratório, originária de exemplares coletados no Barreiro de Cima, Belo Horizonte, (MG) e mantida no laboratório há mais de 20 anos; foram usados moluscos medindo 4-10mm de diâmetro. b) *B. tenagophila*, descendente de exemplares procedentes de Campinas (SP) em 1991 e outra população capturada no lago da Pampulha, Belo Horizonte em 1988; os moluscos usados mediam 4-10mm. c) *B. straminea*, descendente de exemplares capturados em vaia localizada em sítio nas margens do lago da Pampulha, Belo Horizonte, em 1988 e 1989. Parte dos

Centro de Pesquisas "René Rachou"- Fundação Oswaldo Cruz e Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

Apoio financeiro: CNPq.

Endereço para correspondência: Dra Cecília Pereira de Souza. Laboratório de Malacologia - Centro de Pesquisas "René Rachou"/FIOCRUZ. Caixa Postal 1743, 30161-970 Belo Horizonte, MG. Fax: 031.295.3115.

Recebido para publicação em 27/03/95.

moluscos coletados em 1988 foi usada em experimento no campo; foram utilizados exemplares com 4-7mm.

Foram usadas quatro cepas de *S. mansoni*: duas mantidas no laboratório; LE, de Belo Horizonte (MG) e SJ de São José dos Campos (SP). As outras duas foram obtidas de fezes de escolares de Belo Horizonte; um residente na Pampulha, WVS, isolada em 1988, e outro da região de Gorduras, RFS, isolada em 1991.

Infecção no laboratório e no campo.

- a) No laboratório os ovos de *S. mansoni* foram obtidos de fígado de hamster, após 48 a 50 dias de infecção, segundo técnica de Pellegrino e Katz²³ com modificações⁴⁶. Duzentos moluscos de cada espécie foram expostos em conjunto a cerca de 50 miracídeos por exemplar. Cinquenta exemplares de cada espécie foram colocados dentro de pequenas gaiolas de forma cilíndrica, de tela de metal (11,0 x 3,5cm), com tampa de plástico. Seis gaiolas contendo 300 moluscos foram submersas em 7000ml de água contendo cerca de 15.000 miracídeos, dentro de um cristalizador com tampa. O tempo de exposição foi de 6 horas, sob luz artificial, em temperatura de $27,0 \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- b) No campo, foram usados ovos de *S. mansoni* obtidos de fezes coletadas no dia do experimento. O material foi pesado e retirou-se uma amostra para determinar o número médio de ovos por grama de fezes⁴¹. No primeiro experimento foram usadas 140g de fezes do paciente WVS, contendo cerca de 601.440 ovos de *S. mansoni*; no segundo, foram usadas 42g de fezes do paciente RFS, contendo cerca de 42.720 ovos. As fezes foram previamente suspensas em bequer contendo água dos poços onde posteriormente foram lançadas. Cento e cinquenta moluscos de cada espécie foram colocados em três gaiolas com tampa; 9 gaiolas contendo 450 moluscos foram fixadas em três estacas de madeira e submersas na água de um mesmo poço. A suspensão de fezes foi lançada sobre os locais onde estavam os moluscos. O tempo de exposição foi de 6 horas em temperatura de $25,0^{\circ}\text{C}$ no primeiro experimento e de $23,5$ a $24,0^{\circ}\text{C}$ no segundo. O pH da água variou de 5 a 6 durante as exposições. Foram utilizados poços pequenos com cerca de 150l de água⁴²,

pertencentes a sistema de valas de irrigação de horta, localizado no Barreiro de Baixo, Belo Horizonte, criadouro de *B. glabrata*. No dia do experimento a entrada e saída da água dos poços foram fechadas para evitar o carreamento do material em suspensão. Após a exposição, as gaiolas contendo os moluscos foram recolhidas e levadas para o laboratório. Os exemplares de cada espécie foram colocados em aquários separados e mantidos em condições iguais, em temperatura de $21,0$ a $28,0^{\circ}\text{C}$. Após a retirada dos moluscos os poços foram tratados com 1000ml de solução de hipoclorito de sódio (água sanitária) para eliminar os miracídeos e outros organismos provenientes das fezes.

Decorridos trinta dias da exposição os moluscos do laboratório foram examinados em estereomicroscópio após esmagamento entre lâminas de vidro para detectar a presença de esporocistos ou cercárias. Os moluscos expostos no campo foram examinados após exposição à luz e os exemplares positivos foram separados e colocados individualmente em aquários de plástico, com 400ml de água. No experimento com a linhagem WVS os exemplares negativos foram examinados até 70 dias e depois esmagados. No experimento com RFS os moluscos negativos foram examinados após exposição à luz aos 30 dias e após esmagamento aos 37 dias após a exposição.

Os moluscos infectados com a linhagem WVS tiveram suas cercárias contadas em 4 alíquotas de 1ml, retiradas dos aquários 3 vezes por semana, antes da troca de água. A data da morte de cada molusco infectado foi registrada.

Procedeu-se a avaliação da compatibilidade dos moluscos das três espécies à infecção com a linhagem WVS, utilizando o método de Frandsen⁹. Para o cálculo do índice TCP/100, tomou-se o total de cercárias eliminadas durante a vida dos moluscos, multiplicou-se pelo número de exemplares expostos e dividiu-se por 100. Os índices obtidos foram comparados com dados da tabela de Frandsen⁹ que contém 6 classes de compatibilidade, segundo o número de cercárias eliminadas, além da classe 0 de resistente.

Análise estatística - as diferenças numéricas obtidas nos experimentos foram avaliadas com aplicação do teste do qui-quadrado. As

variáveis quantitativas foram submetidas a análise de variância com as médias comparadas pelo teste t de Student. A variável número médio de cercárias (x) sofreu transformação logarítmica $\log(x+1)$ por apresentar desvios proporcionais às médias²⁴. Em todos os cálculos foi adotado o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Os resultados das exposições conjuntas dos moluscos das três espécies a diferentes linhagens de *S. mansoni* no laboratório e no campo são mostrados na Tabela 1. As diferenças entre as taxas de infecção conjuntas foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Os níveis maiores de infeciosidade dos miracídios das linhagens LE, SJ, WVS e RFS foram para *B. glabrata*. Com a linhagem LE, as diferenças foram estatisticamente significativas entre *B. tenagophila* e *B. straminea* $\chi^2 = 12,42$; entre *B. glabrata* e *B. tenagophila*, $\chi^2 = 291,9$; entre *B. glabrata* e *B. straminea*, $\chi^2 = 242,47$; entre *B. glabrata* e *B. straminea*, $\chi^2 = 213,68$ e não significativa entre *B. straminea* e *B. tenagophila* (Tabela 1). A preferência maior dos miracídios da linhagem WVS foi para *B. straminea* e *B. glabrata*, diferença não significativa estatisticamente; entre *B. straminea* e *B. tenagophila* a diferença foi estatisticamente significativa, $\chi^2 = 137,05$ assim como entre *B. glabrata* e *B. tenagophila*, $\chi^2 = 32,23$. A *B. tenagophila* não se infectou com WVS.

Com a linhagem RFS as diferenças entre as taxas de infecção foram estatisticamente significativas. A infeciosidade dos miracídios da RFS foi maior para *B. glabrata*, $\chi^2 = 87,21$, em relação à *B. straminea* e *B. tenagophila* que não se infectaram (Tabela 1).

As médias de cercárias da linhagem WVS, eliminadas por molusco, por dia foram de 93 ± 59 para *B. straminea* e de 782 ± 1.120 para *B. glabrata*, significativamente maior para a segunda espécie (teste t de Student).

O cálculo do índice TCP/100 possibilitou a classificação da compatibilidade de cada espécie com a linhagem WVS. Assim para *B. glabrata* foi de $1.990.959 \times 100/150 = 1.327.063$, classe VI, extremamente compatível

Os índices obtidos para cada espécie são apresentados na Tabela 2.

As medianas de mortalidade dos moluscos infectados com WVS mostraram que 50% de *B. straminea* morreram até 71 dias e de *B. glabrata* até 92 dias após a infecção. A taxa de sobrevivência dos moluscos infectados, após 90 dias foi de 18,9% para *B. straminea* e de 65,5% para *B. glabrata*. A longevidade maior foi de 16 semanas (112 dias) para *B. straminea* e de 33 semanas (231 dias) para *B. glabrata*, de exemplar com infecção bissexual.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no laboratório com as linhagens LE e SJ mostraram através das taxas de infecção conjunta os níveis maiores de infeciosidade de *S. mansoni* das duas linhagens para *B. glabrata*, seguindo-se a *B. straminea* e foi menor para a *B. tenagophila*. (Tabela 1). Na infecção com a linhagem SJ mais adaptada à *B. tenagophila*^{17 18 19}, a infeciosidade maior do trematódeo foi para *B. glabrata* e semelhante para *B. tenagophila* e *B. straminea* (Tabela 1). A linhagem SJ, tem sido mantida em *B. glabrata*, o que justifica esses resultados, mas em infecções individuais normalmente a *B. tenagophila* apresenta taxa de infecção significativamente maior do que a de *B. straminea* com essa cepa²⁷.

Tabela 1- Níveis de infeciosidade de diferentes linhagens de *Schistosoma mansoni* para *Biomphalaria* em exposições conjuntas.

| espécie | Molusco procedência | Linhagem de <i>S. mansoni</i> | Local de exposição | Taxas de infecção |
|-----------------------|------------------------|----------------------------------|-----------------------|----------------------|
| <i>B. tenagophila</i> | Campinas-SP | LE | laboratório | 2,5 |
| | Campinas-SP | SJ | laboratório | 6,5 |
| | Pampulha-MG* | WVS | campo | 0,0 |
| | Pampulha-MG | RFS | campo | 0,0 |
| <i>B. straminea</i> | Pampulha-MG | LE | laboratório | 11,5 |
| | Pampulha-MG | SJ | laboratório | 11,0 |
| | Pampulha-MG* | WVS | campo | 24,6 |
| | Pampulha-MG | RFS | campo | 0,0 |
| <i>B. glabrata</i> | Laboratório-MG | LE | laboratório | 85,5 |
| | Laboratório-MG | SJ | laboratório | 84,0 |
| | Laboratório-MG | WVS | campo | 19,3 |
| | Laboratório-MG | RFS | campo | 4,7 |

* Moluscos capturados no campo

Nas infecções no campo, os miracídios da linhagem WVS se desenvolveram somente em *B. straminea* e *B. glabrata*. Os níveis de infeciosidade maiores foram para *B. straminea* (24,6%) e *B. glabrata* (19,3%) e nula para *B. tenagophila* (0,0%). No criadouro de *B. straminea* eventualmente é encontrada *B. glabrata* e ambas se infectaram experimentalmente com *S. mansoni* de cepa local em níveis semelhantes. Como não foram realizados cortes histológicos em *B. tenagophila* exposta a miracídios, não sabemos se os miracídios não penetraram ou se alguns penetraram e foram destruídos pelo sistema interno de defesa do hospedeiro. A *B. tenagophila* da Pampulha, Belo Horizonte, é suscetível experimentalmente às linhagens LE e SJ de *S. mansoni*, apresentando taxas de infecção de 24,0 e 38,6%²⁷, respectivamente e às cepas locais do trematódeo, apresentando taxa de infecção natural de 0,03%⁴.

Os miracídios da linhagem RFS mostraram nível de infeciosidade maior para *B. glabrata*, pois, as outras duas espécies não eliminaram cercárias, provavelmente devido ao número menor de miracídios disponíveis e as condições climáticas do dia, parcialmente nublado e com chuva fraca. A temperatura da água durante a exposição baixou de 24,0°C para 23,5°C no período experimental.

Os resultados obtidos em condições semi-naturais mostraram que na presença de *B. glabrata* e *B. straminea* a taxa de infecção de *B. tenagophila* da Pampulha foi nula com a linhagem WVS, procedente daquele bairro. De fato, em várias capturas de moluscos efetuadas durante vários anos naquele local e examinados nesse laboratório não foram encontradas *B. tenagophila* com infecção natural junto com *B. glabrata*. Por outro lado, a *B. straminea* da Pampulha, apesar de não ser capturada com infecção natural apresentou taxa de infecção experimental semelhante à de *B. glabrata*, mostrando que ambas podem ser hospedeiras do trematódeo no mesmo habitat.

A média de cercárias eliminadas por *B. straminea* (93 ± 59) foi significativamente menor do que a de *B. glabrata* (728 ± 1.120) (teste t de Student) devido provavelmente a destruição de parte dos esporocistos pelo sistema interno de defesa do hospedeiro. Entretanto a taxa de infecção foi significativamente maior do que a dos moluscos de Paracatu²⁷. O total de cercárias eliminadas por 37 exemplares de *B. straminea*, em 16 semanas, foi de 70.252 larvas, número 28 vezes menor do que o eliminado por *B. glabrata* (1.990.595) em 33 semanas, devido a longevidade maior e número mais elevado de cercárias eliminadas por essa espécie, o que está de acordo com as observações de Barbosa e Coelho². Alguns exemplares de *B. straminea* interromperam a eliminação de cercárias por 1 a 5 dias mas não houve cura parasitológica.

Os índices TCP/ 100, obtidos para as três espécies de moluscos mostraram que a *B. straminea* foi pouco compatível com a linhagem WVS (classe II) e a *B. tenagophila* mostrou-se resistente ao trematódeo (classe 0) em presença das duas outras espécies (Tabela 2). Os resultados obtidos com *B. straminea* da Pampulha foram semelhantes aos dados registrados por Souza e cols²⁷ em infecção individual de exemplares de Paracatu, MG com as linhagens LE e AL (classe II) e inferiores aos obtidos por Paraense e Correa²¹, para molusco semelhante à *B. straminea* de Espinillar, Uruguai, infectado com SJ, que foi compatível (classe III).

Apesar de menos suscetíveis e compatíveis do que a *B. glabrata*, e da infeciosidade igual ou menor do *S. mansoni* para essas duas espécies, devido a distribuição geográfica de ambas, aumenta o risco da expansão da esquistossomose em áreas indenes. De fato, Silva²⁵ recentemente relatou o encontro de *B. tenagophila* com infecção natural em Ouro Branco, MG, aumentando para quatro o número de municípios mineiros onde o molusco é vetor.

Tabela 2 - Compatibilidade de Biomphalaria de Belo Horizonte, MG, com a linhagem WVS de Schistosoma mansoni, em exposição conjunta, no campo.

| espécie | Molusco procedência | Índice TCP/100 | Compatibilidade | |
|-------------------------|------------------------|-------------------|-----------------|-------------------------|
| | | | classe | descrição |
| <i>B. tenagophila</i> * | Pampulha | 0 | 0 | incompatível |
| <i>B. straminea</i> * | Pampulha | 46.835 | II | pouco compatível |
| <i>B. glabrata</i> | Laboratório | 1.327.063 | VI | extremamente compatível |

* Moluscos capturados no campo.

Esses relatos, vem confirmar as observações de Paraense e Correa²⁰, sobre o risco de expansão da esquistossomose nas regiões sudeste e sul e o papel importante representado por *B. tenagophila*, como vetora, nessas regiões. Por outro lado, existe o risco da expansão da esquistossomose também na região amazônica onde a *B. straminea* ocorre em várias localidades^{14,31}.

SUMMARY

The levels of infectivity of *Schistosoma mansoni* for the three species of *Biomphalaria*, intermediate hosts of parasite in Brazil were studied after exposing of molluscs to miracidia in the laboratory and in the field. The LE and SJ strains of *S. mansoni*, maintained in laboratory were used in these experiments as well as the WVS and RFS strains obtained from faeces of schoolchildren from Belo Horizonte, MG. The results show the high level of infectivity of *S. mansoni* for *B. glabrata* with infection rates varying from 4.7 to 85.5%. The snail *B. straminea* was susceptible to LE, SJ and WVS strains, with infection rates of 11.0 to 24.6%, *B. tenagophila* was susceptible only to LE and SJ strains with infection rates of 2.5 to 6.5%. The mean number of cercariae of the WVS strain shed per day, by *B. straminea* and *B. glabrata* were 93 ± 59 and $782 \pm 1,120$, respectively.

Key-words: *Schistosoma mansoni*. Infectivity. Snail hosts. Brazil.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Luiz Cândido de Souza Dias, da Universidade de Campinas, São Paulo, pelo fornecimento de amostra de moluscos de Campinas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Alencar JE, Rouquayrol MZ, Figueiredo JS, Bezerra OFA. A esquistossomose no Ceará, análise do problema atual e sugestões para controle. Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais 30:99-121, 1978.
- Barbosa FS, Coelho MV. Qualidades de vetor dos hospedeiros de *S. mansoni* no nordeste do Brasil. I Susceptibilidade de *A. glabratus* e *T. centimetralis* à infecção por *S. mansoni*. Publicações Avulsas do Instituto Aggeu Magalhães 3:55-62, 1954.
- Bernardini OJ, Machado MM. Esquistossomose mansoni em Santa Catarina: isolamento do *Schistosoma mansoni* do primeiro foco de transmissão ativa em São Francisco do Sul. Nota Prévia. Arquivos Catarinenses de Medicina 10:213, 1981.
- Carvalho OS, Guimarães CT, Massara CL, Bonesio JER. Situação atual da esquistossomose mansoni no lago da Pampulha, Belo Horizonte, MG, Brasil. Revista de Saúde Pública 19: 270-277, 1985.
- Carvalho OS, Massara CL, Silveira Neto HV, Alvarenga AG, Vidigal THDA, Guerra HL, Santos MAA, Katz N. Schistosomiasis mansoni in the region of the triângulo mineiro - State of Minas Gerais, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 89:509-512, 1994
- Carvalho OS, Souza CP, Katz N. Primeiro encontro de *Biomphalaria tenagophila* (d' Orbigny, 1835) naturalmente infectada com *Schistosoma mansoni*, em Itajubá, sul do estado de Minas Gerais, Brasil. Revista de Saúde Pública 19:88-91, 1985.
- Correa RR, Piza JT, Ramos A, Camargo LV. Planorbídeos do Estado de São Paulo: sua relação com a esquistossomose. Arquivos de Higiene e Saúde Pública 27:139-159, 1962.
- Espíndola KS, Hofmann PRP, Machado MM. Preliminary survey of the planorbicid fauna in Santa Catarina Island, Santa Catarina, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 85:375, 1990.
- Frandsen F. Discussion of the relationships between *Schistosoma* and their intermediate hosts, assessment of the degree of host-parasite compatibility and evaluation of schistosome taxonomy. Zeitschrift für Parasitenkunde 58:275-296, 1979.
- Freitas JR, Santos MBL, Lima LZ, Rocha LA, Souza CP. Distribuição dos moluscos hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni* na bacia da Pampulha, Belo Horizonte, MG, Atualização de dados. In: Anais da 43ª Reunião Anual da SBPC, Ciência e Cultura 43(supl):641-642, 1991.
- 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 14:397-402, 1972.
- Melo AL, Pereira LH. On the finding of *Biomphalaria tenagophila* naturally infected with *Schistosoma mansoni* in the state of Minas Gerais, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 27:99-101, 1985.
- Paraense WL. Fauna planorbídica do Brasil. In: Lacaz CS, Baruzzi GR, Siqueira JRW (eds)

- Introdução à geografia médica do Brasil, Edgard Blucher e Editora Universidade de São Paulo p. 13-20, 1972.
14. Paraense WL. A survey of planorbid molluscs in the Amazonian region of Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 78:343-361, 1983.
 15. Paraense WL. Distribuição dos caramujos no Brasil - In: Reis FA, Faria I, Katz N (eds) Modernos conhecimentos sobre esquistossomose mansônica, Biblioteca Academia Mineira de Medicina 14:117-128, 1986.
 16. Paraense WL, Alencar AJT, Correa LR. Distribuição dos planorbídeos e prevalência da xistosomose mansoni no Estado do Espírito Santo. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 78:373-384, 1983.
 17. Paraense WL, Correa LR. Sobre a ocorrência de duas raças biológicas de *Schistosoma mansoni* no Brasil. In: Resumos da XV Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Resumos, Campinas, SP, 1963.
 18. Paraense WL, Correa LR. Differential susceptibility of *Biomphalaria tenagophila* populations to infection with a strain of *Schistosoma mansoni*. Journal of Parasitology 64:822-826, 1978.
 19. Paraense WL, Correa LR. Observations of two biological races of *Schistosoma mansoni*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 76:287-291, 1981.
 20. Paraense WL, Correa LR. Probable extension of schistosomiasis mansoni to southernmost Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 82:577, 1987.
 21. Paraense WL, Correa LR. A potencial vector of *Schistosoma mansoni* in Uruguay. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 84:281-288, 1989.
 22. Paulini E. Da aplicação de moluscicidas: VI - Nomograma para o cálculo de moluscicidas. Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais 20:225-229, 1968.
 23. Pellegrino J, Katz N. Experimental chemotherapy of schistosomiasis mansoni. In: Dawes B (ed) Advances in Parasitology, Academic Press, London 6:233-290, 1968.
 24. Snedecor G W, Cochran WG. Statistical methods, 6th edition University Press Ames, 1968.
 25. Silva RE. Estudo malacológico da bacia hidrográfica do lago Soledade (Ouro Branco, Minas Gerais): testes de suscetibilidade com os transmissores do *Schistosoma mansoni*. Caracterização de trematódeos emergentes de moluscos. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 1992.
 26. Souza CP, Dias EP, Azevedo MLL, Paulini E. Observações sobre alguns fatores que influem na manutenção do *Schistosoma mansoni* em laboratório. Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas 12:411-419, 1979.
 27. Souza CP, Jannotti-Passos LK, Freitas JR. Degree of host parasite compatibility between *Schistosoma mansoni* and their intermediate molluscan hosts in Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 90:5-10, 1995.
 28. Souza CP, Lima LC. Moluscos de interesse parasitológico do Brasil. Série Esquistossomose n° 1, FIOCRUZ -CPqRR, Belo Horizonte, MG, 1990.
 29. Teles HMS, Leite RPA, Rodrigues FL. Moluscos límnicos de uma área do Alto Araguaia (Brasil). Revista de Saúde Pública 25:179-183, 1991.
 30. Teles HMS, Pereira PAC, Richinitti LMZ. Distribuição de *Biomphalaria* (Gastropoda; Planorbidae) nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil. Revista de Saúde Pública 25:350-352, 1991.
 31. Valadão R, Milward De Andrade R. Interações de planorbídeos vetores de esquistossomose mansoni e o problema da expansão da endemia na região amazônica. Revista de Saúde Pública 25:353-358, 1991.