

O MASTOMYS NATALENSIS COMO MODELO ALTERNATIVO NOS ESTUDOS DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EXPERIMENTAL (*)

Carlos Alberto Moreira CAMPOS (1), Rubens CAMPOS (2) e Leógenes Horácio PEREIRA (3)

RESUMO

Foram estudados aspectos da infecção e da imunidade experimentais em um roedor — o *Mastomys natalensis* — inoculado com a cepa LE (Belo Horizonte) do *Schistosoma mansoni*, comparando os resultados com os do camundongo albino, animal tido como melhor modelo experimental. Os parâmetros estudados ofereceram resultados em tudo semelhantes aos encontrados em camundongos, com o *M. natalensis* se mostrando bastante sensível à infecção pelo *S. mansoni*, sendo de grande utilidade para os estudos da biologia do parasito e/ou observações da imunologia advinda da infecção. Somando-se a tal fato a grande reprodutividade do animal em cativeiro, a criação fácil, o manejo e a manutenção simples em laboratório, sugere-se que seja o *M. natalensis* usado como modelo experimental alternativo nos diversos estudos da esquistossomose mansoni.

INTRODUÇÃO

A evolução da esquistossomose experimental depende, como assinalam STIREWALT & col.¹⁸, do equilíbrio estabelecido entre o hospedeiro e o parasito, variando — em função desse equilíbrio — o tamanho dos vermes, a presença de ovos nas fezes, a migração dos vermes para as veias mesentéricas, a reação tecidual e o índice de letalidade dos animais.

Segundo as observações de KUNTZ & MALAKATIS², os roedores, de modo geral — como grupo animais — constituem os hospedeiros mais sensíveis à infecção pelo *Schistosoma mansoni*, destacando-se, pelo uso em laboratório, ratos albinos, camundongos e “hamsters”. Destes, camundongos e “hamsters” são tidos como hospedeiros mais adequados para estudos experimentais da esquistossomose, apresentando grande suscetibilidade à infecção e desenvolvendo uma patologia semelhante à humana. Os ratos são pouco sensíveis aos parasito e, entre a

quarta e a oitava semana após a infecção, a maioria dos esquistossomos que alcança o sistema porta desaparece (RITCHIE & col.¹⁴, SMITHERS & TERRY¹⁶, PHILLIPS & col.¹¹).

O *Mastomys natalensis*, roedor bastante disseminado nas estepes africanas, já tinha sido encontrado naturalmente infectado com o *S. mansoni* em diversas ocasiões (PITCHFORD¹², PITCHFORD & VISSER¹³, NELSON & col.⁵). Os estudos da esquistossomose experimental nesse roedor, contudo, são por demais esparsos e fragmentados, não possibilitando uma melhor observação da infecção nesse hospedeiro, considerado por OLIFF⁷ de fácil criação e alta reprodutividade em cativeiro. Dessa maneira, objetivou-se neste trabalho o estudo de alguns aspectos da biologia e da imunologia nesse hospedeiro, no intuito de aquilatá-lo como modelo alternativo no estudo experimental da esquistossomose mansoni.

(*) Trabalho desenvolvido no Grupo Interdepartamental de Estudos Sobre Esquistossomose (GIDE) da UFMG, Brasil

(1) Professor assistente, Doutor. Departamento de Biologia do Centro de Ciências da UFRN

(2) Professor titular. Departamento de Parasitologia — ICB — USP

(3) Professor adjunto. — Departamento de Parasitologia — ICB — UFMG

MATERIAL E MÉTODOS

O grupo experimental de animais foi formado por *M. natalensis* de ambos os sexos, com cerca de 40 dias de vida e peso variando entre 30 e 50 gramas. O grupo controle foi constituído por camundongos albinos heterozigóticos, de ambos os sexos, com aproximadamente 40 dias de nascidos e pesando entre 20 e 30 gramas.

M. natalensis e camundongos foram infectados com cercárias da cepa LE de Belo Horizonte, usando-se — segundo a necessidade — as vias subcutânea, intraperitoneal e transcutânea. Os roedores foram infectados com número variável de cercárias (mínimo de 30, máximo de 500), de acordo com o objetivo de cada experimento.

A recuperação de esquistossômulos da cavidade peritoneal dos animais foi feita pela técnica descrita por PEREIRA & col.¹⁰ e a recuperação de vermes imaturos e maduros pela técnica de perfusão descrita por PELLEGRINO & SIQUEIRA⁹ para cobaias, com modificações introduzidas por PELLEGRINO para perfusão de camundongos e ratos (dados não publicados).

O exame de fezes dos roedores foi feito pelo método de Kato e para o isolamento de granulomas do fígado procedeu-se de acordo com a técnica descrita por PELLEGRINO & BRENER⁸. Para a contagem de ovos no intestino delgado, este foi dividido em três porções, tendo o estômago glandular como referência: proximal, mediana e distal. De cada uma dessas porções foram retirados três fragmentos de cerca de um centímetro, os quais foram esmagados entre lâmina de vidro e lamínula de plástico e depois examinados em microscópio "Visopan".

Nos experimentos que requerem seus usos, foram empregadas a Oxamniquine, largamente usada na quimioterapia e quimioprofilaxia da esquistossomose e o Inosiplex, uma droga de ação imunomoduladora. Os efeitos da infecção sobre a resposta celular nos animais infectados com o *S. mansoni* foram observados pelo teste de inchação da pata, segundo a técnica de MILLER & col.⁴.

Para verificação da significância entre os valores obtidos nos diferentes experimentos, foi aplicado o teste *t* de Student, como reco-

mendado por SNEDECOR & COCHRAN¹⁶, com os testes realizados ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS

A) Aspectos da Infecção Experimental

Foram feitas perfusões nos animais infectados com cerca de 70 cercárias, da quarta até a 15.^a semana, para avaliação dos diversos parâmetros da infecção experimental. A porcentagem de recuperação de esquistossomos mostrou-se bastante homogênea em cada um dos animais e nos dois grupos (*Mastomys* e camundongos), com cargas parasitárias bem semelhantes (Tabelas I e II). Os vermes recuperados dos animais dos grupos experimental e controle mostraram acentuado assincronismo no amadurecimento. Machos com massas testiculares já desenvolvidas passaram a ser encontrados após o 35.^o dia, mesmo período em que as fêmeas começaram a apresentar ovos no útero.

TABELA I

Recuperação de esquistossomos do sistema porta de *M. natalensis*, com infecção variando entre quatro a 15 semanas e inoculados com cerca de 70 cercárias

Semanas após infecção	Número de animais	Total de vermes recuperados	Média	(%)
04	08	184	23,0	33,0
06	10	254	25,4	36,3
08	10	264	26,4	37,7
10	10	266	26,6	38,0
15	10	254	25,4	36,3
Total	48	1.222	25,4	36,2

TABELA II

Recuperação de esquistossomos do sistema porta de camundongos albinos, com infecção variando entre quatro a 15 semanas e inoculados com cerca de 70 cercárias

Semanas após infecção	Número de animais	Total de vermes recuperados	Média	(%)
04	10	162	16,2	23,1
06	10	266	26,6	38,0
08	10	256	25,6	36,0
10	10	250	25,0	35,7
15	10	252	25,2	36,9
Total	50	1.186	23,7	33,8

A distribuição de vermes adultos no sistema porta do *M. natalensis* é semelhante a observada em camundongos, com os esquistossomos distribuindo-se pelas veias intra-hepáticas, veia porta e veias mesentéricas.

No oograma feito no intestino delgado do *M. natalensis*, observou-se maior concentração de ovos na porção proximal, tanto na oitava quanto na 15.^a semana, enquanto nos camundongos detectou-se um pouco mais de ovos na

porção mediana (Fig. 1). Granulomas no fígado do *M. natalensis* só foram observados a partir do 40.^o dia de infecção, se apresentando menores e em menor número quando comparados aos de camundongos albinos.

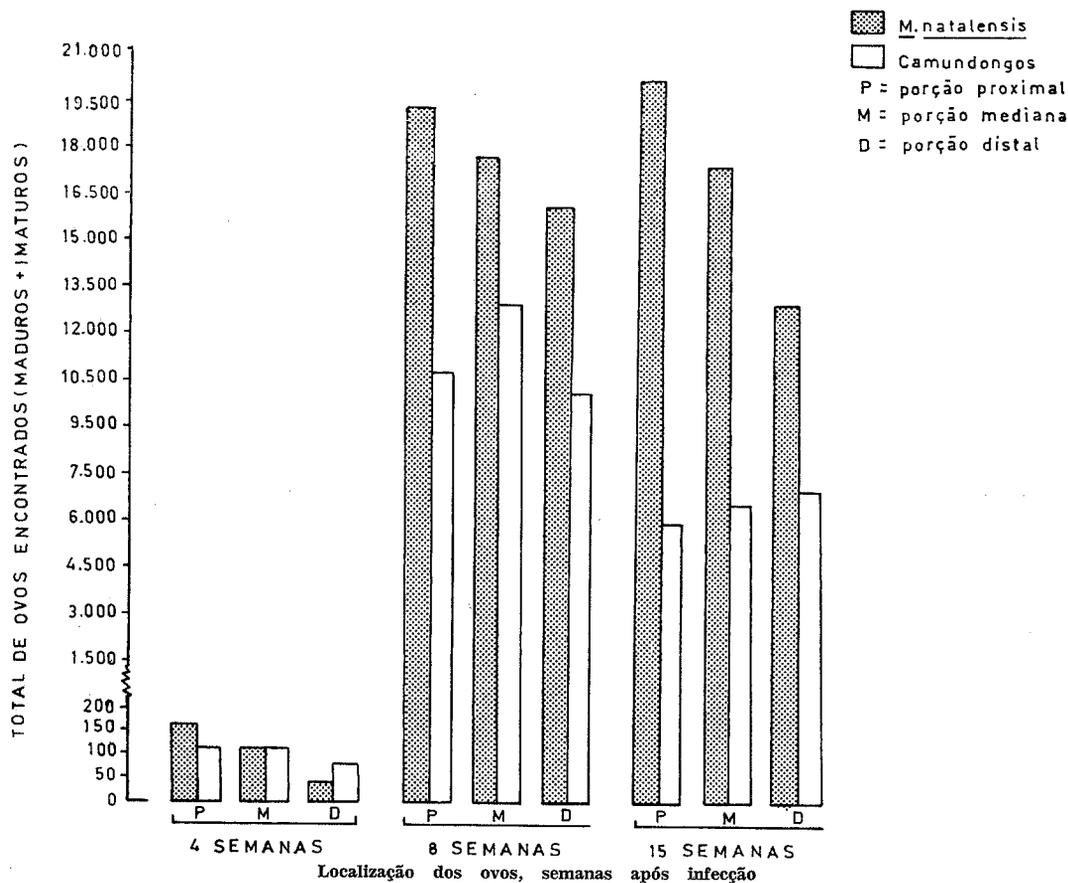


Fig. 1 — Número de ovos de *S. mansoni* encontrados nas diferentes porções do intestino delgado de *M. natalensis* e de camundongos albinos

B) Aspectos da Imunidade Experimental

A sensibilidade do *S. mansoni* à Oxamniquine, no esquema adotado (400 mg/kg de peso, dose única, intramuscular, não diferiu em *M. natalensis* ou nos animais controles. Uma pequena carga parasitária residual foi encontrada tanto no camundongo quanto no *M. natalensis* (3,2% e 3,9% respectivamente). O desenvolvimento da resistência à reinfeção com o *S. mansoni* foi observada no *M. natalensis* e camundongos após a infecção inicial com cerca de 30 cercárias. Os animais foram reinfectados com aproximadamente 150 cercárias aos 30, 60

e 90 dias após a primeira infecção. O grupo controle formado por *M. natalensis* e camundongos receberam apenas as cercárias da reinfeção. Após 15 dias da reinfeção, os animais dos grupos experimental e controle foram perfundidos para coleta de vermes imaturos. Observou-se que a recuperação de vermes imaturos nos animais aos 30 dias não difere da do grupo controle respectivo. Em contrapartida, houve significantes diferenças nas recuperações feitas aos 60 e 90 dias, com a redução da carga parasitária de 67,1% e 74,0% para o *M. natalensis* e 39,5% e 51,4% para camundongos (Fig. 2).

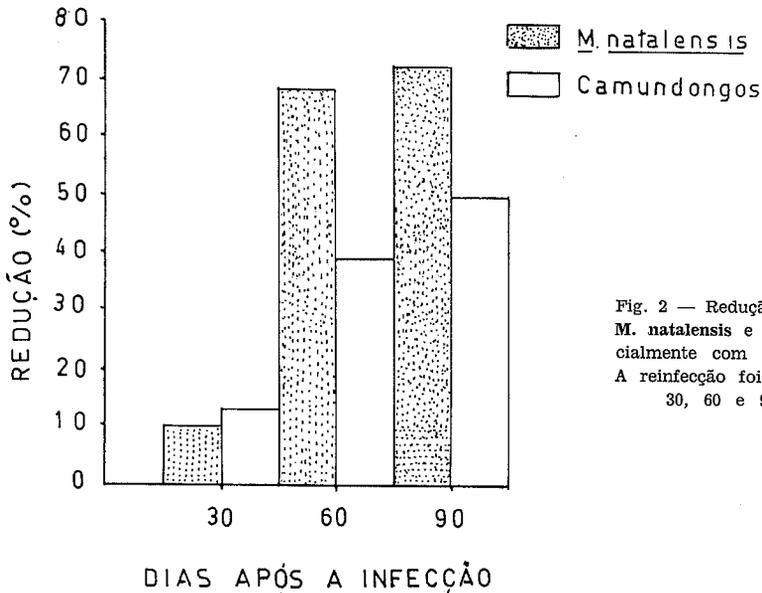


Fig. 2 — Redução da carga parasitária da reinfeção de *M. natalensis* e de camundongos albinos infectados inicialmente com cerca de 30 cercárias do *S. mansoni*. A reinfeção foi feita com cerca de 150 cercárias nos 30, 60 e 90 dias depois da primoinfecção.

Em cercárias e esquistossômulos recuperados da cavidade peritoneal de *M. natalensis* e camundongos, após 30 a 180 minutos — com inoculação de cerca de 500 cercárias — observou-se uma adesão celular que, até os 60 minutos, mostrou-se em porcentagem semelhante para ambos os grupos de animais. Aos 90 minutos os *M. natalensis* já apresentavam uma redução no número de elementos com células aderidas, enquanto nos camundongos tal fato só foi observado aos 120 minutos. Contudo, ao se administrar um imunostimulante — o Inosiplex — na dose diária de 50 mg por animal, via oral, observou-se que as células permaneciam aderidas, em ambos os grupos de animais, por até 72 horas.

Tanto no *M. natalensis* quanto no camundongo observou-se uma inibição da resposta celular provocada pela infecção.

DISCUSSÃO

As presentes observações realizadas no *M. natalensis* comprovam a utilidade desse animal para as experiências de laboratório em relação ao *S. mansoni*. A recuperação de vermes adultos foi de cerca de 36% das cercárias aplicadas, com o animal mostrando-se bastante sensível, à semelhança do que ocorre com o camundongo. O assincronismo no amadurecimento dos esquistossomos coletados, tanto no *M. natalensis* quanto nos animais do grupo

controle, parece ser um fenômeno mais afeito à biologia do verme do que as condições do hospedeiro. A distribuição de vermes adultos no sistema porta do *M. natalensis* é semelhante a observada em camundongos, com os esquistossomos distribuindo-se pelas veias intra-hepáticas, veia porta e veias mesentéricas, contribuindo, assim, para o êxito da infecção.

Embora o exame do intestino delgado não tenha sido feito em toda a sua extensão, observou-se maior concentração de ovos na porção proximal do intestino do *M. natalensis*, sugerindo que seja esse o local “preferencial” de postura do *S. mansoni* nesse hospedeiro. Contudo, não foi detectada nenhuma particularidade anatômica ou biológica responsável pelo grande número de ovos nessa porção, parecendo que tal fato é devido — possivelmente — à retenção deles na camada muscular do intestino, sugerindo-se ainda uma maior ovoposição pelas fêmeas do parasito no *M. natalensis*.

O aparecimento dos primeiros granulomas no fígado de *M. natalensis* foi em torno dos 40 dias após a infecção inicial, fato esse que está de acordo com as observações de BRENER¹ sobre o camundongo.

De maneira semelhante a observada por SILVA & col.¹⁵ em pacientes humanos, a carga parasitária residual que ficou após o tratamento com a oxamniquine não conferiu imunidade, uma vez que esses vermes remanescentes

eram inférteis e, como assinalam LONG & col.³, a imunidade à reinfeção depende da maturação sexual dos vermes da primeira infecção, envolvendo a necessidade de postura de ovos. Os testes de imunidade concomitante realizados em *M. natalensis* e camundongos, mostram que a carga parasitária correspondente ao segundo inóculo era mais baixa em ambos os grupos de animais, com o do *M. natalensis* apresentando maiores diferenças percentuais na redução da carga, sugerindo que esses animais desenvolvam uma imunidade concomitante bem mais efetiva. A imunidade mediada por células mostrou-se alterada nos *M. natalensis* infectados, assim como nos camundongos que serviram de controle. É interessante o fato de que o fenômeno tenha sido detectado aos 45 dias, com os animais albergando cerca de 50 vermes, uma vez que OCAMPO⁶, trabalhando com "hamsters", só observou tal evento aos 90 dias.

A adesão celular, presenciada tanto em *M. natalensis* quanto em camundongos, ocorreu igualmente nesses animais, com os camundongos apresentando maior número de cercárias e/ou esquistossômulos recuperados. A aderência observada é interessante, pois ocorreu em animais normais e naqueles com infecção prévia. Contudo, é bem possível que seja uma adesão inespecífica, visto que ela decresce mais rapidamente que em camundongos. Todavia, quando usou-se o Inosplex na tentativa de modular a resposta imune, observou-se uma adesão que permaneceu por 72 horas, tanto em *M. natalensis* quanto em camundongos.

CONCLUSÕES

Os resultados apresentados no presente trabalho mostram a utilidade do *M. natalensis* para experiências laboratoriais da esquistossomose. Nas observações feitas sobre a infecção experimental, esse hospedeiro mostrou desenvolver a doença em tudo semelhante a apresentada pelo camundongo albino nas mesmas condições.

A sensibilidade à oxamniquina apresentada pelos esquistossomos recuperados no *M. natalensis*, no esquema de 400 mg/kg de peso em dose única, via intramuscular, não diferiu em relação a outros animais sensíveis. A imunidade concomitante foi observada em *M. natalensis* e camundongos, sendo que a redução da carga parasitária da reinfeção foi acentuada-

mente maior no *M. natalensis*, sugerindo resistência mais efetiva. *M. natalensis* e camundongos albinos também mostraram uma inibição da resposta celular provocada pelo *S. mansoni*, observada pelo teste de inchaço da pata. As cercárias e/ou esquistossômulos recuperados da cavidade peritoneal de *M. natalensis* apresentaram células aderidas em sua superfície, de maneira semelhante a observada nos recuperados em camundongos, por menos tempo, contudo. Por outro lado, quando usou-se o Inosplex, um imunestimulador, as células permaneceram aderida em ambos os grupos de animais por cerca de 72 horas.

Por sua grande reprodutividade em cativeiro, criação fácil, manejo e manutenção simples em laboratório e por ser bastante sensível à infecção pelo *S. mansoni*, mostrando ser útil para estudos da biologia e/ou observações da imunologia advinda da infecção, sugere-se que seja o *M. natalensis* usado como modelo alternativo nos diversos estudos experimentais da esquistossomose.

SUMMARY

Mastomys natalensis as alternative model in studies on experimental schistosomiasis mansoni

It was studied aspects of experimental infection and immunity in a rodent — *Mastomys natalensis* — infected by the LE strain of *Schistosoma mansoni*. The results were compared with those from albino mouse, that is an excellent animal for experimental schistosomiasis. The studied parameters showed similar results to those found in the mouse. *M. natalensis* is highly susceptible to *S. mansoni* infection, being very useful for biological studies and/or immunity observations about this kind of infection. In addition, the high reproduction rate in captivity, easy handling and unexpensive maintenance in laboratory, suggest that *M. natalensis* could be used as an alternative experimental model in schistosomiasis mansoni studies.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRENER, Z. — Observações sobre a infecção do camundongo pelo *Schistosoma mansoni*. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 8: 565-575, 1956.
2. KUNTZ, R. E. & MALAKATIS, G. M. — Susceptibility studies in schistosomiasis. II — Susceptibility of wild mammals to infection by *Schistosoma man-*

- soni in Egypt, with emphasis on rodents. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 4: 75-89, 1955.
3. LONG, E.; DOENHOFF, M. & BAIN, J. — Factors affecting the acquisition of resistance against *Schistosoma mansoni* in mouse. II — The time at which resistance to reinfection develops. *J. Helminth.* 52: 187-191, 1978.
 4. MILLER, T. E.; MACKANESS, G. B. & LAGRANGE, P. H. — Immunopotential with BCG. Modulation of response to sheep red blood cell. *J. Natl. Cancer Inst.* 51: 1669-1676, 1973.
 5. NELSON, G. S.; TEESDALE, C. & HIGHTON, R. B. — The role of animals as reservoirs of bilharziasis in Africa. In: *Bilharziasis. Ciba Foundation Symposium* (London, Ed. G.E.W. Waltenholme & O'Connar), 1962, p. 127-149.
 6. OCAMPO, E. M. — O hamster (*Cricetus auratus*) como modelo experimental para estudos imunológicos na esquistossomose mansoni. [Tese de Mestrado]. Belo Horizonte, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 1980, 104 pp.
 7. OLIFF, W. D. — The mortality, fecundity and intrinsic rate of natural increase of the multimammate mouse, *Rattus (Mastomys) natalensis* (SMITH, 1834) in the laboratory. *J. Animal Ecol.* 22: 217-226, 1953.
 8. PELLEGRINO, J. & BRENER, Z. — Method for isolating schistosomes granulomas for mouse liver. *J. Parasit.* 42: 564, 1956.
 9. PELLEGRINO, J. & SIQUEIRA, A. F. — Técnica de perfusão para colheita do *Schistosoma mansoni* em cobaias. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 8: 589-597, 1956.
 10. PEREIRA, L. H.; PELLEGRINO, J.; VALADARES, T. E.; MELO, R. T. & COELHO, P. M. Z. — A new approach for screening prophylactic agents in schistosomiasis. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 16: 123-126, 1974.
 11. PHILLIPS, S. M.; REID, W. A.; BRUCE, J. I.; HEDHRUD, K.; COLVIN, R. D.; CAMPBELL, R.; DIGGS, C. L. & SADUN, E. H. — The cellular and humoral immune response to *Schistosoma mansoni* infection in inbred rats. I — Mechanisms during initial exposure. *Cell. Immunol.* 19: 99-116, 1975.
 12. PITCHFORD, R. J. — Natural schistosome infection in South African rodents. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 53: 212, 1959.
 13. PITCHFORD, R. J. & VISSER, P. S. — Some observations on *Schistosoma mansoni* in rodents in the Transvaal. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 54: 247-249, 1960.
 14. RITCHIE, L. S.; GARSON, S. & KNIGHT, W. B. — The biology of *Schistosoma mansoni* in laboratory rats. *J. Parasit.* 49: 571-577, 1963.
 15. SILVA, L. C. — Anticorpos e eosinófilos circulantes na esquistossomose mansônica. Contribuição ao estudo de efeitos da quimioterapia. [Tese de Docência-Livre]. São Paulo, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1974, 194 pp.
 16. SMITHERS, S. R. & TERRY, R. J. — Acquired resistance to experimental infection of *Schistosoma mansoni* in the albino rat. *Parasitology* 55: 711-717, 1965.
 17. SNEDECOR, G. W. & COCHRAN, W. G. — *Statistical Methods*. (6 ed.). Ames, The Iowa State University Press, 1971.
 18. STIREWALT, M. A.; KUNTZ, R. E. & EVANS, A. S. — The relative susceptibilities of the commonly used laboratory mammals to infection by *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 31: 57-82, 1951.

Recebido para publicação em 8/11/1982.