

HOLOCHILUS BRASILIENSIS NANUS THOMAS, 1897. SUGESTÃO DE MODELO EXPERIMENTAL PARA FILARIOSE, LEISHMANIOSE E ESQUISTOSSOMOSE (*)

Othon de Carvalho BASTOS (1), Moysés SADIGURSKY (2), Maria do Desterro Soares Brandão do NASCIMENTO (1), Reginaldo Peçanha BRAZIL (1) e João Carvalho de HOLANDA (3)

RESUMO

Roedores silvestres, classificados como *Holochilus brasiliensis nanus* Thomas, 1897, foram capturados na cidade de São Bento, pertencente à Região da Baixada, do Estado do Maranhão, Brasil, naturalmente infectados com formas adultas de filária, na cavidade peritoneal, e microfilárias sanguíneas, assim como, com esquistossoma mansonii (vermes adultos e granulomas peri-ovulares hepáticos; intestinais; pulmonares; esplênicos e pancreáticos). Animais nascidos em Biotério, descendentes de *Holochilus* da Região da Baixada, foram infectados experimentalmente com *Leishmania m. amazonensis* e *Schistosoma mansoni*. Em observações semanais, foram encontradas lesões teciduais, semelhantes às que se desenvolvem em hamsters infectados com *Leishmania*, e hipergamaglobulinemia. Nos esquistossomóticos, foram constatadas hipergamaglobulinemia e reações granulomatosas similares às encontradas nos animais infectados naturalmente. Foram observadas, também, lesões hepática graves, semelhantes às encontradas na esquistossomose humana. Estes achados sugerem a utilização do *Holochilus b. nanus* como modelo experimental destas três doenças tropicais.

INTRODUÇÃO

O modelo experimental ideal para a imunologia da esquistossomose seria aquele que permitisse desenvolver a forma descompensada (Hepatoesplênica) da parasitose; que permitisse elucidar os fatores parasitológicos responsáveis pela doença; que condicionasse o estabelecimento do papel principal da resposta imune do hospedeiro ao parasita, na patogênese da infecção e que levasse a determinar a etiologia imunológica da reação do hospedeiro. Seria preferível que no modelo experimental fosse possível isolar e caracterizar as substâncias especificamente eliminadas pelo parasita, as quais iniciam a cadeia de eventos relacionados a hepatoesplénomegalia; hipertensão portal; varizes esofageanas, hematêmese e morte¹⁹.

Entretanto, até a presente data, não foi possível encontrá-lo. Os animais que vêm sendo comumente utilizados em laboratório são excelentes modelos para o entendimento de alguns aspectos da relação parasita-hospedeiro; mas, não de todos.

Estudos realizados sobre a epidemiologia da esquistossomose evidenciaram a existência de hospedeiros definitivos não humanos do *Schistosoma mansoni* participando da cadeia disseminadora da parasitose. São citados macacos (*Cercopithecus sabeus*; *Papio anubis*)^{10,14}, roedores silvestres de hábitos semi-aquáticos (*Holochilus* e *Nectomys*, principalmente no Brasil)^{1,11,12,15,16} e marsupiais (*Didelphis*)⁶. Destes animais, apenas macacos (*Macaca mu-*

(*) Financiado pelo CNPq (Proc. 403815/82)

(1) Programa de Imunologia — UFMA

(2) Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz — UFBA

(3) Dept.º de Parasitologia — UFRJ

latta)¹⁸ são utilizados como modelo experimental; mesmo sendo de difícil obtenção e dispendiosa manutenção.

A utilização de hospedeiros definitivos no estudo das parasitoses nos parece mais lógico do que estudá-las em animais que não participam do ciclo biológico do verme; mesmo que, para isto, torne-se necessária a obtenção de colônias selecionadas geneticamente em Biotério.

As espécies *Holochilus brasiliensis nanus* e *Nectomys squamipes amazonicus* pertencem à fauna de roedores silvestres encontrada na Pré-amazônia e são hospedeiros definitivos do trematodeo, nesta Região. O sucesso na reprodução de *Holochilus*, no Biotério da Universidade Federal do Maranhão, tem permitido que se estude a esquistossomose neste roedor, além de outras infecções tropicais.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Estudo da esquistossomose

1.1. Procedência dos roedores silvestres; distribuição em grupos de trabalho e taxionomia

Os roedores silvestres foram capturados com tarrafas (malha feita com fio de algodão, utilizada na prática da pescaria), às margens do grande lago natural da cidade de São Bento, tomada como representativa da Região da Baixada Maranhense, localizada ao Noroeste do Estado do Maranhão. Em seguida, foram transportados para o laboratório, onde tiveram suas fezes examinadas por microscopia, em pesquisa de ovos de *S. mansoni*. A ovohelmin-toscopia foi realizada diariamente, durante 30 dias. Os que se apresentaram infectados, em número de 12, passaram a constituir o Grupo de Animais Naturalmente Infectados (NI). Aqueles que não eliminaram ovos pelas fezes, em número de 5, foram agrupados a 7 outros nascidos em Biotério, descendentes dos animais capturados no campo, com 30 dias de vida, e cada qual infectado com 150 cercárias do parasita. As larvas procederam de *Biomphalaria glabrata* infectada experimentalmente com *S. mansoni* da Baixada. O método de infecção constituiu na imersão parcial dos pequenos mamíferos na suspensão cercariana, em condições

preconizadas por BRENER⁹. Este grupo de animais foi denominado de Experimentalmente Infectados (EI).

A taxionomia destes mamíferos foi feita pelo Dr. Fernando de ÁVILA PIRES, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e o Prof. Francis PETTER, do Museu Nacional de História Natural, de Paris, sendo constatado tratar-se de *Holochilus brasiliensis nanus* Thomas, 1897.

1.2. Obtenção de soros

Os soros dos animais naturalmente infectados (NI) foram obtidos logo após constatação de suas positivities para *S. mansoni*, por incisão cirúrgica do plexo venoso braquial. Cinco dos roedores pertencentes ao grupo de animais experimentalmente infectados, que nasceram em Biotério, foram sangrados aos 60 dias de infecção e seus soros foram misturados para a constituição da amostra relativa aos soros de animais infectados (SI). Os soros SI foram comparados imunologicamente com os soros de animais controle (SN), obtidos de animais não infectados, cuja procedência e idade eram as mesmas dos que foram tomados para a infecção experimental.

1.3. Análise dos soros por imunodifusão

As alíquotas de soros de animais controle (SN) e de animais esquistossomóticos (SI) foram analisadas por imunoeletroforese bidimensional de LAURELL, de acordo com a orientação de WEEKE, descritas em AXELSEN & col.² A eletroforese no primeiro sentido foi realizada com 6V/cm; por 1,20 h. Na segunda dimensão, 1,5V/cm, durante 15 horas. A alíquota aplicada foi de 5 µl e o anti-soro foi obtido em coelho imunizado com uma mistura de soro normal de roedores e adjuvante completo de Freund, obedecendo o esquema de BASTOS⁷. O suporte foi agarose a 1% em solução tampão Veronal — HCl (0,05 M; pH=8.6).

1.4. Processamento técnico para os estudos anátomo-patológicos

Nesta etapa, participaram animais pertencentes aos grupos NI e EI. Os do grupo NI foram anestesiados (éter) e necropsiados após constatação de suas positivities para o ver-

me; enquanto que, os do grupo EI, foram necropsiados com 40, 60, 80 e 120 dias após a data da infecção. O processo técnico iniciou com a abertura da cavidade abdominal dos roedores, por uma incisão longitudinal feita na linha mediana da região, prolongando-se até o tórax. Em seqüência, foram retirados vermes contidos no fígado e mesentério, pela técnica da perfusão. Os órgãos torácicos e abdominais foram retirados em monoblocos, para a macroscopia, sendo posteriormente dissecados, separadamente, conservando-se os aspectos anatómicos dos mesmos para fixação em formalina a 10% e coloração com Hematoxilina-Eosina. Os cortes histopatológicos dos órgãos comprometidos foram estudados por microscopia óptica, após processamento técnico de rotina laboratorial. As secções tinham 5 μ m de espessura.

2. Estudo da leishmaniose

2.1. Infecção experimental

Foi constituído um grupo de 4 *Holochilus* (2 machos e 2 fêmeas) para a infecção experimental com suspensão de formas amastigotas (10^6) de *Leishmania mexicana amazonensis* LV 78, por via subcutânea, nas patas trazeiras. Os animais foram mantidos em laboratório para observações semanais das lesões, as quais foram classificadas quanto ao espessamento da pele, no local da inoculação.

2.2. Imunodifusão de soros

Os roedores leishmanióticos foram sangrados semanalmente, durante 8 semanas, pelo plexo venoso oftálmico. Os soros obtidos foram analisados por imunoelektroforese tipo Rocket, descrita por WEEKE, frente ao soro de coelho anti-roedor, obtido conforme o item 1.3. Soros de animais normais de Biotério, da mesma procedência e idade dos animais infectados, foram tomados como controle da experiência.

3. Observações de infecções naturais

Os roedores oriundos do campo foram pesquisados quanto a existência de infecções naturais da região. Para isto, foram colhidas amostras sanguíneas e examinadas microscopi-

camente, quer a fresco, quer coradas pelo Giemsa. Após as necrópsias, a cavidade peritoneal e intestino eram examinados atentamente, em busca de parasitas. As fezes, também, foram examinadas para identificação de ovos de helmintos, por ovohelminoscopia, a fresco e corada com lugol.

RESULTADOS

1. Infecção esquistossomótica

1.1. Sorologia

A análise dos soros oriundos de roedores infectados com *S. mansoni*, quando comparados com os normais, revelou maior concentração proteica na faixa que vai da região das α -globulinas até as das γ -globulinas, determinada pelas áreas de reação e número de bandas reatoras, indicando a ocorrência de hipergamaglobulinemia nos animais esquistossomóticos. Foi observado, também, redução no nível sérico da albumina destes animais (Fig. 1).

1.2. Estudos anátomo-patológicos

a) Grupo de animais naturalmente infectados (NI)

O exame macroscópico revelou que sete destes animais apresentaram-se com fígado aumentado de volume, enegrecido, sendo que, em 4 deles, havia difuso pontilhado esbranquiçado. Os intestinos continham pequenos nódulos com 0,5 a 1,0mm de diâmetro, difusamente dispostos na superfície serosa. Os baços mostravam apenas alguns pontos esbranquiçados na superfície. Os outros órgãos tinham aspecto normal. Dois outros roedores continham raros pontos esbranquiçados no fígado e nódulos difusos na serosa dos intestinos. Os três restantes não apresentaram alterações dignas de nota.

A luz da microscopia, constatou-se graus variados de carga parasitária, determinados pelo número de granulomas e ovos encontrados em fígado e intestino. Esta carga parasitária variou desde o grau muito leve, representado pelo encontro de 2 a 5 granulomas ou ovos por secção, até o grau intenso, evidenciado pelo encontro de numerosos ovos, observando-se, por vezes, mais de 5 em um único espaço porta.

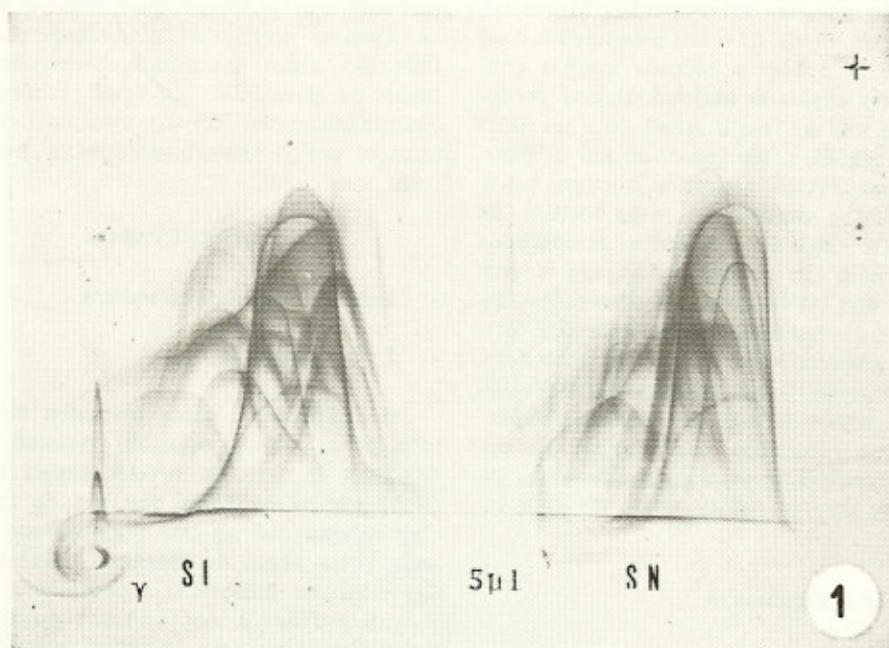


Fig. 1 — Imunoeletroforese bidimensional realizada com os soros de roedores normais (SN) e infectados (SI) com *S. mansoni*, frente ao anti-soro diluído a 1/20. O suporte utilizado foi agarose a 1% em Solução tampão Veronal (0,05M; pH = 8.6)

Dos 12 animais examinados, 5 apresentaram infecção caracterizada como intensa, 4 como moderada, 2 como leve e 1 apresentou infecção de grau muito leve. Dos 5 animais que tinham carga parasitária classificada como intensa, 3 apresentaram espaços porta bastante ampliados com densa fibrose e redução de lume das veias porta, semelhando o aspecto característico da fibrose portal hepática (Fibrose de Symmers) que se observa na esquistossomose humana. Os granulomas centrados por ovos de *S. mansoni* eram circundados periodicamente por macrófagos, fibroblastos e, em menor quantidade, por linfócitos (Fig. 2). Os intestinos apresentaram grande número de granulomas confluentes, com densa reação fibrosa, formando nódulos que se dispunham predominantemente na serosa (Fig. 3), mas ocorriam também em camada muscular e na submucosa. Esses 3 animais apresentavam, também, ovos em baço e pâncreas, com discreta reação periovular e múltiplos granulomas em pulmões, representados por ovos circundados de macrófagos e linfócitos. Em um dos animais foi possível detectar ovos ao nível de miocárdio. Os outros 2 roedores continham lesões em figa-

do, representadas por granulomas constituídos de uma mistura de macrófagos, eosinófilos e fibroblastos, em menor proporção. Ao nível dos intestinos a reação periovular era discreta ou mesmo ausente. Nesses animais não foi visto envolvimento de outros órgãos, exceto a ocorrência de um único granuloma em um dos pulmões.

Dos 4 animais com infecção moderada, dois apresentaram lesões localizadas apenas em fígado e intestino. Os granulomas no fígado eram grandes e constituídos quase que exclusivamente por macrófagos e eosinófilos (Fig. 4). Áreas de necrose foram frequentemente observadas. Ao nível dos intestinos, a reação periovular era discreta ou mesmo ausente. Lesões semelhantes foram observadas nos animais com infecção leve e muito leve. Os dois outros, apresentaram lesões hepáticas formadas por granulomas pequenos e constituídos, predominantemente, por linfócitos e fibroblastos, em menor número (Fig. 5). Ao nível dos intestinos, entretanto, as lesões peri-ovulares eram constituídas por densa reação fibrosa com formação de nódulos. Nesses animais também fo-



Fig. 2 — Espaço porta com densa reação fibrosa, redução do lume da veia porta e com granulomas centrados por ovos de *S. mansoni* (H.E., 122 X)

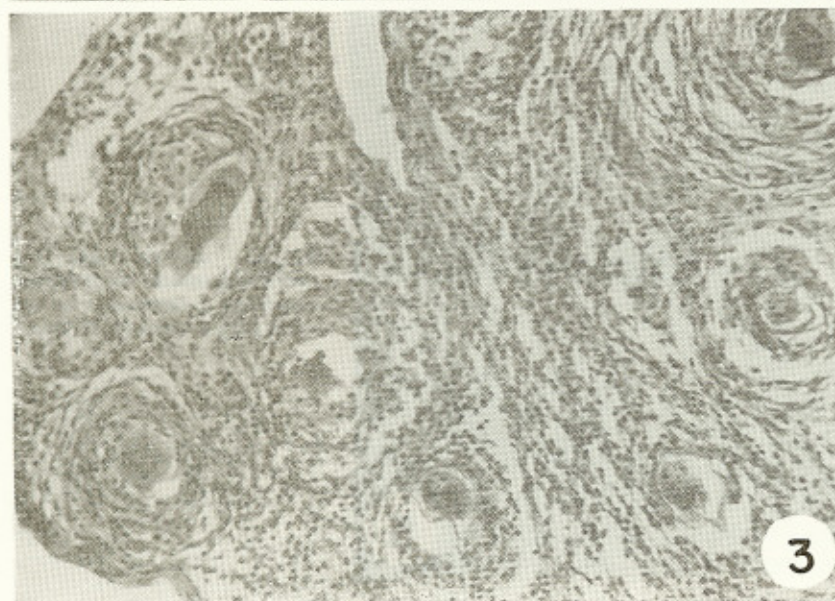


Fig. 3 — Granulomas com densas reações fibrosas frente aos ovos de *S. mansoni*, na camada serosa do intestino delgado (H.E., 100 X)

ram encontrados ovos e granulomas em baço, pâncreas e pulmões.

Em 10 dos animais do Grupo NI, foram encontrados vermes ao nível do fígado, porém, sem nenhuma reação inflamatória em torno dos mesmos. Em 5 deles, foram vistos, também, raros vermes nos pulmões sem reação em torno.

Pigmento hemático foi um encontro frequente nos animais com grande carga parasitária.

b) Animais Infectados em Laboratório

Todos os animais infectados experimentalmente com cercárias de *S. mansoni*, sejam os nascidos em biotério ou os capturados sem

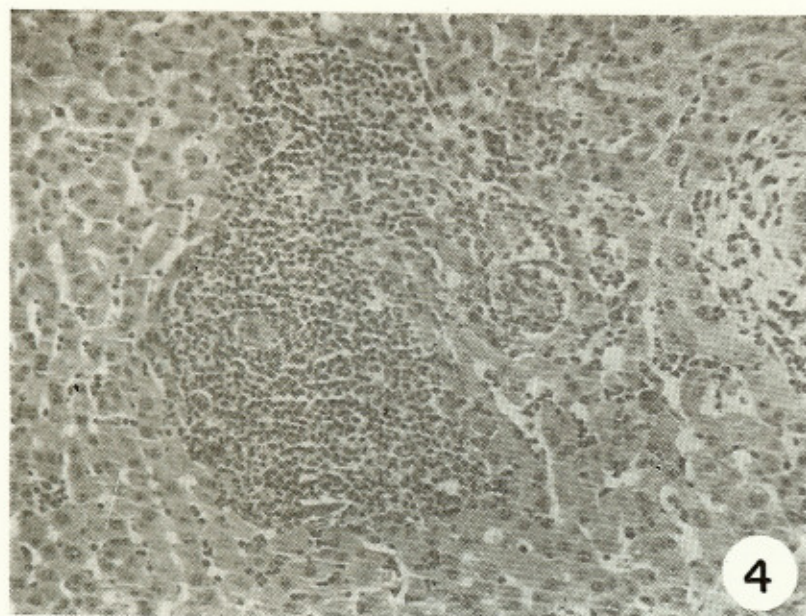


Fig. 4 — Granuloma peri-ovular, no fígado, com componente exudativo representado principalmente por eosinófilos (H.E., 100 ×)

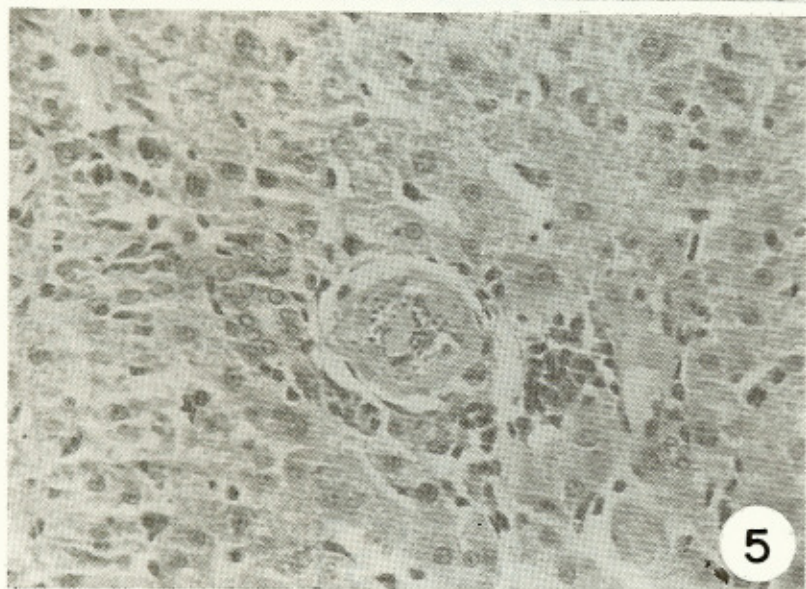


Fig. 5 — Discreta reação peri-ovular constituída de linfócitos, macrófagos e fibroblastos em um espaço porta pequeno (H.E., 200 ×)

infecção, apresentaram número moderado de ovos nos tecidos.

Os animais sacrificados com 40 dias apresentaram lesões que eram limitadas ao intestino e ao fígado. As lesões hepáticas estavam representadas por granulomas grandes, com áreas de necrose e constituídos predominantemente por macrófagos e eosinófilos.

Os animais sacrificados com 60, 80 e 120 dias, mostraram lesões envolvendo não só fi-

gado e intestino, mas também pâncreas, baço e pulmões.

As lesões ao nível do fígado eram representados por granulomas pequenos, com predominância de células linfocitárias, ou granulomas mistos com eosinófilos, macrófagos e fibroblastos. Ao nível de intestino, entretanto, os granulomas mostravam-se com densa reação fibrosa em torno, por vezes confluentes, formando nódulos. Estas lesões foram vistas en-

volvendo a submucosa e a muscular, porém, eram mais volumosas ao nível da serosa.

As lesões à nível de pulmões, baço e pâncreas eram semelhantes às vistas no fígado.

2. Infecção leishmaniótica

Ocorreu espessamento da região de inoculação parasitária, nos 4 animais inoculados, a partir da 1.ª semana de observação. Na 3.ª semana, os animais apresentaram nódulos parasitários que se mantiveram constantes até a 8.ª semana, época em que os animais foram sacrificados. O estudo anátomo-patológico das lesões revelou freqüente hiperplasia pseudoepi-

teliomatosa da epiderme, com histiócitos ricos em formas parasitárias na região da derme.

O estudo dos soros dos roedores esquistossomóticos, por imunodifusão, está demonstrado na Fig. 6, onde se pode observar que ocorreu aumento das concentrações proteicas nos níveis das globulinas, tanto nos soros dos animais infectados, como no dos controles, durante o desenvolvimento da infecção. Entretanto, a hipergamaglobulinemia tornou-se mais evidente nos soros dos animais infectados, a partir da 3.ª semana de estudo, alcançando quase o dobro do normal, na 8.ª semana de infecção. Notificamos, ainda, a presença de seis sistemas precipitantes bem visíveis, com destaque para a fração mais anódica, porque foi a que mais cresceu durante o processo infeccioso.

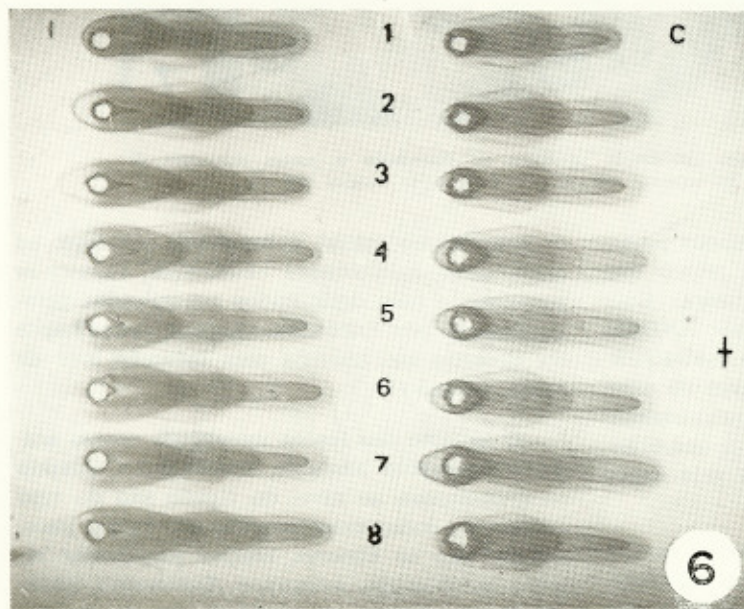


Fig. 6 — Imunoeletróforese "Rocket" dos soros de *Holochilus* normais (C) e infectados com *L.m.amazonensis*, coletados durante 8 semanas de observação (de 1 a 8), frente ao soro de carneiro anti-roedor diluído a 1/20 em solução tampão veronal-HCl (0,05M; pH = 8,6)

3. Infecções naturais

Foram encontrados cestódeos, da família *Hymenolepididae*, e nematódeos, que requerem classificação posterior.

Outra infecção natural observada, foi a filariose. Foram encontradas formas adultas de filária, na cavidade peritoneal dos roedores, assim como, microfilaria em amostras sanguíneas (Fig. 7).

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O perfil sorológico encontrado nos roedores com infecções experimentais, expresso por hipoalbuminemia e hipergamaglobulinemia, é clássico em parasitoses⁸.

O estudo anátomo-patológico em roedores infectados naturalmente, mostra aspectos interessantes referentes a patogênese das lesões hepáticas, indicando a necessidade de uma embolização inicial maciça de ovos para que ocor-

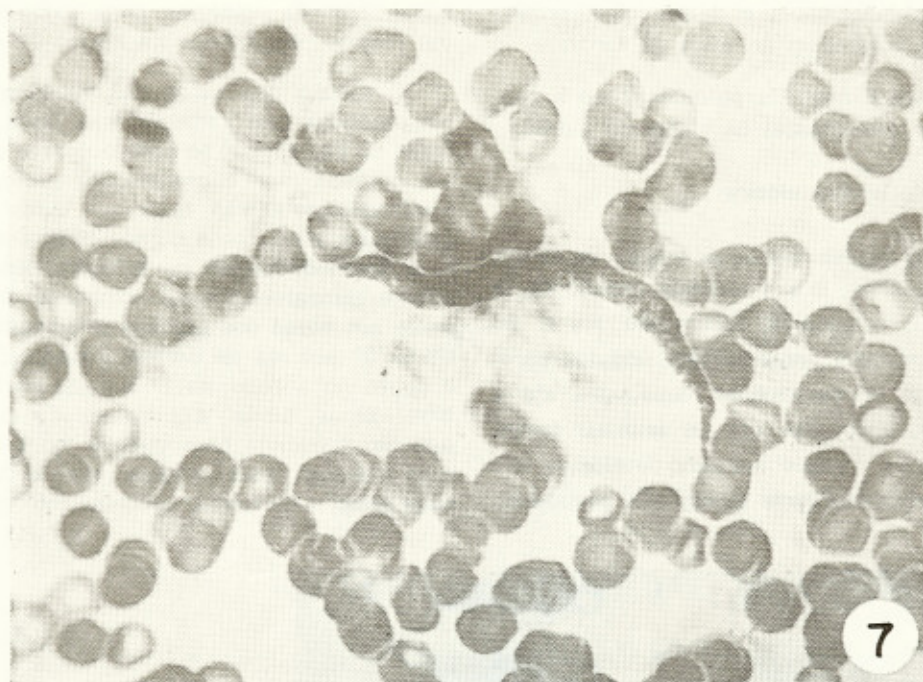


Fig. 7 — Microfilaria encontrada no sangue periférico de *Holochilus b. nanus* originário da Região da Baixada Maranhense, corado pelo método de Giemsa (200 X)

ra lesões fibrosantes graves nos espaços porta. Em 3 animais, foram observadas lesões que permitem uma conclusão desta natureza. Conclusões semelhantes foram feitas por ANDRADE & ANDRADE⁴ e, também por SADIGURSKY¹⁷, de referência às lesões graves de arterite pulmonar que ocorrem na esquistossomose humana. Tudo leva a crer que a embolização menos intensa ou gradual não seja capaz de determinar lesões graves.

As lesões hepáticas iniciais, como as observadas nos animais infectados em laboratório e sacrificados com 40 dias e, também, em 4 dos animais infectados naturalmente, são representadas por granulomas grandes constituídos por elevado número de macrófagos e eosinófilos, tendo por vezes áreas de necrose. Aspecto semelhante foi descrito por ANDRADE & WARREN⁸ e DOMINGO & WARREN¹³. Estas lesões parecem evoluir diferentemente a depender do número de ovos embolizados, de vez numa fase inicial da infecção. Quando a embolização hepática inicial é maciça, as lesões evoluem para fibrose portal grave com redução de lumes de veias porta. Porém, quando

a embolização inicial é moderada ou leve, os granulomas inicialmente exudativos, tornam-se pequenos e bem delimitados constituídos principalmente por linfócitos. Aspecto semelhante foi descrito em animais com infecção leve de longa duração³.

O aspecto das lesões intestinais nesses animais é também bastante interessante. Quando os granulomas ao nível do fígado são do tipo exudativo, independentemente da carga parasitária, não se observa reação peri-ovular intensa ao nível dos intestinos. Entretanto, quando os granulomas ao nível do fígado corresponde a uma evolução mais adiantada, as lesões peri-ovulares ao nível de intestinos apresentam densa reação fibrosa com formação de pequenos nódulos. Neste último caso parece haver desenvolvimento de circulação colateral ou desvio de fluxo normal com embolização de ovos para outros órgãos tais como pâncreas, baço, pulmões e até mesmo o coração.

Os aspectos histopatológicos encontrados nos roedores infectados, tanto com *S. mansoni* como com *L. m. amazonensis*, assim como, o achado destes animais naturalmente infecta-

dos com formas adultas e sanguíneas de filaria, sugerem a utilização do *Holochilus brasiliensis nanus* como modelo experimental destas três doenças tropicais.

SUMMARY

Holochilus brasiliensis nanus THOMAS, 1897. As an experimental model for filariasis, leishmaniasis and schistosomiasis

Wild rodents classified as *Holochilus brasiliensis nanus* THOMAS, 1897, were captured in Lowland Region of State of Maranhão-Brazil. Natural infection by schistosome and filaria was detected in the most of these animals. Rodents born in the Animal House of the University of Maranhão were experimentally infected with *Leishmania mexicana amazonensis* or *Schistosoma mansoni*. Pathological aspects of leishmaniasis in these animals were found similar to that found in hamsters infected with *Leishmania*. Severe hepatic lesions were found in the animals infected with schistosome similar to that seen in human infection. These findings suggest the utilization of this animal as an experimental model of filariasis, leishmaniasis and schistosomiasis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMORIM, J. P. — Infestação experimental e natural de murídeos pelo *Schistosoma mansoni*. (Nota prévia). *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 5: 219-222, 1953.
2. AXELSEN, N. H.; KROL, J. & WEEKE, B. — A manual of quantitative immunoelectrophoresis. Methods and applications. Universitetsforlaget-Oslo, 1973.
3. ANDRADE, Z. A. & WARREN, K. S. — Mild prolonged Schistosomiasis in mice: alterations in host response with time and the development of portal fibrosis. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* 58: 53-57, 1964.
4. ANDRADE, Z. A. & ANDRADE, S. G. — Pathogenesis of schistosomal pulmonary arteritis. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.* 19: 305-310, 1970.
5. ANTUNES, C. M. F.; ANDRADE, R. M. de; KATZ, N. & COELHO, P. M. Z. — Contribuição para o conhecimento do papel do "rato lava-pés": *Nectomys squamipes squamipes*, na epidemiologia da esquistossomose mansoni (Rodentia, Cricetidae). *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 23: 203-204, 1971.
6. BARBOSA, F. S. & COELHO, M. V. — Alguns aspectos epidemiológicos relacionados com a transmissão da esquistossomose em Pernambuco, Brasil. *Publicações Avulsas Inst. Aggeu Magalhães* 5: 31-47, 1956.
7. BASTOS, O. de C. — Estudo do comportamento parasitológico e imunológico das linhagens humana e silvestre de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. [Tese de Mestrado]. Universidade Estadual de Campinas-SP, 1975.
8. BASTOS, O. de C. — Utilização de soros pluri-específicos no estudo da evolução das imunoglobulinas envolvidas na resposta imune ao *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. [Tese de Doutorado]. Universidade Estadual de Campinas-SP, 1979.
9. BRENER, Z. — Esquistossomose experimental. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 11: 473-506, 1959.
10. CAMERON, T. W. M. — A new definitive host for *Schistosoma mansoni*. *J. Helminth.* 6: 219-222, 1928.
11. DIAS, L. C. de S. — Aspectos parasitológicos e ecológicos da esquistossomose mansônica no Vale do Rio Paraíba do Sul e na Represa de Americana, Estado de São Paulo, Brasil. [Tese]. Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, "off-set", 1976.
12. DIAS, L. C. de S.; ÁVILA-PIRES, F. S. & PINTO, A. C. M. — Parasitological and ecological aspects of schistosomiasis mansoni in the Valley of Paraíba do Sul River (São Paulo State, Brasil). I — Natural infection of small mammals with *Schistosoma mansoni*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* 72: 496-500, 1978.
13. DOMINGO, E. O. & WARREN, K. S. — Endogenous desensitization: Channing host granulomatous response to schistosome eggs at different stages of infection with *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Path.* 52: 369-377, 1968.
14. FENWICK, A. — Baboons as reservoirs host of *Schistosoma mansoni*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* 63: 557-567, 1969.
15. KAWAZOE, U. & PIZA, J. T. — Roedores silvestres e marsupiais como possíveis reservatórios do *Schistosoma mansoni* na Represa Americana, São Paulo. In: *Programa científico e social* — Resumo dos temas livres. 12.º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical e 1.º Congresso da Soc. Brasileira de Parasitologia. Belém-Pa, 1976. Resumo n.º 108.
16. KAWAZOE, U. & PINTO, A. C. M. — Importância epidemiológica de alguns animais silvestres na esquistossomose mansônica. *Rev. Saúde Públ. São Paulo* 17: 345-366, 1983.
17. SADIGURSKY, M. — A Patologia da Arterite Pulmonar Esquistossomótica. [Tese]. Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia, 1975.
18. SMITHERS, S. R. & TERRY, R. J. — The immunology of Schistosomiasis. *Adv. Parasit.* 7: 41-93, 1969.
19. WARREN, K. S. — The immunopathogenesis of Schistosomiasis: A multidisciplinary approach. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* 66: 417-431, 1972.