

HISTOPATOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM FÍGADO DE *MUS MUSCULUS* INFECTADO POR AMOSTRAS HUMANAS DE FASE AGUDA E CRÔNICA DA PERIFERIA DE BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS

Amélia Dulce Vilela de Carvalho,¹ Roberto Junqueira de Alvarenga² e Alan Lane de Melo³

Exemplares de Biomphalaria glabrata foram infectados com miracídios obtidos de ovos de Schistosoma mansoni, encontrados em fezes de indivíduos de 7 a 18 anos, da região de Lagoa da Pampulha, Belo Horizonte, MG. Os pacientes de fase aguda se infectaram em uma primeira visita ao foco. Os da fase crônica eram moradores próximos aos focos. Para cada caso clínico, isolou-se a respectiva amostra do parasita. Foram infectados pela cauda 55 camundongos fêmeas com 70 ± 10 cercárias. Cortes histológicos de fígados, corados por HE, tricrômico de Gomori, impregnação metálica pela prata, e PAS foram observados à microscopia óptica. Não houve diferenças estatísticas em relação às médias das mensurações dos diâmetros dos granulomas referentes às amostras e datas de sacrifícios. Os granulomas apresentaram fase exsudativa do tipo IIa (reação de inflamação mista) e IIIa (granuloma com células epitelióides). Com amostras de pacientes em fase aguda o padrão predominante foi a IIa na 7ª semana. Na 10ª semana predominaram granulomas do tipo IIIa. Nas amostras de pacientes em fase crônica, verificou-se uma mescla de granulomas do tipo IIa e IIIa na 7ª semana. Na 10ª semana predominou o tipo IIIa. Alguns aspectos histopatológicos de fígados foram descritos e comparados com aqueles existentes na literatura.

Palavras chaves: *Schistosoma mansoni*. Histopatologia. Granuloma.

Inúmeros são os trabalhos descritos na literatura sobre a fase aguda e crônica da esquistossomose mansoni.^{3 4 5 7 8 9 10 12 14 16 19 20 22} Assim, diferenças fisiológicas, morfológicas e biológicas entre várias amostras de *Schistosoma mansoni* foram relatadas por Saoud.¹⁸ Trabalhos experimentais com quatro amostras de *S. mansoni* em camundongos mostraram ser o fígado o principal órgão afetado.²¹ As lesões hepáticas incluem esteatose e necrose hepatocelular,² granuloma e fibrose.¹⁵ Infecções experimentais de *Schistosoma japonicum* em camundongos revelaram que o grau de doença hepatoesplênica não estava simplesmente relacionado só ao número de ovos no fígado, mas que havia diferenças na resposta do

hospedeiro frente às diferentes amostras.²² Evidências indicaram que a espécie ou amostras de *Schistosoma* são da maior significância e que o número de ovos presentes não governa, por si só, a gravidade da doença produzida. Desde 1958, Hsu & Li Hsu,¹¹ mostraram diferenças entre as amostras e sua virulência ao camundongo. As dimensões de granulomas causados por ovos de *S. mansoni* no fígado humano em fase aguda da doença mostraram que há na estrutura dos granulomas esquistossomóticos pelo menos dois fatores: tempo ou período de sua evolução e o estado de reatividade do organismo, que interferem na sua constituição.¹⁷ A amostra de *Schistosoma* aliada a outros fatores, como características dos moluscos transmissores, raças, estado nutricional dos hospedeiros, entre outros, concorrem para agravar esta doença endêmica.¹ A importância dos fatores mencionados e a grande extensão da endemia no país motivaram-nos ao estudo comparativo de algumas alterações histopatológicas de fígados de camundongos albinos, experimentalmente infectados com amostra de pacientes nas fases aguda e crônica da doença, provenientes de foco endêmico da cidade de Belo Horizonte. As diferenças histopatológicas foram confrontadas nas várias amostras de *S. mansoni* e outras já descritas na literatura, enfatizando as alterações hepáticas encontradas e os aspectos dos granulomas.

1. Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil

2. Departamento de Patologia Geral, ICB/UFMG

3. Departamento de Parasitologia, ICB/UFMG
Trabalho realizado com o auxílio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

Endereço para Correspondência: Dra. Amélia Dulce Vilela de Carvalho, Rua Santiago 118, ap. 302 - Sion - 30310 Belo Horizonte, MG, Brasil.

Recebido para publicação em 18/10/84.

MATERIAL E MÉTODOS

Exemplares adultos de *Biomphalaria glabrata* foram infectados com miracídios obtidos a partir de ovos de *S. mansoni*, encontrados em fezes de indivíduos de 7 a 18 anos de idade. Pacientes de uma mesma família com 10, 12 e 18 anos foram selecionados na fase aguda (7 semanas - Hospital Carlos Chagas, da UFMG), infectados numa primeira visita ao foco. Os de fase crônica (10 semanas, com idade de 7, 8 e 16 anos, de outra família) são moradores próximos do foco. Os pacientes se infectaram na região da bacia da lagoa da Pampulha, em Belo Horizonte, Minas Gerais.

Para cada caso clínico, isolou-se a respectiva amostra do parasito (3 casos agudos) forma toxêmica e 3 casos crônicos (forma intestinal). Dos casos agudos, foram infectados 25 camundongos e, dos casos crônicos, 30 animais.

Camundongos albinos, fêmeas, foram infectados mediante a imersão da cauda em recipientes contendo 70 ± 10 cercárias. Os animais foram sacrificados na 7ª e 10ª semanas após infecção, por estiramento cervical. Fragmentos de fígado dos 55 camundongos foram retirados e fixados em líquido de Bouin, por 24 horas. Cortes em séries de todos os lobos hepáticos dos animais, em torno de 6 micrômetros, foram submetidos às técnicas histológicas de HE, tricrômico de Gomori, impregnação metálica pela prata (Gordon e Sweet) e PAS.

Mensurações dos granulomas foram realizadas com uma ocular milimetrada Winpple-Hausser, adaptadas à ocular 8 X e objetiva 10 X, acertada por

um micrômetro Zeiss-2 micra, em microscópio Zeiss. Foram medidos 400 granulomas provenientes de amostra de fase aguda ou crônica nos fígados de camundongos sacrificados com 7 e 10 semanas, 200 para cada grupo respectivamente. Para cada granuloma foi tirada a média de dois diâmetros e, em seguida, foram comparados os diâmetros dos granulomas. Foi utilizada a classificação de von Lichtenberg e cols.,¹⁹ inicialmente sugerida para hamster e que se adapta à descrição do granuloma do camundongo. Assim, os granulomas que apresentaram em sua porção central ovos ou remanescentes foram analisados segundo os seguintes parâmetros:

I - Reação mínima; IIa - Reação inflamatória mista; IIb - Pseudo-abscesso; IIIa - Granuloma com células epitelióides; IIIb - Granuloma histiogrulocítico; IIIc - Granuloma necrótico; IVa - Granuloma em involução e IVb - Granuloma cicatrizado.

Para análise estatística foi utilizado o teste t de Student.

RESULTADOS

Na Tabela 1 expomos os resultados obtidos para pesos dos animais e dos fígados estudados.

Não houve diferença estatística entre os grupos de animais utilizados a nível de 5% de significância ($t = 0,47$ e $0,10$ para peso dos animais e $0,51$ e $0,12$ para o peso do fígado dos mesmos, respectivamente com 7 e 10 semanas de infecção experimental).

Em todos os lobos hepáticos foram observados granulomas, a olho nu. À microscopia óptica observaram-se as seguintes lesões patológicas no estroma e

Tabela 1 - Peso dos animais e dos fígados, expresso em gramas, examinados na fase aguda da esquistossomose mansoni experimental

Amostras do parasito: A - isoladas de casos humanos de fase aguda
B - isoladas de casos humanos de fase crônica

Amostras Schistosoma	Nº de animais	Semanas de infecção	Peso dos camundongos			Peso dos fígados		
			Mínimo	Máximo	Média e erro padrão	Mínimo	Máximo	Média e erro padrão
A - Isoladas de pacientes na fase aguda da doença	15	7	11	25	$18,6 \pm 3,7$	1,0	1,6	$1,2 \pm 0,5$
	10	10	14	29	$20,2 \pm 1,1$	1,2	2,3	$1,7 \pm 0,3$
B - Isoladas de pacientes na fase crônica da doença	15	7	18	28	$23,8 \pm 7,2$	0,9	1,8	$1,4 \pm 0,3$
	13*	10	25	33	$27,5 \pm 5,1$	1,2	2,8	$1,7 \pm 0,4$

* 3 camundongos não se infectaram.

parênquima hepático: fibras reticulares mais numerosas e condensadas nos locais das reações granulomatosas; presença de infiltrado inflamatório linfo-histiocitário com alguns neutrófilos, nos espaços porta, perivascular (ramificações portais) e na intimidade dos lóbulos. Nos hepatócitos evidenciaram-se vacúolos regulares, sugerindo degeneração hidrópica e discreta esteatose. Pelo método de PAS foi observada diminuição de grânulos de glicogênio. Os capilares sinusóides apresentavam-se, às vezes, dilatados, com células de Kúpffer hiperplásicas contendo escasso pigmento esquistossomótico. As veias centro-lobulares estavam normais. Ovos dos parasitos foram verificados na luz de ramos da veia porta e nas diversas ramificações, por vezes, sem ocasionar reações inflamatórias nas mesmas. Foi freqüente o encontro de endoflebite produtiva em relação a granulomas perivascular, em diversos estádios de evolução.

Os granulomas apresentaram ovos ou restos de ovos e infiltrado inflamatório linfo-histiocitário, predominando a fase necrótico exudativa (Figura 1).

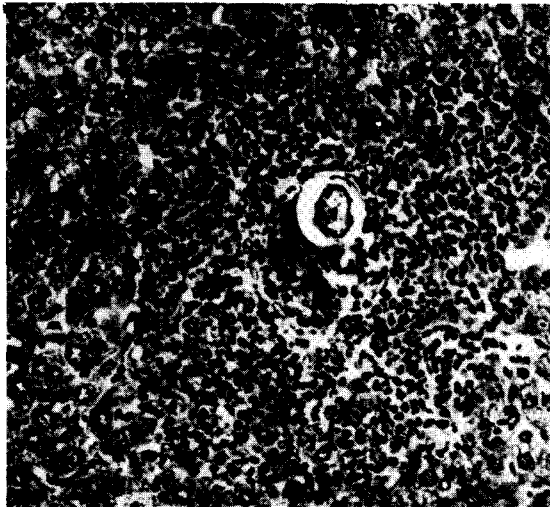


Fig. 1 - Vista panorâmica de granuloma hepático - HE - 25 X

Com sete semanas (amostra de pacientes em fase aguda), os granulomas apresentaram-se constituídos predominantemente por reação leucocitária (linfócitos e neutrófilos) periovular, sendo pouco freqüentes as células epitelióides. Observaram-se ainda alguns granulomas com necrose central. O padrão predominante foi o do tipo IIa - tipo reação inflamatória mista (Figura 2).

Na décima semana, a maioria dos granulomas apresentava ovos em sua porção central, circundados por reações histiocitárias com infiltrados neutrofilicos e linfocíticos. Um menor número de granulomas apresentava fibrose incipiente, sendo ocasionais os

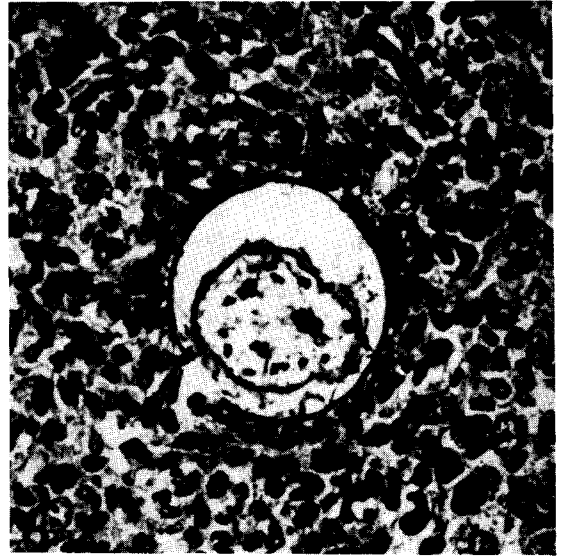


Fig. 2 - Granuloma tipo IIa - HE - 400 X

granulomas com necrose central. Preponderaram os granulomas com células epitelióides (tipo IIIa).

Com sete semanas (amostra de pacientes em fase crônica), verificou-se uma mescla de granulomas do tipo IIa e IIIa, sendo as lesões parenquimatosas similares as já descritas para as amostras de fase aguda (Figura 3).

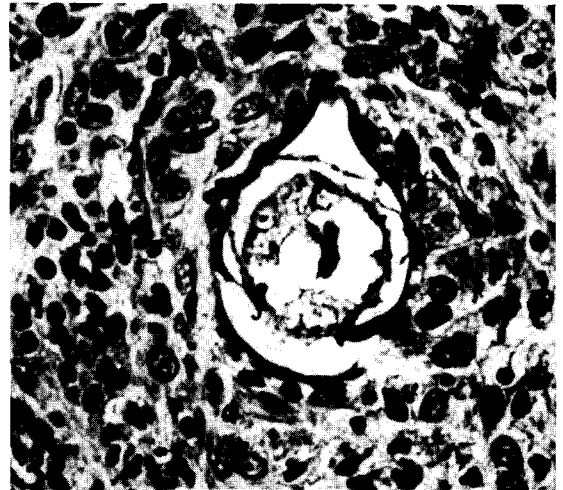


Fig. 3 - Granuloma tipo IIIa - HE - 400 X

Com 10 semanas também predominavam granulomas do tipo IIIa, com fibrose incipiente. A fibrose na maioria dos granulomas era centralizada. Foram raras as reações gigante-celulares (Figura 4). Nossos dados quanto ao fenômeno de Høepli são inconclusivos.

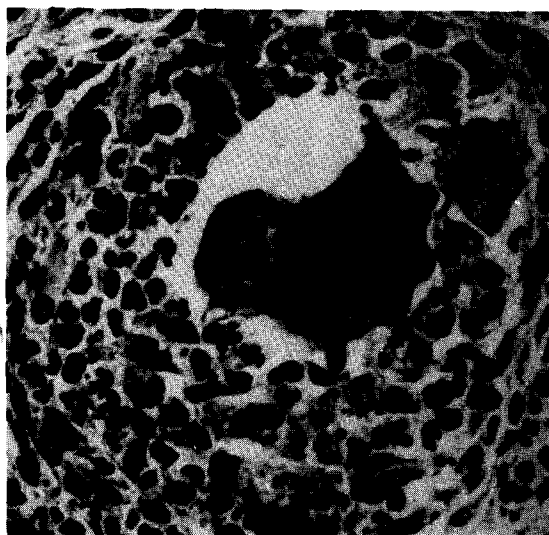


Fig. 4 – Granuloma com reação gigante celular – HE – 400 X

Na Tabela 2 são apresentados os resultados do diâmetro médio dos granulomas. Não houve diferença estatística ao nível de 5% quando se compararam as médias entre as fases aguda e crônica na 7ª e 10ª semanas, respectivamente ($t = 0,95$ e $1,02$). Igualmente verificou-se que não houve diferenças estatisticamente significativas, ao nível de 5% em relação às médias dos diâmetros dos granulomas, referentes às amostras e datas de sacrifício entre os camundongos infectados por cercárias provenientes de pacientes em fase aguda e crônica.

DISCUSSÃO

É sabidamente notória a diferença entre o diâmetro médio de granulomas das formas aguda e crônica da doença. Nas formas crônicas, de mais longa duração, como na hepatoesplênica, o número de

granulomas é sensivelmente inferior ao encontrado em fase aguda.¹⁷

Os resultados descritos por Hsu e cols.¹² mostraram um diâmetro médio de 311 micrômetros em camundongo, 273 micrômetros em hamster, 190 micrômetros em cobaia e 130 micrômetros em ratos albinos. Assim, o diâmetro do granuloma por ovos de *Schistosoma* em espécies hospedeiras susceptíveis (camundongo e hamster) é maior do que nas espécies pouco susceptíveis à infecção (cobaia e rato). Comparando o diâmetro dos granulomas entre linhagens de Porto Rico, Egito, Tanzânia e Brasil, Warren²¹ encontrou no camundongo infectado por *Schistosoma mansonii*, após 10 semanas, um diâmetro médio de $377 \text{ micrômetros} \pm 15$.

Nossos resultados quanto ao diâmetro médio dos granulomas da fase aguda, para 7 semanas, foi de $302,7 \pm 74,7$ micrômetros e $313,0 \pm 82,6$ micrômetros para 10 semanas, sem diferença estatisticamente significativa. Os diâmetros dos granulomas, encontrados em camundongos, provenientes de pacientes em fase crônica foram $359,8 \pm 89,9$ micrômetros e $348,9 \pm 82,8$ micrômetros para 7 e 10 semanas, respectivamente. Não houve diferença estatisticamente significativa entre estas médias. O diâmetro médio dos granulomas não foi estatisticamente significativo quando comparamos as fases agudas e crônicas nos intervalos de 7 e 10 semanas (Tabela 2).

Aspectos histopatológicos de diferentes granulomas esquistossomóticos produzidos por *S. mansonii*, *S. japonicum* e *S. haematobium* em hamster foram descritos por von Lichtenberg e cols.¹⁹ Granulomas em estádios alternados de desenvolvimento ocorrem simultaneamente dentro do mesmo órgão, apresentando-se necróticos ou com cicatriz fibrosa em algumas lesões, mas não em todas. Os autores citados correlacionaram a patologia do fígado com a gravidade da infecção das várias linhagens. Para o *S. mansonii*, descreveram no fígado de hamster granulomas IIIa, classificados em granulomas com células

Tabela 2 – Diâmetro médio dos granulomas em fígado de camundongos na 7ª e 10ª semanas de infecção, em micrômetros

Amostras de <i>Schistosoma</i> isoladas de pacientes na	Nº de granulomas examinados	Semanas de infecção experimental	Médias e desvios padrões (em micrômetros)
A – Fase aguda	100	7	$302,7 \pm 74,7$
	100	10	$313,0 \pm 82,6$
B – Fase crônica	100	7	$359,8 \pm 89,9$
	100	10	$348,0 \pm 82,8$
Total = 400 granulomas examinados			

epitelióides, com ovos maduros e degenerados; IIa granuloma do tipo reação inflamatória mista. Nestes, a presença de neutrófilos era rara ou menor do que nas outras espécies, com necrose central pequena, sem fenômeno de Höeppli, rara hemorragia periférica e edema. Nos últimos estádios observaram pseudo tubérculos cicatrizados, sem trombos causados por vermes mortos, com pontes fibrosas portais e amiloidose. Intermediariamente, descreveram endoflebite focal, sem endoflebite centrolobular com infiltrado plasmocitário, com necrose zonal de hepatócitos e corpos de Councilman. A típica lesão do ovo em estádios tardios era um grande e clássico granuloma ou "pseudo-tubérculo", com um ovo central e proeminente paliçada de células epitelióides, vacuolizadas, fortemente demarcada pelo halo linfocitário ou por fibroblastos concêntricos. As lesões iniciais apresentaram focos inflamatórios mistos com mais eosinófilos do que neutrófilos. Infiltrados linfocitários eram difusos e se localizavam na vascularização portal e as necroses de hepatócitos foram usualmente moderadas, mas tornaram significantes em níveis maiores de infecção.

Nossos resultados, na 7ª semana, com amostra de pacientes em fase aguda, demonstraram que o padrão predominante foi o do tipo IIa. Na 10ª semana predominaram os do tipo IIIa. Em amostra de pacientes da fase crônica, na sétima semana, houve uma mescla de granulomas do tipo IIa e IIIa. Na 10ª semana predominavam granulomas IIIa.

Magzoub e Adam,¹³ empregando métodos histológicos e histoquímicos no estudo de alterações hepáticas em camundongos, observaram que os animais com 7 semanas após a infecção com 100 cercárias de *S. mansoni*, amostra de Sudão, apresentaram perda de basofilia do citoplasma dos hepatócitos e vacuolação de algumas células parenquimatosas, nas partes mais externas dos lóbulos. Numerosos e discretos focos de necrose hepatocelular estavam presentes, mas sem nenhuma distribuição definida nos lobulos. Nas áreas necróticas o citoplasma das células hepáticas era uniformemente acidófilo e os núcleos picnóticos. O glicogênio hepático estava diminuído nos focos necróticos e nos hepatócitos vacuolados. Já nos camundongos sacrificados com 8 semanas, após a infecção, as lesões hepáticas eram bem mais marcantes devido a presença de vermes e oviposição em vasos portais, sempre com uma extensa infiltração celular e a formação de granuloma. A infiltração celular consistia em células mononucleares e eosinófilos. Em alguns locais, algumas células gigantes estavam circundadas por fibroblastos. Os ramos portais apresentavam-se aumentados, mas os vasos portais apareciam estreitados pela pressão das células infiltrativas. Células de Küpffer na zona periportal eram proeminentes e

continham pequena quantidade de pigmentos esquistossomóticos. A vacuolação dos hepatócitos e necrose parenquimatosa focal estavam também presentes, envolvendo vários lóbulos.

Segundo os mesmos autores,¹³ camundongos sacrificados com 10 semanas apresentavam microscopicamente muitos ramos portais, com faixas de tecido conjuntivo frouxo dando início ao granuloma fibrocelular. A deposição do tecido fibroso foi principalmente devido a um aumento de fibras reticulares. A proliferação focal ductal estava presente na periferia de alguns lobulos. Em adição, um número de células de Küpffer mostrou quantidades variáveis de inclusões granulares. Estes depósitos foram considerados ferro negativo e com lipofuscinas. Necrose de células parenquimatosas e diminuição de glicogênio foram persistentes.

Nossos resultados histopatológicos são similares aos já descritos^{13,19} sem, contudo, observarmos pseudotubérculos cicatrizados, hemorragia, corpúsculos de Councilman e amiloidose, uma vez que trabalhamos com animais até 10 semanas e de linhagem e amostras diferentes. Por outro lado, a hiperplasia de alguns hepatócitos, necroses focais com perda de basofilia de hepatócitos, distribuição difusa de granulomas, mais frequentes nos espaços porta, hiperplasia de células de Küpffer com escassos pigmentos esquistossomóticos, sem proliferação ductal e granuloma fibrocelular são também similares aos descritos por Magzoub e Adam.¹³ As fibras reticulares também se condensavam em torno de granuloma e verificou-se diminuição de glicogênio em relação ao animal não infectado.

As lesões hepáticas e granulomatosas observadas neste trabalho foram similares às de outras espécies, variando, entretanto, as dimensões dos diâmetros dos granulomas, provavelmente devido a reação imunológica da espécie hospedeira, métodos diferentes de mensurações dos granulomas e datas diversas de sacrifício.

SUMMARY

Specimens of Biomphalaria glabrata were infected with miracidia obtained from eggs of Schistosoma mansoni found in the feces of patients aged 7 to 18 years old, from Lagoa da Pampulha area, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. The patients in the acute phase were infected on their first visit to the focus. The patients with chronic phase disease were living around the focus. Egg samples were isolate from each clinical case. Fifty five female mice were infected by their tails with 70 ± 10 cercariae. Sections of liver were stained by HE, Gomori trichrome, silver impregnation, and PAS, and examined by optical microscopy. No statistical

difference was observed between the average diameter of the granulomas and the sample and date of sacrifice of the mice (7th and 10th weeks). The granulomas were in the exudative phase; type IIa (mixed inflammatory reactions) and type IIIa (granulomas with epithelioid cells). At the 7th week samples of the patients in acute phase showed granulomas type IIa. Type IIIa were predominant at the 10th week. At the 7th week, in samples from chronic phase patients, a mixture of type IIa and IIIa granulomas was observed.

Some histopathologic aspects of the liver are described and compared with those already found in the literature.

Key words: *Schistosoma mansoni*. *Histopathology*. *Granuloma*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andrade ZA. Patologia geral da esquistossomose. In: de Paola D. (ed.). Mecanismo Básico de Doença. Livraria Atheneu. Rio de Janeiro, p. 134-137, 1977.
2. Bhattacharyya KK. Low protein diet as a factor in the production of experimental schistosomiasis hepatic fibrosis. *Journal of Pathology and Bacteriology* 89: 13-21, 1965.
3. Cheever AW. A comparative study of schistosomiasis mansoni in mice, gerbils, multimammate rats and hamsters. I. The relation of portal hypertension to size of hepatic granulomas. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 14:211-226, 1965.
4. Cheever AW, De Witt WB, Warren KS. Repeated infection and treatment of mice with *Schistosoma mansoni*: functional, anatomic and immunological observations. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 14:239-253, 1965.
5. Colley DG, Savage AM, Lewis FA. Host responses induced and elicited by cercariae, schistosomula and cercarial antigenic preparations. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 26:88-95, 1977.
6. de Paola D. Mecanismo Básico de Doença. Livraria Atheneu. Rio de Janeiro, 134-137, 1977.
7. Dias RP, Alvarenga RJ. Indução experimental da fibrose de Symmers em camundongo. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 15: 60-65, 1973.
8. Domingos EO, Warren KS. Endogenous desensitization changing host granulomatous response to different stages of infection with *S. mansoni*. *American Journal of Pathology* 52: 369-377, 1968.
9. Erickson DG, Jones CE, Tang DB. Schistosomiasis mansoni, haematobia and japonica in hamster: liver granuloma measurements. *Experimental Parasitology* 35: 425-433, 1974.
10. Grove DI, Warren KS. Relation of intensity of infection to disease in hamsters with acute Schistosomiasis mansoni. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 25: 608-612, 1976.
11. Hsu H, Li Hsu, 1958 in Warren KS. A comparison of Puerto Rican, Brazilian, Egyptian, and Tanzanian strains of *Schistosoma mansoni* in mice: penetration of cercariae, maturation of schistosomes and production of liver disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 61: 795-801, 1967.
12. Hsu Li, Hsu FS, Lust GL, Davis Jr, Cleveland LK. Comparative studies on the lesions caused by eggs of *Schistosoma japonicum* and *mansoni* in the liver of hamster, guinea pig and albino rats. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 67: 349-356, 1973.
13. Magzoub M, Adam SEI. Experimental infection and hepatic changes in mice infected with *Schistosoma mansoni* (Sudan strain). *Journal of Pathology* 113: 47-52, 1974.
14. Motta JC. II Simpósio sobre Esquistossomose. In Prata A, e Calbin e (Ed.) Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia, Brasil, 1970.
15. Mousa AH, El Garem A, El Raziki EH, El Abdel-Latif A, Selim A, Wassef SA, Habib A, Shenawy A. Preliminary studies on prophylaxis, drug resistance and synergism in experimental schistosomiasis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 160: 461-485, 1969.
16. Prata A, Aboim E. 2º Simpósio sobre Esquistossomose, Salvador, Bahia. Ed. Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia, Brasil, 1970.
17. Raso P, Bernardes RC, Tafuri WL, Bogliolo L, Neves J. As dimensões do granuloma causado pelos ovos de *Schistosoma mansoni* no fígado humano. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 12: 45-49, 1978.
18. Saoud MFA. Comparative study on the characteristics of some geographical strains of *Schistosoma mansoni* in mice and hamster. *Journal of Helminthology* 39: 111-112, 1965.
19. von Lichtenberg F, Erickson DG, Sadun EH. Comparative histopathology of schistosome granulomas in the hamster. *American Journal of Pathology* 72: 140-178, 1973.
20. Warren KS. The pathogenesis of "clay-pipe stem cirrhosis" in mice with chronic schistosomiasis mansoni with a note on the longevity of the schistosomes. *American Journal of Pathology* 49:477-485, 1966.
21. Warren KS. A comparison of Puerto Rican, Brazilian, Egyptian, and Tanzanian strains of *Schistosoma mansoni* in mice: penetration of cercariae, maturation of schistosomes and production of liver disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 61: 795-801, 1967.
22. Warren KS, Berry EG. Induction of hepatosplenic disease by single pairs of the Philippine, Formosan, Japanese, and Chinese strains of *Schistosoma japonicum*. *Journal of Infectious Diseases* 126: 482-491, 1972.