

ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA EM CAMUNDONGOS EXPERIMENTALMENTE SUBNUTRIDOS*

Luiz Augusto Magalhães**
Ana Maria A. Guaraldo**
Eliana M. Zanotti-Magalhães**
José F. de Carvalho***
Valdomiro C. Sgarbieri****
Francisco G. de Alcântara*****

MAGALHÃES, L.A. et al. Esquistossomose mansônica em camundongos experimentalmente subnutridos. Rev. Saúde públ., S. Paulo, 20: 362-8, 1986.

RESUMO: Realizou-se estudo sobre o desenvolvimento da esquistossomose mansônica em camundongos submetidos à dieta hipoprotéica. Foram constituídos 4 grupos de *Mus musculus* "Swiss" da seguinte forma: 1) não infectados, normoprotéicos; 2) infectados, normoprotéicos; 3) não infectados, hipoprotéicos e 4) infectados, hipoprotéicos. Os animais foram sacrificados com 60 dias de infecção, aos 90 dias de idade. Verificou-se que os esquistossomos sofreram os efeitos da subnutrição do hospedeiro, principalmente os vermes machos, que além de terem seu desenvolvimento prejudicado, tiveram seu número reduzido aproximadamente pela metade. O número de granulomas foi menor nos roedores subnutridos e o tamanho da lesão foi reduzido. Houve acentuada leucopenia nos animais submetidos à dieta hipoprotéica, principalmente nos infectados subnutridos. A linfopenia e a eosinopenia acentuadas sugeriram que o sistema imunológico do hospedeiro foi afetado pela subnutrição. A taxa de mortalidade foi muito mais elevada nos animais infectados submetidos à dieta hipoprotéica. Concluiu-se que os camundongos subnutridos resistiram menos à infecção esquistossomótica apesar de terem apresentado menor número de lesões granulomatosas.

UNITERMOS: Esquistossomose mansônica, complicações. Deficiência de proteína. Camundongo, parasitologia. Camundongo, infecção experimental. *Schistosoma mansoni*.

INTRODUÇÃO

Coutinho e col.⁶, em 1972, estudaram clinicamente a evolução da esquistossomose no Nordeste, correlacionando-a com os aspectos nutricionais e concluindo que os resultados obtidos "reforçam, mais uma vez, o papel da desnutrição na evolução da esquistossomose". Recomendam também "a continuação desses estudos para que maiores detalhes possam ser explorados, permitindo conclusões definitivas a respeito dessa helmintose". Ainda Coutinho⁵, em 1980, ao estudar o efeito da subnutrição na esquistossomose, escreveu: "Em conclusão, pode-se dizer que a patologia da desnutrição nas parasitoses abrange aspectos variados e alguns deles ainda controversos ou apenas superficialmente conhecidos. Por esse motivo, constitui-se importante campo de investigação, ainda relativamente mal explorado dentro de nossa patologia tropical".

Madi e col.¹² (1975), tentando reproduzir as alterações detectadas na desnutrição infantil, submeteram ratos albinos jovens a uma dieta pobre em

proteínas por período de 41 a 88 dias. Verificaram transformações patológicas a nível de tegumento, fígado, pâncreas, intestinos, timo, baço e gânglios linfáticos, expressando comportamento intermediário entre marasmo e kwashiorkor. Esses autores observaram também a inversão da relação albumina-globulina no grupo de ratos subnutridos, com a ocorrência de um acréscimo no teor de globulinas alfa-1 e alfa-2, sem variações significantes das frações beta e gama-globulinas.

A inibição da resposta granulomatosa foi observada por Knouft e col.¹⁰ (1969), Akpom e col.^{2,3} (1975) e Akpom¹ (1981) em camundongos esquistossomóticos mantidos com dietas pobres em proteínas e vitaminas.

Coutinho-Abath e col.⁷ (1962) verificaram, em camundongos infectados por *Schistosoma mansoni* e submetidos a dietas hiperprotéica, normoprotéica e hipoprotéica, que "o nível de proteína alimentar influi sobre o grau de reatividade do SRE, sendo os

* Pesquisa realizada com auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Proc. 04.Biológico/78/082.

** Do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) - Caixa Postal 6109 - 13081 - Campinas, SP - Brasil.

*** Do Instituto de Matemática, Estatística e Ciências da Computação da UNICAMP.

**** Da Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da UNICAMP.

***** Do Departamento de Histologia do Instituto de Biologia da UNICAMP.

fenômenos inflamatórios exsudativos particularmente evidentes no grupo de animais submetidos a regime hiperprotéico”.

Não só as defesas do hospedeiro são afetadas pelo estado nutricional; os parasitos também podem sofrer as conseqüências dessa condição. De Witt^{8,9} (1975) verificou em camundongos esquistossomóticos submetidos a dieta de levedura pobre de “fator 3”, vitamina E e cistina que os esquistossomos não se desenvolviam completamente e muitos não alcançaram a maturidade sexual, apresentando comprometimento significante da função ovopositora. Entretanto, o referido autor observou, nesses camundongos subnutridos, um número 69% maior de esquistossomos do que em animais infectados que receberam dieta considerada normal. O mesmo autor observou ainda que, além da dieta deficiente ter diminuído a resistência dos animais ao parasitismo, houve também degeneração necrótica do coração, fígado, músculos e rins.

Nosso objetivo foi avaliar alguns efeitos, no hospedeiro e no parasito, da infecção esquistossomótica em camundongos submetidos a dieta hipoprotéica.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizando para a infecção dos roedores, *Schistosoma mansoni* da linhagem BH, obtidos de *Biomphalaria glabrata* procedentes de população de Belo Horizonte, nascidas e infectadas em laboratório, camundongos “Swiss”, foram infectados pela cauda com uma suspensão contendo 100 cercárias por roedor (Magalhães¹³, 1969).

Foram constituídos quatro grupos de camundongos, seguindo um esquema fatorial com dois fatores (ver, por exemplo, Snedecor e Cochran¹⁴, 1980): infecção e nutrição, cada um com dois níveis. Os quatro grupos são:

- I. não infectados, dieta normoprotéica “ad libitum” (controle);
- II. infectados, dieta normoprotéica “ad libitum”;
- III. não infectados, dieta hipoprotéica “ad libitum” e
- IV. infectados, dieta hipoprotéica “ad libitum”.

Os animais foram alocados aos tratamentos de acordo com disponibilidade de material, de modo que a aleatorização foi prejudicada.

Os tratamentos dietéticos foram iniciados 20 dias após o nascimento dos roedores, por ocasião do desmame. A infecção foi realizada em camundongos fêmeas com 30 dias de idade. Decorridos 60 dias da data de infecção (90 dias de idade), os animais foram novamente pesados e imediatamente sacrificados por deslocamento cervical sendo, então, seu sistema porta-mesentérico perfundido (Yolles e col.¹⁵, 1947).

Os esquistossomos, recolhidos por ocasião da necrópsia dos roedores, foram fixados em Raillet-Henry, posteriormente corados pelo carmim-clorídrico e montados em lâmina.

O fígado e o baço dos camundongos eram retirados para pesagem.

Foram contados os esquistossomos machos e fêmeas, estudada sua morfologia, anotando o número de testículos e ovos do útero. O comprimento desses vermes foi verificado no Visopan da Reichert, sendo a medida tomada com auxílio de curvímeter.

Por ocasião do sacrifício dos roedores, as fezes foram coletadas do reto para a determinação do número de ovos de *S. mansoni* (Komyia e Kobayashi¹¹, 1966).

Após a pesagem e retirada de pequenos fragmentos para corte histológico, o fígado dos roedores foi homogeneizado em liquidificador doméstico e determinado o número de granulomas (Brenner e col.⁴, 1956).

Fragmentos do fígado, baço e pulmões de todos os animais utilizados no experimento foram fixados em Bouin para a realização de cortes histológicos de 7 μ de espessura e corados com hematoxilina-eosina.

Para realização do leucograma, esfregaços de sangue colhido do plexo braquial por ocasião da necrópsia foram fixados em álcool metílico e corados pelo May-Grünwald-Giemsa.

Na Tabela 1 estão especificadas as quantidades de nutrientes constantes das dietas normoprotéica e hipoprotéica em 10 kg de ração. A composição percentual da mistura salina utilizada consta da Tabela 2. A composição da mistura vitamínica consta da Tabela 3.

Método estatístico: cada animal observado deu um conjunto de respostas (variáveis), de modo que empregamos, para começar, um modelo linear multivariado, para estudar os efeitos dos fatores e de sua interação.

A variável peso foi introduzida como co-variável, que se revelou importante no estudo de várias respostas. De uma maneira descritiva, empregamos também resultados obtidos por modelos univariados para algumas variáveis. Os modelos foram validados por extensa análise de resíduos, para garantir as premissas básicas dos ajustes. Comparações de médias foram feitas pelo método de Ryan-Eniot-Gabriel-Welsch. Em alguns casos, observações aberrantes foram eliminadas; para certas respostas, a variável foi transformada. Os cálculos foram feitos em um computador IBM 4341, com o “Statistical Analysis System” (SAS).

TABELA 1
Quantidade de nutrientes constantes das dietas normoprotéicas e hipoprotéicas em 10 kg de ração.

Nutrientes	Dieta normoprotéica (kg) (20% de proteína)	Dieta hipoprotéica (kg) (de 4% a 5,6% de proteína) (*)
Caseína	3,15	0,70
Óleo	0,80	0,80
Mistura salina (Tabela 2)	0,50	0,50
Mistura vitamínica (Tabela 3)	0,20	0,20
Sacarose	1,50	1,50
Amido	3,85	6,30

(*) Variação devida ao conteúdo protéico das amostras de caseína utilizadas no experimento.

TABELA 2
Composição percentual de mistura salina

Componentes	Quantidade (%)
Cloreto de sódio	25,0600
Molibdato de amônio	0,0030
Carbonato de cálcio	29,2900
Sulfato cúprico	0,1560
Fosfato dibásico de cálcio	0,4300
Citrato férrico	0,6200
Sulfato de magnésio	9,9800
Sulfato de manganês	0,1210
Iodeto de potássio	0,0005
Fosfato dibásico de potássio	34,3100
Selenito de sódio	0,0020
Cloreto de zinco	0,0200

TABELA 3
Composição da mistura vitamínica

Componentes	Quantidades (mg) (*)
Vitamina A	90.000 UI
Vitamina D	10.000 UI
Biotina	2,0
Vitamina E	500,0
Vitamina K	150,0
Vitamina B12	0,1
Inositol	200,0
Niacina	200,0
Riboflavina	50,0
Cloridrato de tiamina	50,0
Ácido fólico	7,0
Pantotenato de cálcio	200,0
Ácido p. aminobenzóico	200,0
Cloridrato de colina	7.500,0
Ácido ascórbico	4.500,0
Sacarose e farinha de mandioca torrada (50% + 50%), veiculada para 100 g	84.390,0

(*) Exceto para as vitaminas A e D que estão em unidades internacionais (UI)

RESULTADOS

Os resultados (Tabelas 4 a 9) mostraram que a infecção esquistossomótica provocou aumento altamente significativo do peso do fígado e do baço nos animais tratados com dieta normoprotéica, o mesmo não ocorrendo nos animais infectados submetidos à dieta hipoprotéica. O peso dessas duas vísceras foi significativamente menor nos animais hipoprotéicos, tanto infectados como nos livres de infecção esquistossomótica.

TABELA 4
Peso corporal médio dos camundongos por grupo e por idade

Infecção	Dieta	Número de animais	Idade (dias)		
			30(*)	60	90(**)
não	normo	33	17,55	26,31	30,19
sim	normo	27	16,93	23,67	25,12
não	hipo	30	9,70	11,86	13,19
sim	hipo	35	11,61	14,30	15,68

(*) data de infecção

(**) data da necropsia

(peso em gramas)

TABELA 5
Peso médio ajustado das vísceras dos camundongos na ocasião da necropsia.

Infecção	Dieta	Número de animais	Fígado (g)	Baço (g)
não	normo	33	1,9580	0,2446
sim	normo	27	2,3968	0,3969
não	hipo	30	1,0099	0,0690
sim	hipo	35	0,9697	0,0847

TABELA 6

Número médio ajustado de esquistossomos por sexo, granulomas hepáticos e ovos por grama de fezes na ocasião da necropsia dos camundongos.

Infecção	Dieta	Número de animais	Esquistossomos machos	Esquistossomos fêmeas	Total de esquistossomos	Granulomas hepáticos	Nº de ovos g/fezes
sim	normo	22	21,9	16,1	38,0	4.106	3.455
sim	hipo	21	10,9	16,7	27,6	670	2.151

TABELA 7

Comprimento médio ajustado, número de lóbulos testiculares e de ovos no útero dos esquistossomos recolhidos nos animais infectados por ocasião da necropsia.

Infecção	Dieta	Número de machos	Comprimento de machos	Nº de lóbulos testiculares	Número de fêmeas	Comprimento de fêmeas	Nº de ovos no útero
sim	normo	134	6,5	7,5	78	7,7	1
sim	hipo	146	5,0	8,7	32	6,8	1

(Comprimento em milímetros)

Houve significativamente menor número de esquistossomos machos nos animais subnutridos. A alimentação não interferiu no número de esquistossomos fêmeas.

O número de granulomas hepáticos foi muito menor nos animais submetidos a dieta hipoprotéica. Os animais subnutridos eliminaram número significativamente menor de ovos por grama de fezes.

TABELA 8

Mortalidade dos camundongos utilizados no experimento

Infecção	Dieta	Número de animais	Mortalidade percentual
não	normo	42	0
sim	normo	33	18,18
não	hipo	26	3,80
sim	hipo	81	34,60

TABELA 9

Números médios ajustados do leucograma dos camundongos utilizados no experimento por ocasião da necropsia.

Infecção	Dieta	Número de animais	Leucócitos totais	Neutrófilos	Linfócitos	Eosinófilos
não	normo	21	13.200	2.096	10.708	396
sim	normo	22	12.442	3.363	7.918	1.161
não	hipo	23	6.600	1.229	4.695	676
sim	hipo	21	5.632	1.726	3.588	318

Os esquistossomos recolhidos dos camundongos submetidos à dieta hipoprotéica foram significativamente menores em comprimento do que os recolhidos nos animais tratados com dieta normoprotéica. Não houve diferença significativa do número de lóbulos testiculares nem do número de ovos encontrados no útero (em média, 1 por fêmea) dos esquistossomos recolhidos nos dois grupos de roedores (II e IV).

A taxa de mortalidade foi sensivelmente mais elevada nos animais infectados, notadamente nos submetidos à dieta hipoprotéica.

Os animais subnutridos apresentaram significativa leucopenia para a qual contribuíram todos os tipos de células brancas, acentuadamente os linfócitos. A leucopenia foi mais intensa nos animais subnutridos infectados. Ao contrário da acentuada eosinofi-

lia apresentada pelos camundongos infectados submetidos à dieta normoprotéica, os animais infectados subnutridos apresentaram eosinopenia quando comparados com seus congêneres não infectados.

Estudo anátomo-patológico das vísceras

Grupo I. Não infectados, submetidos à dieta normoprotéica.

Não verificamos alterações dignas de nota.

Grupo II. Infectados, submetidos à dieta normoprotéica

Foram observadas as seguintes alterações:

Fígado. Numerosos granulomas em diversos estágios de evolução. Alguns granulomas exibiam necrose eosinofílica em cujas áreas adjacentes verificava-se fibrose com total desaparecimento da configuração hepatocitária. Ectasia dos capilares sinusoides, focos inflamatórios predominantemente neutrofílicos localizados principalmente junto aos espaços portais, não sendo, contudo, raros os localizados nas áreas intralobulares. Esses infiltrados eram difusos ou focais: Hiperplasia do SRE. Alterações regressivas hepatocitárias. Hiper cromatismo de numerosos hepatócitos com marcante irregularidade do contorno da carioteca.

Baço. Presença de granulomas esquistossomóticos em diversos estágios evolutivos. Hiperplasia acentuada da polpa branca com evidente congestão da polpa vermelha, havendo, por vezes, áreas de hiperplasia de células reticulares.

Pulmões. Extensas áreas de atelectasia subpleurais não tendo sido rara a presença de congestão septal. Discreta hemorragia intra-alveolar.

Grupo III. Não infectados, submetidos à dieta hipoprotéica

Foram observadas as seguintes alterações:

Fígado. Em algumas áreas verificaram-se alterações regressivas de grupos de hepatócitos. Em algumas regiões houve desaparecimento dos limites celulares. Grande número de hepatócitos bi-nucleados. Em alguns cortes verificou-se hiperplasia do SRE.

Baço. Discreta hiperplasia da polpa branca.

Pulmões. Sem alteração.

Grupo IV. Infectados, submetidos à dieta hipoprotéica

Foram observadas as seguintes alterações:

Fígado. Presença de poucos granulomas. Os granulomas presentes eram visivelmente menores que os observados nos animais normoprotéicos. Alterações regressivas hepatocitárias, principalmente nas áreas correspondentes à presença de infiltrado inflamatório predominantemente neutrofílico. Discreta

hiperplasia do SRE. Não observamos necrose eosinofílica. No mais, foram observados aspectos semelhantes aos do grupo III.

Baço. Ausência dos granulomas esquistossomóticos. Hiperplasia da polpa branca. Foi observado grande número de megacariócitos.

Pulmões. Sem alteração.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O menor tamanho apresentado pelos esquistossomos colhidos nos animais submetidos à dieta hipoprotéica sugere que os parasitos também sofreram os efeitos da subnutrição, principalmente os vermes machos que também apresentaram sua população aproximadamente reduzida pela metade.

De Witt⁸ (1975), em animais submetidos à dieta hipoprotéica, havia encontrado esquistossomos atrofiados. Em nosso experimento, os esquistossomos machos, recolhidos dos camundongos subnutridos, apesar de menores, apresentavam desenvolvimento sexual normal, pois não houve diferença significativa do número de lóbulos testiculares entre os vermes dos grupos II e IV. Também a ação ovipositora das fêmeas parece não ter sido alterada, pois constatamos o encontro de, em média, um ovo no útero de cada fêmea dos grupos II e IV. É curioso ressaltar que os esquistossomos fêmeas parecem ter sofrido menos os efeitos da subnutrição.

Como o número de ovos por grama de fezes foi significativamente menor nos animais subnutridos, acreditamos que este fato seja decorrente do menor número de vermes machos encontrados nesses roedores.

As reações de defesa do hospedeiro foram provavelmente afetadas pela dieta. A reação granulomatosa foi muito menos intensa em número e em área de granuloma nos animais submetidos à dieta hipoprotéica.

O menor número de granulomas hepáticos e a menor área do granuloma poderá ser devido a menor capacidade reacional do hospedeiro subnutrido ou a modificações na estrutura dos ovos dos esquistossomos habitantes de roedores subnutridos (Akpom¹, 1981).

Apesar do reduzido número de lesões granulomatosas observadas nos animais subnutridos, este grupo de roedores acusou elevada taxa de mortalidade (34,6%) quando comparada com a do grupo de animais tratados com dieta normoprotéica (18,18%).

Houve acentuada leucopenia nos animais submetidos à dieta hipoprotéica, principalmente devido a linfopenia observada. Estes fatos acentuaram-se nos animais submetidos à infecção e à dieta hipoprotéica.

A eosinopenia que ocorreu nos animais infectados subnutridos parece demonstrar que a dieta hipoprotéica interferiu no sistema imunitário do hospedeiro.

Entre os 30 e 90 dias (Tabela 4) a evolução do peso corporal nos grupos normoprotéicos foi maior quando comparada com os grupos hipoprotéicos, porém menor no grupo submetido a infecção por *S. mansoni*. O grupo infectado apresentou um acréscimo de 48% em seu peso corporal contra 72% apresentado pelo grupo não infectado.

Nos grupos de animais submetidos à dieta hipoprotéica as médias de peso corporal mantiveram-se sempre abaixo daquelas verificadas nos grupos normoprotéicos. A partir da data de infecção observou-se aumento de peso corporal, porém bem inferior ao observado no grupo normoprotéico. O grupo hipoprotéico infectado teve um aumento de 35% em seu peso corporal e o grupo não infectado, 36%.

Concluimos que os camundongos submetidos à dieta hipoprotéica resistiram menos à infecção esquistossomótica apesar de terem apresentado menor quantidade de lesões granulomatosas.

MAGALHÃES, L.A. et al. [*Mansoni schistosomiasis in experimentally undernourished mice*] . *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 20: 362-8, 1986.

ABSTRACT: *Mansoni schistosomiasis* was studied in mice fed on a low protein diet. Four groups of the Swiss breed *Mus musculus* were used in an experiment with two factors, each with two levels: 1 - non-infected, normal diet; 2 - infected, normal diet; 3 - non-infected, low protein diet; 4 - infected, low protein diet. The mice were killed for observation at age 90 days, after 60 days of infection, for those infected. It was found that the worms suffered the effects of malnutrition, mainly males, whose population count was cut by half, in addition to poor individual growth. The hepatic granuloma count was found to be smaller in the undernourished group; while the corresponding lesions were also generally smaller. There was a marked leukopenia in the malnourished mice, even more so in the infected mice. The severe lymphopenia and eosinopenia observed suggest that the immunologic system of the host was affected by malnutrition. Mortality rates were far larger in the infected, low protein diet group. One may then surmise that the malnourished mice offered lower resistance to the infection, their lower number of granuloma notwithstanding.

UNITERMS: *Schistosomiasis mansoni*, complications. Protein deficiency. Mice, parasitology. Mice, experimental infection. *Schistosoma mansoni*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AKPOM, C.A. Supression of granuloma formation around *Schistosoma mansoni* eggs in severe protein malnutrition: the role of the egg. *Trans.roy Soc.trop. Med.Hyg.*, 75: 444-6, 1981.
2. AKPOM, C.A. & WARREN, K.S. Calorie and protein malnutrition in chronic murine schistosomiasis mansoni, effect on the parasite and the host. *J.infect.Dis.*, 123: 6-14, 1975.
3. AKPOM, C.A. & WARREN, K.S. The inhibition of granuloma formation around *Schistosoma mansoni* eggs. VI - Protein calorie and vitamin deficiency. *Amer.J.Pathol.*, 79: 435-52, 1975.
4. BRENER, Z.; PELLEGRINO, J. & OLIVEIRA, F.D. Terapêutica experimental da esquistossomose mansoni: aplicação do método de isolamento de granulomas do fígado de camundongos. *Rev.bras.Malar.*, 8: 583-7, 1956.
5. COUTINHO, E. Patobiologia da desnutrição nas doenças parasitárias. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz*, 75(3/4): 63-76, 1980.
6. COUTINHO, E.; BARBOSA, F.S.; BARBOSA, J.M.; PESSOA, P.; PINTO, R.F.; OLIVEIRA, P.A. & RODRIGUES, B.A. Inquérito clínico-nutricional e antropométrico preliminar, em áreas endêmicas de esquistossomose mansônica, no Nordeste do Brasil. *Rev.Soc.bras.Med.trop.*, 6: 211-36, 1972.
7. COUTINHO-ABATH, E.; MAGALHÃES FILHO, A. & BARBOSA, J.M. Lesões hepáticas no camundongo albino experimentalmente infestado por *Schistosoma mansoni* e submetido a dietas de diferente teor protéico. *Rev.Inst.Med.trop.S.Paulo*, 4: 311-22, 1962.
8. DE WITT, W.B. Experimental schistosomiasis mansoni in mice maintained on nutritionally deficient diets. I. Effects of a torula yeast ration deficient in factor³, vitamin E, and cystine. *J.Parasit.*, 43: 119-28, 1975.
9. DE WITT, W.B. Experimental schistosomiasis mansoni in mice maintained on nutritionally deficient diets. II. Survival and development of *Schistosoma mansoni* in mice maintained on a torula yeast diet deficient in factor³, vitamin E, and cystine. *J.Parasit.*, 43: 129-35, 1975.
10. KNAUFT, R.F. & WARREN, K.S. The effect of calorie and protein malnutrition on both the parasite and the host in acute murine schistosomiasis mansoni. *J.infect.Dis.*, 120: 560-75, 1969.
11. KOMIYA, Y. & KOBAYASHI, A. Evaluation of Kato's thick smear technic with a cellophane cover for helminth eggs in feces. *Jap.med.Sci.Biol.*, 19: 59-64, 1966.

12. MADI, K. & CAMPOS, S.D. Desnutrição experimental e resultados anatomopatológicos e bioquímicos da administração de dietas hipoprotéicas a ratos albinos jovens. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 73: 153-81, 1975.
13. MAGALHÃES, L.A. Técnica para avaliação da viabilidade de penetração de cercárias de *Schistosoma mansoni* em *Mus musculus*. *Hospital*, Rio de Janeiro, 75: 137-40, 1969.
14. SNEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G. *Statistical methods*. 7th ed. Ames, Iowa State University Press. 1980.
15. YOLLES, T.K.; MOORE, D.U.; DE GINSTE, D.L.; RIPSON, C.A. & MELENEY, H.E. A technique for the perfusion of laboratory animals for the recovery of schistosomes. *J. Parasit.*, 33: 419-26, 1947.

Recebido para publicação em 03/03/1986

Aprovado para publicação em 09/06/1986