

OBSERVAÇÕES SÓBRE A INFECÇÃO EXPERIMENTAL DO HAMSTER (*CRICETUS AURATUS*) PELO *SCHISTOSOMA MANSONI*

Jane FÁRIA (1) e J. PELLEGRINO

RESUMO

Em 50 hamsters, infectados por via transcutânea com 200 cercárias cada um, observou-se que a mortalidade foi muito acentuada no período de oviposição maciça. Diversos aspectos da infecção foram estudados em grupos de 5 hamsters sacrificados após 26, 40 e 50 dias e em 3 animais que sobreviveram até o 60.º dia.

A percentagem de esquistossomos recuperados foi de 39,5% e a distribuição dos vermes muito semelhante à observada na infecção experimental do camundongo. No 60.º dia de infecção, 69,4% estavam localizados nos vasos mesentéricos, 23,6% na porta e 7,0% no fígado. A partir do 40.º dia foram encontrados ovos maduros nas fezes e o exame do intestino delgado, ceco e reto mostrou ovos viáveis em diversos estádios evolutivos. Maior número de ovos foi encontrado no intestino delgado.

A reação de fixação do complemento foi positiva em 3 dos 5 hamsters examinados após 26 dias e em todos os animais sacrificados depois de 40 dias. A reação peri-ovular somente foi positiva nos hamsters sacrificados no 50.º dia e no 60.º dia de infecção.

INTRODUÇÃO

Na terapêutica experimental da esquistossomose, o camundongo, o macaco e o hamster constituem os animais de laboratório comumente utilizados. A importância do hamster, em ensaios pre-clínicos, foi recentemente focalizada por LÄMMLER⁴. Entretanto, alguns aspectos da infecção deste animal pelo *S. mansoni* não foram ainda suficientemente investigados.

Como parte de um programa de terapêutica experimental da esquistossomose mansoni, pareceu-nos de interesse estudar a infecção experimental do hamster para obter informações relativas à distribuição dos esquistossomos na veia porta, fígado e vasos mesentéricos, ao processo de maturação dos

ovos na parede intestinal e ao comportamento das reações de fixação do complemento e peri-ovular.

MATERIAL E MÉTODOS

Cinquenta hamsters (*Cricetus auratus*), com aproximadamente 2 meses, foram infectados, por via transcutânea, com 200 cercárias de *S. mansoni* por animal. Os hamsters foram anestesiados (0,08 ml do "Sonifene" Roche, via intramuscular) e o pêlo do abdome raspado com máquina elétrica. Cercárias eliminadas por *Australorbis glabratus* naturalmente infectados foram contadas (PELLEGRINO & cols.⁹) e distribuídas em pequenas placas de Petri de modo que

Instituto de Biologia, Faculdade de Filosofia da Universidade de Minas Gerais e Instituto Nacional de Endemias Rurais, Belo Horizonte.

(1) Bolsista do CNPq.

cada uma contivesse cerca de 200 cercárias. Os animais foram então amarrados a suportes de madeira, com o ventre para baixo, e as placas de Petri, contendo as cercárias, foram postas em contato com o abdome dos mesmos, durante 1 hora.

Grupos de 5 hamsters foram sacrificados após 26,40 e 50 dias e 3 animais foram sacrificados no 60.º dia de infecção. O sangue para as reações sorológicas (fixação do complemento e reação peri-ovular) foi retirado por punção cardíaca. Antes de serem sacrificados, por pancada na nuca, os hamsters receberam injeção intracardíaca de 0,5 ml de "Liquemine" Roche. O estudo da distribuição dos esquistossomos foi feito pela retirada dos vermes localizados no tronco da veia porta, após seção deste vaso, e pela perfusão do fígado e vasos mesentéricos (técnica de YOLLES & cols.¹², com pequenas modificações).

O exame de fezes foi feito de acordo com o método recomendado por CHAIA & COELHO³, tendo sido aproveitado todo o material contido no intestino. O número de ovos de *S. mansoni* foi determinado pelo exame de todo o sedimento.

A percentagem de ovos viáveis, nos diversos estádios (oograma), foi calculada em fragmentos retirados do intestino delgado,

ceco e reto, após classificação de 300 ovos de cada parte do intestino (PELLEGRINO & cols.⁹).

A reação peri-ovular foi praticada de acordo com a técnica de OLIVER-GONZALEZ⁷, anotando-se o resultado em percentagem de ovos com precipitado. Na reação de fixação do complemento foi usado antígeno de esquistossomos adultos, preparado segundo CHAFFEE, BAUMAN & SHAPILO² e a técnica recomendada por PELLEGRINO & FREITAS⁸. As reações foram consideradas positivas quando o título era superior a 2.

RESULTADOS

No Quadro I estão resumidos os dados relativos ao número de esquistossomos colhidos nos hamsters e à sua distribuição no fígado, porta e vasos mesentéricos, em diferentes períodos após a infecção. De 18 hamsters infectados com 3.600 cercárias (200 cercárias por animal) foi recolhido um total de 1.424 esquistossomos, o que corresponde a uma recuperação de 39,5%. Aos 26 dias de infecção, a maioria dos vermes era ainda imatura. Já de 40 dias em diante, a quase totalidade dos esquistossomos havia completado o seu desenvolvimento. De 1.140 vermes adultos, 584 eram fêmeas e 556 machos, o que corresponde a uma re-

QUADRO I

Distribuição e número médio de esquistossomos colhidos em hamsters sacrificados 26, 40, 50 e 60 dias após a infecção

Dias após a infecção	N.º de animais	Distribuição dos esquistossomos (%)			Média de esquistossomos por animal
		Porta	Fígado	Mesentério	
26	5	8,5	77,9	13,6	57
40	5	33,9	33,1	33,0	104
50	5	19,6	22,4	58,0	95
60	3	23,6	7,0	69,4	48

lação de 1,05:1. A Fig. 1 mostra claramente que a percentagem de esquistossomos localizados no fígado vai decrescendo progressivamente, enquanto que o contrário

acontece no mesentério, fenômeno que reflete a migração dos parasitos do fígado para o mesentério depois de completada a maturação.

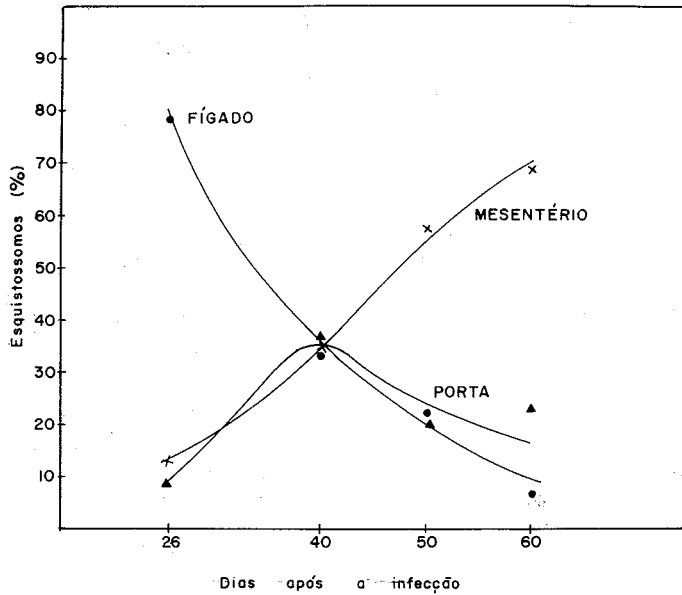


Fig. 1 — Distribuição dos esquistossomos no fígado, porta e vasos mesentéricos em hamsters infectados com *S. mansoni* e sacrificados após 26, 40, 50 e 60 dias.

QUADRO II

Percentagens de ovos encontrados no intestino delgado, ceco e reto, segundo o estágio evolutivo, e observados em grupos de 5 hamsters cada um, sacrificados 26, 40, 50 e 60 dias após a infecção pelo *S. mansoni*.

Órgão	Estádio evolutivo dos ovos				
	1.º	2.º	3.º	4.º	Maduro
Intestino delgado:					
26 dias	—	—	—	—	—
40 dias	41,1	12,9	22,0	11,7	12,3
50 dias	11,9	9,9	19,3	10,7	48,2
60 dias	17,6	10,0	19,3	8,9	44,2
Ceco:					
26 dias	—	—	—	—	—
40 dias	46,7	11,8	21,4	11,5	8,6
50 dias	22,0	11,6	24,3	13,3	28,8
60 dias	12,0	7,3	27,0	9,8	43,8
Reto:					
26 dias	—	—	—	—	—
40 dias	28,1	11,2	22,4	18,1	20,2
50 dias	8,6	8,8	23,2	6,8	52,6
60 dias	12,0	6,0	32,6	8,5	40,9

O Quadro II mostra que a partir de 40 dias de infecção podem ser encontrados ovos de *S. mansoni*, em diversos estádios evolutivos, no intestino delgado ceco, e reto. Aos 60 dias a percentagem de ovos maduros gira em torno de 40%. Maior número de ovos foi encontrado no intestino delgado, seguindo-se o ceco. O número de ovos era relativamente pequeno no reto.

O exame de fezes, negativo no 26.º dia de infecção, revelou a presença de ovos de *S. mansoni* no 40.º dia (11 ovos em média por animal). O número médio de ovos, encontrado após 50 e 60 dias foi, respectivamente, de 407 e 360.

QUADRO III

Resultados da reação periouvar e da reação de fixação do complemento em soros de hamsters sacrificados após 26, 40, 50 e 60 dias de infecção pelo *S. mansoni*

Dias de infecção	Animais	% de ovos com reação periouvar	Título da reação de fixação do complemento
26	1	—	2,3
	2	—	< 1,5
	3	—	< 1,5
	4	—	2,6
	5	—	2,5
40	1	—	105
	2	—	12
	3	—	8
	4	—	17
	5	—	63
50	1	10	53
	2	40	57
	3	28	161
	4	12	384
	5	20	44
60	1	10	20
	2	20	29
	3	4	29

O Quadro III mostra que a reação de fixação do complemento foi positiva em 3 dos 5 hamster examinados após 26 dias de infecção e em todos os animais sacrificados após 40, 50 e 60 dias. A reação peri-ouvar somente foi positiva nos hamsters sacrificados no 50.º e no 60.º dia de infecção.

DISCUSSÃO

Dos 50 hamsters infectados, 32 morreram até o 60.º dia de observação. A mortalidade foi mais acentuada entre o 50.º e 60.º dia, tendo morrido, neste período, 29 animais. Este achado concorda com as observações de STIREWALT, KUNTZ & EVANS¹¹, segundo as quais a mortalidade de hamsters infectados com *S. mansoni* é mais intensa no período de oviposição maciça e que para experiências de média ou longa duração, o número de cercárias usadas na infecção deve ser inferior a 200.

No hamster é alta a percentagem de esquistossomos recuperados, em relação ao número de cercárias a que o animal é exposto. De acordo com as observações de MOORE, YOLLES & MELENEY⁶, a recuperação foi de 29,2% em hamsters infectados com 160 cercárias e, segundo STIREWALT, KUNTZ & EVANS¹¹, foi de 30,4% quando infectados com 200 cercárias. Estes valores aproximam-se daquele por nós obtido (39,5%). O encontro de ovos de *S. mansoni* nas fezes, no 40.º dia de infecção, confirma as observações de MOORE & MELENEY⁵ e de MOORE, YOLLES & MELENEY⁶.

É interessante observar que os nossos dados sobre a distribuição dos esquistossomos no fígado, porta e vasos mesentéricos, em diferentes períodos da infecção, concordam com aqueles relatados por STANDEN¹⁰ no camundongo. STIREWALT, KUNTZ & EVANS¹¹, sacrificando hamsters infectados com 200 cercárias de *S. mansoni* encontraram, na 10.ª semana de infecção, 49,6% dos esquistossomos no fígado. É possível que a elevada percentagem de vermes encontrados no fígado, nesse período, seja devida ao fato de terem sido os animais sacrificados com clorofórmio. De fato, foi por nós demonstrado que a anestesia intensa e prolongada pelo éter ou clorofórmio, em camundongos

experimentalmente infectados com *S. mansoni*, pode aumentar, de maneira significativa, a percentagem de esquistossomos no fígado (dados não publicados).

O Quadro II mostra que é grande a percentagem de ovos imaturos encontrados no intestino delgado, ceco e reto (87,7, 91,4 e 79,8, respectivamente), após 40 dias de infecção. A percentagem de ovos maduros aumentou no 50.^o e 60.^o dia, mantendo-se de regra abaixo de 50%. O número de ovos mortos foi pequeno durante o período de observação. Estes dados são semelhantes aos obtidos no camundongo por PELLEGRINO & cols.⁹.

Os nossos dados mostram que a reação de fixação do complemento pode ser positiva ainda no período prepatente. Já a reação peri-ovular sômente foi positiva após o início da postura (Quadro III). Esta reação sorológica havia sido investigada, em hamsters experimentalmente infectados pelo *S. mansoni*, por MOORE & MELENEY⁵ e BRUINING¹.

As observações aqui relatadas e aquelas existentes na literatura mostram que o hamster é um animal particularmente favorável para estudos de terapêutica da esquistossomose.

SUMMARY

Remarks on experimental infection of hamster (Cricetus auratus) by Schistosoma mansoni

Fifty hamsters were infected, by cutaneous route, with 200 *S. mansoni* cercariae per animal. The mortality rate was very high in the period of massive oviposition. Several aspects of the infection have been studied in groups of 5 hamsters sacrificed after 26, 40 and 50 days of infection as well as on 3 animals that survived up to the 60th day.

The percentage of cercariae recovered as schistosomes was 39.5%. The distribution of schistosomes was very similar to that observed in the experimental infection of mice by *S. mansoni*. On the 60th day of infection, 64.4% of the worms were loca-

ted in the mesenteric vein, 23.6% in the portal vein and 7.0% in the liver. From the 40th day on, mature eggs were found in the faeces. The examination of the small intestine, caecum and rectum revealed the presence of viable eggs in the various evolutive stages. The greatest number of eggs was found in the small intestine.

The complement fixation test was positive in 3 of the 5 hamsters examined after 26 days and in all animals sacrificed after 40 days. The circumoval precipitin test was positive only in the hamsters sacrificed on the 50th and 60th days of infection.

AGRADECIMENTOS

A colaboração técnica de Lourenço Chiari, Alberto G. Santos e Zenir de Souza foi indispensável na execução do presente trabalho.

REFERÊNCIAS

1. BRUINING, C. F. A. — The circumoval precipitin test in experimental *Schistosoma mansoni* infections. Trop & Geograph. Med. Amsterdam 13:378-387, 1961.
2. CHAFFEE, E. F.; BAUMAN, P. M. & SHAPILO, J. J. — Diagnosis of schistosomiasis by complement fixation. Am. J. Trop. Med. & Hyg. 3:905-913, 1954.
3. CHAIA, G. & COELHO, M. V. — A técnica de Saperó & Lawless (M.I.F.), modificada por Coutinho, no diagnóstico da esquistossomose mansoni. Rev. Brasil. Malariol. & Doenças Trop. 12:362-363, 1960.
4. LÄMMLER, G. — Comparative studies on schistosomicidal agents with different species of definitive hosts. Scientific Group on Bilharziasis (Pathology and Immunity). Doc. n.º 35. Geneva, 1962.
5. MOORE, D. V. & MELENEY, H. E. — Adaptability of *Schistosoma mansoni* of human origin to mice and hamster. Exp. Parasit. 1:157-160, 1952.
6. MOORE, D. V.; YOLLES, T. K. & MELENEY, H. E. — A comparison of common laboratory animals as experimental hosts for *Schistosoma mansoni*. J. Parasit. 35: 156-170, 1949.
7. OLIVER-GONZALEZ, J. — Anti-egg precipitins in the serum of humans infected with *Schistosoma mansoni*. J. Infect. Dis. 95:86-91, 1954.

8. PELLEGRINO, J. & FREITAS, J. L. P. — Quantitative complement fixation test in schistosomiasis mansoni. Am. J. Trop. Med. & Hyg. 4:537-540, 1961.
9. PELLEGRINO, J.; OLIVEIRA, C. A.; FARIA, J. & CUNHA, A. S. — New approach to the screening of drugs in experimental schistosomiasis mansoni in mice. Am. J. Trop. Med. & Hyg. 11:201-215, 1962.
10. STANDEN, O. D. — Experimental schistosomiasis. III — Chemotherapy and mode of drug action. Ann. Trop. Med. & Parasitol. 47:26-43, 1953.
11. 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. 1:57-82, 1951.
12. YOLLES, T. K.; MOORE, D. V.; DeGIUSTI, D. L.; RIPSOM, C. A. & MELENEY, H. E. — A technique for the perfusion of laboratory animals for the recovery of schistosomes. J. Parasit. 33:419-426, 1947.

Recebido para publicação em 25 agosto 1963.