

ESTUDIOS INMUNOLOGICOS EN HAMSTERS (*CRICETUS AURATUS*) INFECTADOS CON *SCHISTOSOMA MANSONI* (1)

Eduardo MONGE (2), Paulo M. Z. COELHO (3) & Carlos A. P. TAVARES (4)

RESUMEN

Los resultados de este trabajo muestran que el hamster (*Cricetus auratus*) puede ser utilizado como un modelo experimental para estudios inmunológicos en la infección por *Schistosoma mansoni*. Los datos obtenidos, relativos a inmunidad concomitante, producción de anticuerpo letal e inmunosupresión se asemejan a los conseguidos en otros modelos experimentales ya establecidos. Estas observaciones indican que el hamster, además de ser un hospedero satisfactorio para el mantenimiento del parásito en el laboratorio, puede ser considerado como un modelo experimental alternativo cuyo crecimiento y mantenimiento son relativamente simples y además es un animal de fácil manejo.

UNITERMOS: Esquistosomíase mansonica experimental — Hamster (*Cricetus auratus*) — Inmunología

INTRODUCCION

El desarrollo de un modelo experimental para el estudio de los diferentes aspectos inmunológicos de las infecciones por *Schistosoma mansoni* constituye una preocupación de los investigadores interesados en el control de la esquistosomiasis.

De los animales de laboratorio disponibles, únicamente los ratones parecen ser los hospederos adecuados para el estudio, en gran escala, de los diversos fenómenos inmunológicos presentes en la esquistosomiasis. Cobayos presentan respuesta inmunológica semejante a la de los ratones pero no se consigue detectar huevos en las heces de estos animales, de manera que el ciclo evolutivo del *Schistosoma* no puede ser completado en este hospedero^{12,13}. Los monos, otros posibles hospederos, son difíciles de adquirir y mantener, mientras que las ratas y los conejos no son buenos hospede-

ros y la respuesta inmunológica es muy diferente a la que ocurre en el hombre²⁴.

Por este motivo, nos propusimos analizar algunos aspectos inmunológicos en hamsters (*Cricetus auratus*) infectados con *S. mansoni*, con el fin de establecer si tales animales, que generalmente se han utilizado sólo para mantener la cepa del parásito en el laboratorio, pueden constituir un modelo alternativo experimental para la esquistosomiasis mansoní.

Pensando en lo anterior, los objetivos del trabajo fueron observar en el hamster el desarrollo de inmunidad adquirida en el curso de la infección primaria por *S. mansoni*; indagar sobre la presencia de anticuerpo letal³ y su relación con el desarrollo de la inmunidad protectora. También fueron contemplados en este estudio fenómenos de inmunosupresión.

- (1) Este trabajo fue financiado, en parte, por el "Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil" e FINEP (Financiadora de Estudos e Projetos).
- (2) Departamento de Parasitología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica
- (3) Departamento de Parasitología, Instituto de Ciências Biológicas, UFMG, Belo Horizonte, Brasil
- (4) Departamento de Bioquímica-Imunología, Instituto de Ciências Biológicas, UFMG, Belo Horizonte, Brasil

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 200 hamsters machos, heterogéneticos, de un mes y medio a dos meses y medio de edad cuyo peso varió entre 70 y 90 gramos, procedentes del bioterio del Departamento de Parasitología de la Universidad Federal de Minas Gerais (ICB-UFMG) y mantenidos con alimento y agua ad libitum.

Las cercarias de *S. mansoni* (cepa L.E., Belo Horizonte, Brasil), obtenidas de *Biomphalaria glabrata* creados en el laboratorio, fueron concentradas y a partir de ellas se obtuvieron esquistosómulos in vitro según la técnica de RAMALHO-PINTO & col.¹⁵.

Se infectaron 150 hamsters con 30 cercarias por vía transcutánea de acuerdo con la técnica de SMITHERS & TERRY¹⁹. Posteriormente cuatro grupos de 12 animales cada uno se reinfeció con 150 cercarias a los 40, 60 y 90 días y con 250 a los 120 días. Para cada grupo se empleó un grupo testigo de 12 hamsters que sólo fueron expuestos a las dosis de 150 o 250 cercarias según el caso.

Catorce días después de la reinfeción los animales fueron sacrificados por fractura cervical, recuperándose los vermes por perfusión del sistema porta empleando un aparato para perfusión (Brewer Automatic Pipetting Machine, Mar. U.S.A.). Del material, recogido en un beaker, se obtuvieron los vermes que fueron contados en una placa de Petri bajo el estereoscopio. La diferenciación de las dos infecciones se basó en el tamaño y la morfología de los vermes y de acuerdo con el número de los inmaduros recuperados, se evaluó la resistencia de los hamsters a la reinfeción, que se expresó en porcentaje de reducción¹⁶.

Con la finalidad de estimar la acción del anticuerpo letal presente en el suero de hamsters infectados con *S. mansoni*, sobre esquistosómulos de 90 minutos, los animales reinfecidos a los 40, 60, 90 y 120 días después de la infección fueron sangrados al igual que hamsters no infectados los cuales se usaron como testigos. La sangre fue obtenida del plexo retroorbital con ayuda de una pipeta Pasteur y el suero extraído por centrifugación y mantenido a -20°C fue usado en la determinación de anticuerpo letal, según la técnica descrita por TAVARES & col.²². También se determinó el tí-

tulo de anticuerpo letal mezclando los sueros obtenidos a los 40, 60, 90, y 120 días después de infección. La acción citotóxica fue estimada por la determinación del índice de mortalidad de los esquistosómulos por diferencia entre los muertos por el suero inmune más complemento y los muertos sólo por la acción del complemento.

La evaluación de la respuesta celular (hipersensibilidad retardada) fue realizada a los 45, 60 y 90 días después de la infección inicial tanto en animales infectados o no con *S. mansoni*, de acuerdo con la técnica de MILLER & col.⁸ que usa glóbulos rojos de carnero como indicador de hipersensibilidad retardada. El grado de hinchazón de las patas fue determinado por medio de un micrómetro ajustado a lecturas de centésimo de milímetro (L.S. Starret, Co., Gran Bretaña), lo que permitió establecer las diferencias del edema de las patas posteriores.

Para evaluar el grado de significancia estadística, los resultados fueron sometidos a la prueba de t de Student, a análisis de variancia y de correlación lineal.

RESULTADOS

El porcentaje de adultos recuperados en relación al número total de cercarias utilizadas en la infección fue establecido con base en el total y el promedio de vermes de cada sexo, recuperados de los hamsters infectados (Cuadro I).

El Cuadro II contiene los promedios y las respectivas desviaciones estándares del número de vermes inmaduros de *S. mansoni*, recuperados después de la reinfeción de los diferentes grupos de animales. Como se puede observar hubo una diferencia significativa a partir de los 60 días después de la infección inicial cuando comparados con los testigos.

Los porcentajes de reducción de la carga parasitaria están representados en la figura 1. Por análisis de variancia se verificó que la reducción fue significativa a un nivel de 1% entre 40 y 60 días y de 0,1% entre 40 y 90 y 40 y 120 días pero no lo fue entre 60 y 90 y 60 y 120 días indicando que después de los 60 días la reducción de la carga parasitaria fue prácticamente la misma.

C U A D R O I

Numero y porcentaje de vermes adultos de *Schistosoma mansoni* recuperados de hamsters después de la infección primaria

| Días después 1a. infección | No. de hamsters | Parásitos recuperados | | Promedio ± D.E. | Recuperación (%) |
|-------------------------------|--------------------|-----------------------|---------|-----------------|-------------------------|
| | | machos | hembras | | |
| 40 | 12 | 85 | 52 | 11,4 ± 3,6 | 38,1 ± 3,6 |
| 60 | 11 | 74 | 36 | 10,0 ± 4,1 | 33,3 ± 4,0 |
| 90 | 10 | 66 | 43 | 10,9 ± 3,9 | 36,3 ± 4,0 |
| 120 | 12 | 100 | 52 | 12,7 ± 3,9 | 42,2 ± 3,9 |
| Total | 45 | 325 | 183 | 11,3 ± 3,9 | \bar{X} 37,5 ± 3,7(*) |

Los hamsters fueron infectados con cerca de 30 cercarias de *Schistosoma mansoni*.

(*) Representa el promedio y la desviación estandar de los porcentajes de recuperación.

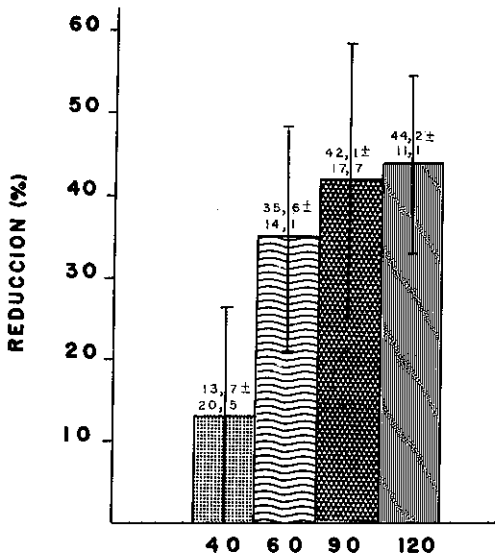
C U A D R O II

Verificación de la inmunidad concomitante en hamsters infectados inicialmente con cerca de 30 cercarias de *Schistosoma mansoni*

| Días después 1a. infección | Grupo(*) | No. de hamsters | Promedio de vermes inmaduros recuperados 14 días después de la reinfección | % Protección | Valores de P(**) |
|-------------------------------|----------|--------------------|--|-----------------|---------------------|
| | | | | | |
| | B | 11 | 50,0 ± 14,1 | 13,6 | |
| 60 | A | 11 | 33,1 ± 7,3 | | < 0,01 |
| | B | 12 | 51,4 ± 14,3 | 35,6 | |
| 90 | A | 10 | 28,3 ± 8,6 | | < 0,001 |
| | B | 11 | 48,9 ± 14,0 | 42,2 | |
| 120 | A | 12 | 56,4 ± 11,5 | | < 0,001 |
| | B | 12 | 101,0 ± 26,0 | 44,2 | |

La reinfección a los 40, 60 y 90 días fue con cerca de 150 cercarias y a los 120 días con cerca de 250 cercarias. (*) A — Grupo experimental de hamsters que recibieron las dos infecciones. (*) B — Grupo control de hamsters que solo recibieron la segunda infección.

(**) Test t de Student.



DIAS DESPUES DE LA INFECCION INICIAL

Fig. 1 — Reducción de la carga parasitaria de la reinfección de hamsters infectados inicialmente con cerca de 30 cercarias de *Schistosoma mansoni*. Cada punto representa el promedio de reducción de la carga parasitaria. Las líneas verticales indican la desviación estandar de los promedios.

La figura 2 nos muestra los porcentajes de esquistosómulos muertos por la acción citotóxica del suero de los hamsters con diferentes periodos de infección. La letalidad fue estadísticamente menor con el suero de 40 días de infección cuando comparado con los sueros de 60, 90 y 120 días ($P < 0,001$). Además hubo una diferencia significativa entre 60 y 90 días ($P < 0,02$) pero no entre los sueros de 90 y 120 días.

La concentración de anticuerpo letal está relacionada con el tiempo de infección (Fig. 3). Así, en una dilución 1:5 el 33% de los esquistosómulos fueron lesionados con los sueros de 90 y 120 días y apenas el 22% y el 16% con los sueros de 60 y 40 días respectivamente. Tal observación fue similar para los sueros diluidos 1:10 y 1:20. Para ésta última, con suero de 40 días, la mortalidad fue negativa, indicando su baja concentración de anticuerpos; mientras que para los de 60, 90 y 120 días era casi igual (19-21%). El análisis de variancia solo fue significativo en la comparación del suero de 40 días de infección con el de 60, 90 y 120 días, er

las siguientes diluciones: 1:5 y 1:10 con sueros de 90 y 120 ($P < 0,01$) y de 1:20 con suero de 60 días ($P < 0,05$), de 90 días ($P < 0,02$) y con el de 120 días ($P < 0,01$).

Los hamster infectados y no infectados con *S. mansoni* fueron inmunizados y posteriormente probados inmunológicamente con glóbulos rojos de carnero. El Cuadro III resume los resultados obtenidos en estos experimentos indicando una diferencia significativa sólo a los 90 días después de la infección inicial.

DISCUSSION

El hamster es un hospedero ideal para el *S. mansoni* tanto en el mantenimiento del parásito como en el desarrollo de modelos experimentales. Por este motivo, lo estudiamos como posible modelo de laboratorio en la inmunología de la esquistosomiasis mansoni, analizando durante 18 semanas diversos parámetros como la recuperación de vermes, la resistencia a la reinfección, el efecto citotóxico del suero inmune y la hipersensibilidad retardada.

Diversos autores han señalado que el porcentaje de vermes recuperados en el hamster es alto en relación al número inicial de cercarias infectantes; nosotros logramos una recuperación de vermes adultos que alcanzó el 37,5% (Cuadro I) en concordancia con los resultados señalados por FARIA & PELLEGRINO⁵ y WARREN & PETERS²³.

La resistencia a la reinfección con *S. mansoni* fue demostrada por algunos autores²⁰ y desde entonces, son muchas las investigaciones en este sentido demostrando el desarrollo de inmunidad adquirida. A pesar de esto, no se han establecido los posibles mecanismos inmunológicos, humorales o celulares, por los cuales los animales se vuelven resistentes a la reinfección¹⁴. No obstante, los resultados sugieren que anticuerpos de la clase Ig G, los eosinófilos, los neutrófilos y los macrófagos están implicados en los mecanismos efectores de resistencia y paralelamente se ha señalado una acción sinérgica entre Ig G y complemento². Sin embargo, NOVATO-SILVA & col.¹¹ anotan que los esquistosómulos *in vitro*, adquieren protección contra el efecto letal de granulocitos y complemento, con o sin anticuerpo, aunque la

preparación celular presente una alta concentración de eosinófilos.

Similar a lo observado por SMITH & col.¹⁸, en este estudio constatamos una reducción significativa de la carga parasitaria por desarrollo de resistencia a la reinfección (Fig. 2). SMITH & CLEGG¹⁷, estudiando este problema en dos cepas de hamsters, informan que en una de ellas sólo se presentaron niveles de protección significativa en algunos de los 16 experimentos realizados, reduciéndose la carga parasitaria en aproximadamente 39%. Por otro lado, cuando esta cepa fue reinfectada a los 42 días después de la primera infección no se encontró un nivel significativo de inmunidad. Nuestros hallazgos son similares pues los niveles de inmunidad variaron de 35,6 a 44,2% entre los 60 y 120 días y no se observó una protección significativa a los 40 días después de la infección con 30 cercarias (Cuadro II).

Estos resultados también están de acuerdo con las observaciones de HUNTER & col.⁶, que indican que varias dosis inmunizantes no son más efectivas que una sola con el mismo número de cercarias y edemas, que el tiempo transcurrido entre la infección primaria y la reinfección es fundamental para que se desarrolle la resistencia. Igualmente, concuerdan con las de LONG & col.⁷, en el sentido de que la inmunidad se adquiere de acuerdo con el desarrollo sexual de los vermes de la primera infección ya que es necesaria la ovoposición y además señalan que el grado máximo de resistencia depende de la intensidad de esa infección y que se manifiesta entre las primeras seis semanas o entre la 8.^a y la 19.^a semanas conforme al mayor o menor número de cercarias utilizadas. En nuestro modelo se alcanzó después de la 6.^a semana de infección sugiriendo que la dosis de cercarias utilizadas en este trabajo es adecuada para los estudios propuestos.

Entre los numerosos estudios inmunológicos con *S. mansoni*, resaltan los de CLEGG & SMITHERS³ quienes demostraron, en el suero hiperinmune de monos Rhesus, la existencia de un anticuerpo letal, de la clase Ig G y dependiente del complemento, que actúa sobre los esquistosómulos. También fue hallado en conejos, ratas y ratones inmunizados con múltiples infecciones por cercarias y aún en humanos²¹. En nuestro trabajo demostramos por

primera vez la presencia de este anticuerpo en el suero de hamsters infectados con el mismo parásito, el cual provocó una mortalidad de 38,2% y de 33,4% a los 90 y 120 días respectivamente, después de la infección inicial (Fig. 2); análogo a lo obtenido en ratones por TAVA-

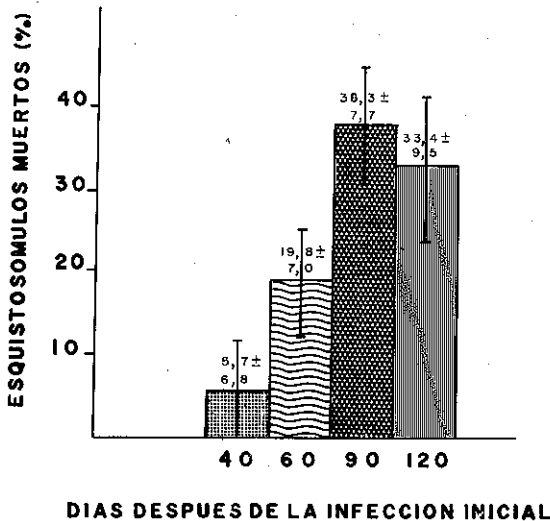


Fig. 2 — Índice de mortalidad de esquistosómulos tratados con suero inmune de hamsters obtenidos en diferentes períodos después de la infección inicial con cerca de 30 cercarias de *Schistosoma mansoni*. El índice de mortalidad fue estimado por diferencia entre los esquistosómulos muertos por el suero inmune más complemento y los muertos sólo por la acción del complemento. Cada punto representa el promedio del porcentaje de esquistosómulos muertos. Las líneas verticales indican la desviación estándar de los promedios

RES & col.²². Además, la actividad de los sueros, diluidos o no, aumentó con el tiempo de infección, tendiendo a alcanzar un "plateau" alrededor del 90.º día (Fig. 3); lo cual fue similar a lo observado por PEREZ & col.¹⁴.

Es necesario señalar que la aparición del anticuerpo letal, en el suero de hamsters, aparentemente va paralela al desarrollo de la inmunidad adquirida, lo que podría indicar una relación entre ambos fenómenos y, aunque se ha mencionado que los factores humorales desempeñan un papel muy importante en los mecanismos por los cuales el hospedero desarrolla resistencia a las reinfecciones¹⁶, no se ha podido correlacionar la presencia de anticuerpo letal con la inmunidad adquirida^{10,14,16}. Nosotros encontramos que a los 40 días de infección el nivel de anticuerpo letal fue muy bajo y la inmunidad adquirida aparentemente no se de-

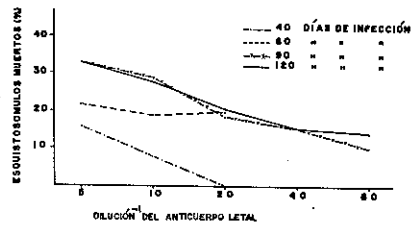


Fig. 3 — Títulos de anticuerpo letal en sueros de hamster obtenidos en diferentes períodos después de la infección inicial con cerca de 30 cercarias de *Schistosoma mansoni*. El índice de mortalidad fue estimado por diferencia entre los esquistosómulos muertos por el suero inmune más complemento y los muertos solo por la acción del complemento. Cada punto representa el promedio del porcentaje de esquistosómulos muertos en cada una de las diluciones

sarrolló, mientras que a los 60, 90 y 120 días si se demostró la presencia de tal inmunidad al aumentar significativamente el índice de mortalidad de los esquistosómulos. Podemos entonces inferir que el hamster, como otros animales, es estimulado por el *S. mansoni*, produciendo un anticuerpo citotóxico para los esquistosómulos cultivados *in vitro* y cierto grado de resistencia a la reinfección. Sin embargo, a pesar de la estrecha semejanza entre el aumento de la inmunidad adquirida y los niveles de anticuerpo letal, no fue posible comprobarlo estadísticamente por medio de correlación lineal.

Un aspecto de grande interés en la inmunología de la esquistosomiasis es la evasión de la respuesta inmune por parte del parásito, por medio de varios mecanismos dentro de los que se podría incluir a la inmunosupresión. En el presente trabajo, durante la esquistosomiasis crónica inducida en hamsters, se observó una disminución de la hipersensibilidad retardada a la inoculación con eritrocitos de carnero, evidenciando una supresión de la funcionalidad de las células T auxiliares. MOTA-SANTOS & col.⁹ demostraron, en ratones, que los vermes adultos o sus productos pero no sus huevos, causan una profunda alteración en el sistema inmune y que el fenómeno además, es dependiente de la carga parasitaria puesto que no se observa en infecciones leves antes de la ovoposición pero sí se manifiesta a los 85 días después de la infección aún con una carga leve de parásitos. Coincidiendo con esto, en el Cuadro III, se nota que la inmunosupresión sólo fue detectada a los 90 días después de la infección y no fue posible detectarla a los 60 días después de la primoinfección contrariamente a los resultados

C U A D R O III

Reaccion de hipersensibilidad celular en diferentes periodos después de la infección inicial de hamsters con cerca de 30 cercarias de *Schistosoma mansoni*

| Días después de infección inicial | "hinchazón de la pata"(*) | | Valores de P(**) |
|-----------------------------------|---------------------------|-------------|------------------|
| | infectados | control | |
| 45 | 0,27 ± 0,14 | 0,38 ± 0,10 | N.S. |
| 60 | 0,43 ± 0,22 | 0,64 ± 0,34 | N.S. |
| 90 | 0,38 ± 0,14 | 0,86 ± 0,27 | < 0,05 |

(*) Promedio ± desviación estándar de 5 hamsters

(**) Test t de Student

obtenidos por otros autores^{1,4}, probablemente debido a un fenómeno dependiente de la carga parasitaria.

Los resultados obtenidos, a la par del hecho de ser el hamster un animal ampliamente usado en investigación científica debido a su pequeño porte y su fácil manejo; indican a este animal como un modelo alternativo interesante para estudios inmunológicos sobre esquistosomiasis.

SUMMARY

Immunologic studies in hamsters (*Cricetus auratus*) infected with *Schistosoma mansoni*

The results of this investigation show that the hamsters (*Cricetus auratus*) may be used as an experimental model for immunological studies in *Schistosoma mansoni*. The data obtained referring to concomitant immunity, production of lethal antibodies and immunosuppression, resemble data from other established experimental models.

Our observations indicate that the hamster has the following advantages: 1. It is an appropriate host for the maintenance of *S. mansoni* in the laboratory. 2. It can be considered an alternative model for easy growth and maintenance of this parasite. 3. It is easy to handle.

REFERENCIAS

1. ARAUJO, F. G.; COELHO, P. M. Z.; PEREIRA, L. H. & PELLEGRINO, J. — *Schistosoma mansoni*: impairment of the cell-mediated immune response in mice. Clin. exp. Immunol., 28: 289-291, 1977.
2. BUTTERWORTH, A. E. — Effector mechanisms against schistosomes: in vitro. Amer. J. trop. Med. Hyg., 26 (Suppl.): 29-35, 1977.

3. CLEGG, J. A. & SMITHERS, S. R. — The effect of immune rhesus monkeys serum on schistosomules of *Schistosoma mansoni* during cultivation in vitro. Int. J. Parasit., 2: 79-98, 1972.
4. COELHO, P. M. Z.; MAYRINK, W.; DIAS, M. & PEREIRA, L. H. — Susceptibility to *Leishmania mexicana* of mice infected with *Schistosoma mansoni*. Trans. roy Soc. trop. Med. Hyg., 74: 141, 1980.
5. FARIÁ, J. & PELLEGRINO, J. — Observações sobre a infecção experimental do hamster (*Cricetus auratus*) pelo *Schistosoma mansoni*. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 5: 281-286, 1963.
6. HUNTER III, G. W.; GRANDALL, R. B.; ZICKAFOOSE, D. E. & PURVIS, Q. B. — Studies on schistosomiasis. XVIII. Some factors affecting resistance to *Schistosoma mansoni* infections in albino mice. Amer. J. trop. Med. Hyg., 11: 17-24, 1962.
7. LONG, E.; DOENHOFF, M. & BAIN, J. — Factors affecting the acquisition of resistance against *Schistosoma mansoni* in the mouse. 2. The time at which resistance to reinfections develops. J. Helminth., 52: 187-191, 1978.
8. MILLER, T. E.; MACKANESS, G. H. & LAGRANGE, P. H. — Immunopotentiality with BCG. II. Modulation of response to sheep red blood cells. J. nat. Cancer Inst., 51: 1669, 1973.
9. MOTA-SANTOS, T. A.; TAVARES, C. A. P.; GAZZINELLI, G. & PELLEGRINO, J. — Immunosuppression mediated by adult worms in chronic schistosomiasis mansoni. Amer. J. trop. Med. Hyg., 26: 727-731, 1977.
10. MURREL, K. D.; DEAN, D. A. & STAFFORD, E. E. — Resistance to infection with *Schistosoma mansoni* after immunization with worm extracts or live cercariae: Role of cytotoxic antibody in mice and guinea pigs. Amer. J. trop. Med. Hyg., 24: 955-962, 1975.
11. NOVATO-SILVA, E.; NOGUEIRA-MACHADO, J. A. & GAZZINELLI, G. — *Schistosoma mansoni*: Comparison of the killing effect on fresh and cultured schistosomula in vitro. Amer. J. trop. Med. Hyg., 29: 1263-1267, 1980.
12. PEARCE, E. J. & MCLAREN, D. J. — Reappraisal of the guinea-pig as an experimental host for studies of schistosomiasis mansoni. Parasitology, 87: 455-464, 1983.
13. PEARCE, E. J. & MCLAREN, D. J. — *Schistosoma mansoni*: in vivo and in vitro studies of immunity using the guinea-pig model. Parasitology, 87: 465-479, 1983.
14. PEREZ, H.; CLEGG, J. A. & SMITHERS, S. R. — Acquired immunity to *Schistosoma mansoni* in rat: Measurement of immunity by lung recovery technique. Parasitology, 69: 349-359, 1974.
15. RAMALHO-PINTO, F. J.; GAZZINELLI, G.; HOWELLS, S. R.; MOTA-SANTOS, T. A.; FIGUEIREDO, E. A. & PELLEGRINO, J. — *Schistosoma mansoni*: Defined system for step-wise transformation of cercariae to schistosomule in vitro. Exp. Parasit., 36: 360-372, 1974.
16. SHER, A.; SMITHERS, S. R. & MACKENZIE, P. — Passive transfer of acquired resistance to *Schistosoma mansoni* in laboratory mice. Parasitology, 70: 347-357, 1975.

17. SMITH, M. A. & CLEGG, J. A. — Different levels of acquired immunity to *Schistosoma mansoni* in two strains of hamsters. *Parasitology*, 73: 47-52, 1976.
18. SMITH, M. A.; CLEGG, J. A.; KUSEL, J. R. & WEBBE, G. — Lung inflammation in immunity to *Schistosoma mansoni*. *Experientia* (Basel), 31: 595-596, 1975.
19. SMITHERS, S. R. & TERRY, R. J. — Acquired resistance to experimental infections of *Schistosoma mansoni* in the albino rat. *Parasitology*, 55: 711-717, 1965.
20. SMITHERS, S. R. & TERRY, R. J. — The immunology of schistosomiasis. *Adv. Parasit.*, 7: 41-93, 1969.
21. SMITHERS, S. R. & TERRY, R. J. — The immunology of schistosomiasis. *Adv. Parasit.*, 14: 339-422, 1976.
22. TAVARES, C. A. P.; GAZZINELLI, G.; MOTA-SANTOS, T. A. & DIAS DA SILVA, W. — *Schistosoma mansoni*: Complement-mediated cytotoxic activity *in vitro* and effect of decplementation on acquired immunity in mice. *Exp. Parasit.*, 46: 145-151, 1978.
23. WARREN, K. S. & PETERS, P. A. — Comparison of penetration and maturation of *Schistosoma mansoni* in the hamster, mouse, guinea-pig, rabbit and rat. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 16: 718-722, 1967.
24. WHO-MEMORANDUM — Immunology of schistosomiasis. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 51: 553-595, 1974.

Recebido para publicação em 27/8/1985.