

## SUSCETIBILIDADE DE CAMUNDONGOS LACTENTES À INFECÇÃO POR *S. MANSONI*

José Guilherme da MOTTA (1), Vanete S. OLIVEIRA (2) e Air C. BARRETTO (3)

### RESUMO

Camundongos lactentes, desde 0 dia de idade, foram capazes de sobreviver 50 dias de infecção por *S. mansoni*. Os percentuais de recuperação de esquistossomos, em relação ao número de cercárias utilizadas, foram significativamente mais elevados do que os obtidos em camundongos adultos. A sobrevivência foi maior entre camundongos adultos, mas inversamente proporcional ao número de esquistossomos recuperados. Os helmintos se desenvolvem normalmente; no entanto, quando a carga de vermes é muito grande em animais lactentes, os esquistossomos se apresentam ligeiramente menores. O oograma em intestino de camundongos jovens mostrou maior percentual de ovos maduros que o verificado em adultos. O maior índice de mortalidade foi verificado na 3ª semana de infecção, quando os esquistossomos alcançam o fígado em grande número e os menores, na 5ª semana, quando os helmintos iniciam a postura e na 6ª quando começa a maturação dos ovos. Os Autores sugerem o uso de camundongos lactentes em trabalhos de esquistossomose experimental.

### INTRODUÇÃO

Diversas espécies de animais são usadas em laboratório para infecção experimental por *S. mansoni*. Alguns destes animais, tais como o camundongo e o hamster, são amplamente utilizados por serem bons hospedeiros e por conseguinte úteis em estudos experimentais de patologia, quimioterapia, etc. Outros animais, tais como cobaias e coelhos, são menos utilizados porque não se comportam como bons hospedeiros; embora os esquistossomos se desenvolvam normalmente, os ovos raramente alcançam a maturação. Em alguns outros animais, como o rato albino, o número de esquistossomos que chega ao estado adulto é bastante limitado. O bloqueio de maturação de ovos em alguns animais e a baixa suscetibilidade à infecção por *S. mansoni* em outros não estão ainda escl-

recidos. Um dos fatores que poderia influir é aquele relacionado com a idade do hospedeiro. De modo geral animais jovens são mais suscetíveis a infecções que animais mais velhos. Com referência ao *S. mansoni*, são raros os trabalhos existentes na literatura levando em consideração a idade do animal e, via de regra, sempre são usados animais adultos. Evidentemente, entende-se que animais mais velhos suportam maior carga de esquistossomos. LEWERT & MANDLOWITZ<sup>3</sup>, trabalhando com camundongos velhos (283-516 dias) e jovens (19-28 dias), verificaram maior suscetibilidade nos camundongos jovens.

Em nosso laboratório, estamos trabalhando com várias espécies de animais, em diversas idades, a fim de observar a relação

Fundação Gonçalo Moniz (Diretor, Prof. Aluizio Prata), Salvador, Bahia, Brasil

- (1) Fundação Gonçalo Moniz e Escola de Medicina Veterinária da Bahia, Brasil
- (2) Fundação Gonçalo Moniz e Clínica de Doenças Tropicais e Infectuosas da Faculdade de Medicina da Universidade da Bahia, Brasil
- (3) Fundação Gonçalo Moniz e Professor de Parasitologia da Faculdade de Farmácia da Universidade da Bahia, Brasil

entre a idade e a suscetibilidade ao *S. mansoni*. No presente trabalho estamos apresentando os resultados obtidos com camundongos de 0 a 45 dias de idade.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizados 470 camundongos albinos da variedade "Swiss" com 0, 2, 4, 6, 8, 10, 20 e 30 dias de idade. Um grupo de 45 dias foi usado como controle. Para cada grupo foram utilizados 9 a 15 animais, o que corresponde a 2-3 ninhadas para cada lote. Todos os animais foram infetados individualmente, sendo aqueles de idade entre 15 e 45 dias infetados em frascos de 65 ml com tampa plástica perfurada; aqueles entre 0 e 10 dias foram infetados em recipiente aberto, de vidro, onde se colocava o animal e, em seguida, o líquido contendo as cercárias. Cada grupo de idade foi infetado com 50, 100, 150 e 200 cercárias proveniente de pelo menos 10 caramujos com infecção natural, coletados no "Dique do Tororó", grande lago que existe no perímetro urbano da Cidade do Salvador. A contagem de cercárias foi feita por amostragem e o tempo de exposição dos camundongos foi de 30 minutos. Após a infecção, os camundongos lactentes eram colocados em pequenos recipientes forrados com algodão, secados ao calor de lâmpada elétrica e em seguida devolvido às suas caixas de origem. A partir da data da infecção, todas as caixas eram vistas diariamente e anotados os camundongos mortos. Ao atingirem 50 dias de infecção os animais eram sacrificados sem anestesia. Os esquistossomos eram coletados, medidos e contados separadamente do fígado, veia porta e veias mesentéricas. Foi realizado oograma nas paredes do intestino delgado dos animais jovens.

#### RESULTADOS

Os resultados são apresentados nas Tabelas I, II e Gráfico I.

##### *Sobrevivência 50 dias após a infecção*

Na Tabela I, observam-se os dados detalhados de sobrevivência de cada grupo infetado com diferentes números de cercárias. Quando infetados com 50 cercárias, todos

os grupos tiveram sobrevivência bastante elevada, acima de 90%, não havendo diferenças significantes em relação à idade. A partir da infecção com 150 cercárias os grupos de camundongos mais velhos, de 8 dias em diante, sobreviveram melhor do que aqueles mais jovens (0 a 6 dias). Nos grupos de 0 e 2 dias, a infecção com 200 cercárias produziu 100% de mortalidade antes de completarem os 50 dias de infecção. Na Tabela II, observam-se os resultados gerais dos grupos por idade e nota-se que houve, realmente, maior sobrevivência entre os camundongos mais velhos.

Por outro lado, dos 470 camundongos usados, 115 ou 24,5% morreram antes de completarem 50 dias de infetados. Desses, 19,5% morreram na 1ª semana de infecção, 19,5% na 2ª semana, 40,2% na 3ª semana, 10,2% na 4ª semana, 2,0% na 5ª semana, 2,0% na 6ª semana e 6,2% na 7ª semana.

##### *Recuperação de esquistossomos*

Observam-se, também na Tabela I, os resultados detalhados da recuperação de esquistossomos em relação ao número de cercárias utilizadas, em todos os grupos de animais. Os maiores índices de recuperação foram encontrados em animais de 0, 2, 4 e 6 dias de idade. O maior índice verificado foi de 80,5% no grupo de 6 dias de idade e infetado com 50 cercárias e o menor foi verificado no grupo de 45 dias de idade infetado com 150 cercárias, no qual houve recuperação de apenas 9,6% das cercárias utilizadas. O maior índice verificado nos camundongos mais velhos (45 dias) foi de 21,3% e o menor nos camundongos abaixo de 6 dias foi de 40,6%. Na Tabela II, observam-se os resultados gerais por grupo de idade, verificando-se menor percentual de esquistossomos recuperados nos grupos de animais mais velhos.

##### *Relação entre sobrevivência de camundongos e recuperação de esquistossomos*

O Gráfico I mostra a relação existente entre a sobrevivência dos camundongos 50 dias após a infecção e os índices de recuperação de esquistossomos, em relação ao nú-

TABELA I

Infecção de camundongos de 0-45 dias de idade com 50, 100, 150 e 200 cercárias de *S. mansoni*, sacrificados com 50 dias de infecção

Idade (dias)	Cercárias Nº p/ camundongos	Nº camundongos	Camundongos sobreviventes		Esquistossomos coletados		
			Nº	%	Total	Média por camundongo	% recuperação
0	50	14	14	100,0	403	28,7	57,5
0	100	11	9	81,8	565	62,7	62,7
0	150	11	4	36,3	288	72,0	48,0
0	200	14	0	0,0	—	—	—
		50	27	75,0	1.256	46,5	57,0
2	50	14	13	92,8	494	38,0	76,0
2	100	13	11	84,6	576	52,3	52,3
2	150	12	6	50,0	540	90,0	60,0
2	200	13	0	0,0	—	—	—
		52	30	76,9	1.610	53,6	60,7
4	50	13	12	92,3	459	38,2	76,5
4	100	11	5	45,4	399	79,8	79,8
4	150	15	0	0,0	—	—	—
4	200	13	10	76,9	894	89,4	44,7
		52	27	51,9	1.752	64,8	56,5
6	50	13	12	92,3	483	40,2	80,5
6	100	15	10	66,6	604	60,4	60,4
6	150	14	7	50,0	666	95,2	63,4
6	200	10	3	30,0	244	81,3	40,6
		52	32	61,5	1.997	62,4	61,4
8	50	12	12	100,0	440	36,6	73,3
8	100	15	9	60,0	548	60,8	60,8
8	150	10	9	90,0	520	57,7	38,5
8	200	10	10	100,0	494	49,4	24,7
		47	40	85,1	2.002	50,0	41,2
10	50	13	13	100,0	333	25,6	51,2
10	100	10	10	100,0	342	34,2	34,2
10	150	14	11	78,5	709	64,4	42,9
10	200	13	12	92,3	841	70,0	35,0
		50	46	92,0	2.225	48,3	39,7
15	50	10	10	100,0	269	26,9	53,8
15	100	12	11	91,6	364	33,0	33,0
15	150	10	10	100,0	768	76,8	51,2
15	200	9	8	88,8	779	97,3	48,6
		41	39	95,1	2.180	55,8	46,3
20	50	15	13	86,6	439	33,7	67,5
20	100	12	12	100,0	392	32,6	32,6
20	150	13	13	100,0	664	51,0	34,0
20	200	10	7	70,0	494	70,5	35,2
		50	45	90,0	1.989	44,2	38,2
30	50	10	10	100,0	96	9,6	19,2
30	100	9	8	88,8	170	21,2	21,2
30	150	9	9	100,0	309	34,3	22,8
30	200	10	7	70,0	443	63,2	31,6
		38	34	89,4	1.018	29,9	25,1
45	50	10	9	90,0	96	10,6	21,3
45	100	10	10	100,0	130	13,0	13,0
45	150	9	7	77,7	101	14,4	9,6
45	200	9	9	100,0	276	30,6	15,3
		38	35	92,1	603	17,2	14,0
Total		470	355	75,5	16.632	46,8	41,5

TABELA II

Infecção de camundongos de 0-45 dias de idade com 50, 100, 150 e 200 cercárias de *S. mansoni*, sacrificados com 50 dias de infecção (resumo da Tabela I)

Idade (dias)	Nº de camundongos infetados	Camundongos sobreviventes		Esquistossomos coletados		
		Nº	%	Total	Média por camundongo	% recuperação
0	50	27	75,0	1.256	46,5	57,0
2	52	30	76,9	1.610	53,6	60,7
4	52	27	51,9	1.752	64,8	56,5
6	52	32	61,5	1.997	62,4	61,4
8	47	40	85,1	2.002	50,0	41,2
10	50	46	92,0	2.225	48,3	39,7
15	41	39	95,1	2.180	55,8	46,3
20	50	45	90,0	1.989	44,2	38,2
30	38	34	89,4	1.018	29,9	25,1
45	38	35	92,1	603	17,2	14,0
Total ....	470	355	75,5	16.632	46,8	41,5

mero de cercárias usadas. Nota-se que a sobrevivência aumentou proporcionalmente às idades dos animais mas foi inversamente proporcional aos percentuais de recuperação de esquistossomos. Nos grupos infetados com 50 cercárias, não houve diferenças significantes quanto a sobrevivência em relação às idades dos animais.

#### *Esquistossomos e ovos*

Os esquistossomos são anatômica e fisiologicamente bem desenvolvidos. No entanto, os esquistossomos coletados em camundongos mais jovens, infetados com 200 cercárias, mostraram-se ligeiramente menores do que aqueles coletados em camundongos mais velhos infetados com o mesmo número de cercárias: 8 dias — 0,93 cm, 15 dias — 0,95 cm, 30 dias — 1,1 cm, 45 dias — 1,2 cm. Esses camundongos jovens, com pesada carga de esquistossomos, mostraram retardamento do crescimento.

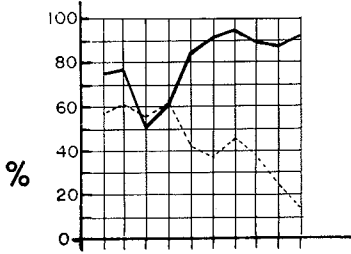
Quanto ao oograma verificou-se que, em camundongos infetados de 0-10 dias de idade, o índice de maturação de ovos nos intestinos foi de 36,6% enquanto que nos animais adultos é de 24,4%<sup>1</sup>.

#### DISCUSSÃO

Camundongos jovens, desde 0 dia de idade, podem ser infetados por *S. mansoni* e são capazes de sobreviverem mais de 50 dias, de acordo com o número de cercárias utilizadas. Eles são mais suscetíveis do que os adultos, adquirindo maior carga de esquistossomos. Os índices de recuperação e a média de esquistossomos por animal são expressivamente maiores nos camundongos jovens do que nos adultos: enquanto o maior índice de recuperação de esquistossomos foi de 21,3% em camundongos de 45 dias de idade, o menor índice verificado em camundongos abaixo de 6 dias de idade foi de 40,6%, chegando a alcançar em um dos grupos o alto índice de 80,5%. Segundo LEWERTZ & MANDLOWITZ<sup>2</sup> os elementos acelulares e afibrilares do tecido conectivo dérmico de animais jovens são menos resistentes a alteração enzimática produzida pelas cercárias de *S. mansoni*. Todavia, temos verificado que animais parcialmente resistentes à infecção por *S. mansoni*, como o rato albino, quando infetado ainda lactentes apresentam os mesmos índices de recuperação de esquistossomos verificados em adultos. Pode-se entender, dêste fato, que somente

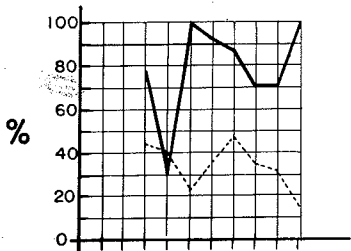
GRÁFICO I

Relação entre sobrevivência de camundongos infectados em diversas idades e recuperação de esquistossomos após 50 dias de infecção



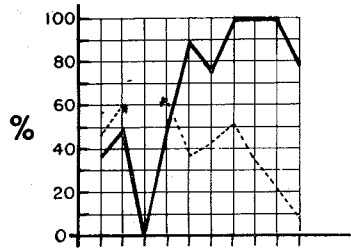
MÉDIA - 50-100-150-200 CERCÁRIAS

— % DE SOBREVIVÊNCIA DE CAMUNDONGOS  
 - - - % DE RECUPERAÇÃO DE ESQUISTOSSOMOS



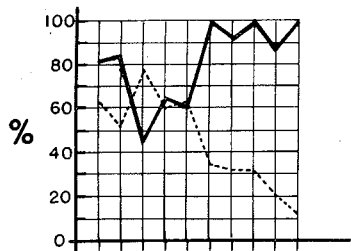
INFECTADOS COM 200 CERCÁRIAS

— % DE SOBREVIVÊNCIA DE CAMUNDONGOS  
 - - - % DE RECUPERAÇÃO DE ESQUISTOSSOMOS



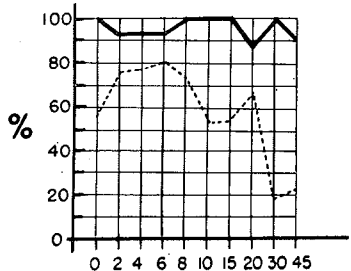
INFECTADOS COM 150 CERCÁRIAS

— % DE SOBREVIVÊNCIA DE CAMUNDONGOS  
 - - - % DE RECUPERAÇÃO DE ESQUISTOSSOMOS



INFECTADOS COM 100 CERCÁRIAS

— % DE SOBREVIVÊNCIA DE CAMUNDONGOS  
 - - - % DE RECUPERAÇÃO DE ESQUISTOSSOMOS



INFECTADOS COM 50 CERCÁRIAS

— % DE SOBREVIVÊNCIA DE CAMUNDONGOS  
 - - - % DE RECUPERAÇÃO DE ESQUISTOSSOMOS

DIAS DE IDADE

animais bons hospedeiros possuem suscetibilidade aumentada quando ainda lactentes. Os animais mais velhos, com exceção dos grupos infetados com 50 cercárias, sobreviveram mais do que os jovens. No entanto, a sobrevivência mostrou-se, em todos os grupos, inversamente proporcional ao número de esquistossomos recuperados: quanto maior a sobrevivência de um grupo, menor o percentual de esquistossomos recuperados, em relação ao número de cercárias usadas. Por outro lado, dos 24,5% dos camundongos que não sobreviveram até os 50 dias de infecção, 19,5% morreram na 1ª semana e 19,5% morreram na 2ª semana, quando habitualmente os esquistossômulos se encontram nos pulmões. O maior índice (40,2%) foi verificado na 3ª semana quando os helmintos alcançam o fígado em maior proporção<sup>1</sup>, para em seguida decrescer para 10,2% quando ainda é grande o número de esquistossomos naquele órgão. Quando os esquistossomos iniciam a postura (5ª semana) e quando começa a maturação dos ovos (6ª semana)<sup>1</sup> os índices de mortalidade são muito baixos (2,0% dos animais mortos, em cada semana), indicando que êstes dois fatos não são de grande valia na mortalidade dos animais. Todavia, na 7ª semana, quando já existem granulomas produzidos por ovos maduros, o índice aumentou para 6,2% e evidentemente seria mais elevado nas semanas seguintes quando o número destas lesões tende a aumentar. Quando a carga de esquistossomos é muito grande retarda o crescimento normal dos camundongos lactentes mais jovens, e também nestes casos os helmintos são ligeiramente menores do que aqueles coletados em animais mais velhos e infetados com o mesmo número de cercárias. Entretanto, o índice de maturação de ovos nos intestinos de camundongos jovens é sempre maior do que nos adultos.

Finalmente, o manuseio, a técnica de infecção e a manutenção dos animais lactentes são mais fáceis e econômicas do que nos adultos. Estas vantagens, além da alta sus-

cetibilidade, sugerem o uso de camundongos lactentes em esquistossomose experimental: quimioterapia, patologia, obtenção de esquistossomos para antígeno, etc.

#### SUMMARY

#### *Susceptibility of suckling mice to the infection by Schistosoma mansoni*

Suckling mice, beginning on the first day of life, were capable of surviving fifty days of infection with *Schistosoma mansoni*. The percentage recovery of schistosomes in relation to the numbers of cercariae used for infection was higher than that obtained with mice infected as adults. The survival after infection was greater with adult mice but was inversely proportional to the number of schistosomes recovered. When the worm load was very great in suckling mice, the worms developed normally except that they were somewhat smaller than worms recovered from mice infected at older ages. The oogram of the intestinal wall of young mice showed a higher percentage of mature eggs than the intestinal oogram of older mice. The highest mortality rate was noticed during the third week of infection, when the worms reach the liver in great numbers. The lowest mortality rate occurred in the fifth week, when oviposition begins, and in the sixth week, when the eggs begins to mature. The Authors suggest that suckling mice be used in the study of experimental schistosomiasis.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARRETTO, A. C. — *Observações em torno da migração, acasalamento e postura de Schistosoma mansoni*. Tese. Faculdade de Farmácia da Universidade da Bahia, 1961.
2. LEWERTZ, R. M. & MANDLOWITZ, S. — Innate immunity to *Schistosoma mansoni* relative to the state of connective tissue. *Ann. New York Acad. Sc.* 113:54-62, 1963.

Recebido para publicação em 23/8/1965.